

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**Planejamento, Síntese e Avaliação Biológica de Novas Chalconas como Potenciais
Agentes Anti-Prion**

Lucas Caruso Araujo Bezerra

2021



UFRRJ UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL
DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVAS
CHALCONAS COMO POTENCIAIS AGENTES ANTI-PRION**

LUCAS CARUSO ARAUJO BEZERRA

Sob orientação do professor

Dr. Arthur Eugen Kümmerle

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química.

Seropédica, Rio de Janeiro

Fevereiro de 2021

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B574p Bezerra, Lucas Caruso Araujo, 1995-
Planejamento, Síntese e Avaliação Biológica de Novas
Chalconas como Potenciais Agentes Anti-Prion / Lucas
Caruso Araujo Bezerra. - Seropédica, 2021.
161 f.: il.

Orientador: Arthur Eugen Kummerle.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química,
2021.

1. Doença Priônica. 2. Chalcona. 3. N-Arilação. 4.
Buchwald-Hartwig. I. Eugen Kummerle, Arthur, 1979-
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Química III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

LUCAS CARUSO ARAUJO BEZERRA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Química**, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de concentração em Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/02/2021

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

Membros da banca:

Arthur Eugen Kummerle. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Rosane Nora Castro. Dr^a. UFRRJ

Vagner Dantas Pinho. Dr. MICROBIOLÓGICA

Cedric Stephan Graebin. Dr. UFRRJ

Maria Leticia de Castro Barbosa. Dr^a. UFRJ



Emitido em 26/02/2021

DELIBERAÇÃO Nº 39/2021 - PPGQ (12.28.01.00.00.60)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 26/02/2021 14:18)

ARTHUR EUGEN KUMMERLE
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DQO (11.39.00.23)
Matrícula: 1700480

(Assinado digitalmente em 01/03/2021 09:51)

ROSANE NORA CASTRO
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DQO (11.39.00.23)
Matrícula: 1177598

(Assinado digitalmente em 12/03/2021 11:14)

VAGNER DANTAS PINHO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 083.143.017-60

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrrj.br/documentos/> informando seu número:
39, ano: **2021**, tipo: **DELIBERAÇÃO**, data de emissão: **26/02/2021** e o código de verificação: **a7362740e9**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de viver, de experimentar o mundo, a ciência e, principalmente, por colocar pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais, certamente, nada disso seria possível.

Aos meu pais, Andreia Carvalho e Aguinaldo Cruz, que fizeram o possível para me dar a melhor educação apesar de todas as dificuldades. Sem dúvida, sem o esforço e dedicação de vocês eu não teria conseguido.

A minha namorada Thais Cardoso por estar sempre comigo durante os últimos anos me ajudando nos momentos mais difíceis dessa trajetória.

Ao meu orientador Dr. Arthur Kümmerle por ser um exemplo de professor, pesquisador e orientador. Muito obrigado pelos ensinamentos, todas as conversas, todo suporte, paciência e presença durante esses anos.

Ao técnico Maurício Matos por toda dedicação, agilidade e compromisso durante a realização dos espectros de RMN.

A professora Rosane Nora pela realização dos experimentos de HPLC, pela dedicação nas aulas do PPGQ-UFRRJ e por todo apoio durante a execução deste trabalho.

Aos meus amigos do LaDMol-QM que acompanharam de perto o desenvolvimento deste trabalho: Bruno, Daiana, Felipe, Gabriel, Gleyton, Julieta, Larissa, Leonardo, Luciana, Marcus, Marina, Nathalia, Paula e Thiago, por todos os momentos compartilhados, todas as discussões e auxílios. Além dos professores do LaDMol-QM: Cedric Graebin e Renata Lacerda.

A Raissa Conceição e professora Maria Letícia Barbosa pela colaboração, além da síntese e disponibilização dos intermediários **16a** e **43** que foram cruciais para o início do trabalho. Ao LaBiME-UFRJ coordenado pela professora Yraima Cordeiro pela colaboração e auxílio no desenvolvimento deste trabalho. Em especial ao Lucas Ascari e Felipe Bravim pela ajuda e suporte nos estudos iniciais de modelagem molecular, além da colaboração e desenvolvimento de métodos de caracterização do mecanismo de ação das chalconas sintetizadas neste trabalho.

A Natália Ferreira e Byron Caughey pelo suporte, colaboração e execução dos estudos de atividade anti-príon das chalconas realizados no *Laboratory of Persistent Viral Diseases, Rocky Mountain Laboratories, NIAID, NIH, EUA*.

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

RESUMO

As doenças relacionadas a eventos de enovelamento incorreto de proteínas são uma família de desordens neurológicas debilitantes, degenerativas, progressivas, fatais e atualmente intratáveis. Na doença priônica, a proteína priônica normal (PrP^C) é convertida à isoforma infectante (PrP^{Sc}) rica em folhas β , de difícil degradação por proteases e propensas a formar agregados fibrilares responsáveis pela neurotoxicidade da isoforma patogênica. Embora muitos compostos tenham demonstrado inibir o processo de conversão à PrP^{Sc}, até o momento não há terapia eficaz para esse tipo de doença visto que a maioria dos compostos estudados *in vitro* possuem perfil farmacocinético desfavorável. Este trabalho propõe a síntese de cinco séries (Série A, B, C, D e E) de chalconas, baseadas no protótipo **J8**, desenvolvidas como possíveis compostos anti-príon capazes de atuar como chaperona química na estabilização conformacional da isoforma não infectante PrP^C, impedindo a formação de PrP^{Sc}. A primeira série (Série A) de compostos foi totalmente sintetizada com rendimentos satisfatórios através da condensação de Claisen-Schmidt seguido da reação de acoplamento cruzado de Buchwald-Hartwig. Das sete chalconas sintetizadas para série A, quatro delas apresentaram um ótimo perfil biológico, conseguindo inibir a interconversão, *in vitro*, de PrP^C em PrP^{Sc} em até 80% na concentração de 10 μ M, cujos valores superaram os obtidos para o protótipo **J8**. Alguns compostos finais das séries B, C e E já foram sintetizados, demonstrando que a rota sintética empregada é eficiente, enquanto o desenvolvimento sintético da série D encontra-se interrompido no penúltimo intermediário-chave. Os compostos de todas as séries foram submetidos a estudos *in silico* de *docking* molecular e possibilitaram a melhor compreensão do sítio de ligação da proteína priônica e o perfil de interação entre as chalconas e a PrP¹²¹⁻²³¹. Os estudos de *docking* molecular realizados para série D sugerem que estes são os derivados mais promissores de todas as séries, cujos valores de energia de ligação se mostraram melhores que os encontrados para as chalconas da série A, que já possuem um ótimo perfil farmacológico.

Palavras-chave: Doença priônica, Buchwald-Hartwig, *N*-arilação.

ABSTRACT

The diseases related to protein misfolding are part of a group of debilitating, degenerative, progressive, fatal and still intractable neurological disorders. In prion disease, a normal prion protein (PrP^C) is converted to infectious isoforms (PrP^{Sc}) rich in β -sheets, with difficulty to be degraded by proteases and prone to form aggregated fibrillar responsible for the neurotoxicity of the pathogenic isoform. Although many compounds have shown to inhibit the process of conversion to PrP^{Sc}, until this moment there is no effective therapy for this disorder, since most of the substances studied *in vitro* have unfavorable pharmacokinetic profile. This study proposes the synthesis of five series (Series A, B, C, D and E) of chalcones, based on the **J8** prototype, developed as possible anti-prion compounds capable of acting as a chemical chaperone in the conformational stabilization of the non-infecting PrP^C isoform, preventing the formation of PrP^{Sc}. The first series (Series A) of compounds was fully synthesized with satisfactory yields through Claisen-Schmidt condensation followed by the Buchwald-Hartwig cross-coupling reaction. Of the seven chalcones synthesized for series A, four of them presented an excellent biological profile, managing to inhibit the interconversion *in vitro* of PrP^C in PrP^{Sc} by up to 80% in the concentration of 10 μ M, whose values surpassed those obtained for the prototype **J8**. Some final compounds from series B, C and E have already been synthesized, demonstrating that the synthetic route used is efficient, while the synthetic development of series D is interrupted in the second to last key-intermediate. The compounds of all series were subjected to *in silico* studies of molecular docking and enabled a better understanding of the binding site of the prion protein and the interaction profile between chalcones and PrP¹²¹⁻²³¹. Molecular docking studies carried out for D series suggest that these are the most promising derivatives of all the series, whose binding energy values were better than those found for A series chalcones, which already have an excellent pharmacological profile.

Keywords: Prion disease, Buchwald-Hartwig, *N*-arylation.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema simplificado da ordem hierárquica de enovelamento de uma proteína genérica de 56 aminoácidos (Adaptado de LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).	2
Figura 2: Funil termodinâmico do enovelamento proteico (Adaptado de HARTL; BRACHER; HAYER-HARTL, 2011).	4
Figura 3: Representação estrutural genéricas de PrP ^C (a) e PrP ^{Sc} (b). Neste modelo as α -hélices são representadas em vermelho enquanto as folhas β são representadas em verde (Adaptado de VOET; VOET, 2013, p. 314).	6
Figura 4: Representação esquemática do mecanismo de conversão de PrP ^C em PrP ^{Sc} (Adaptado de BURCHELL; PANEGYRES, 2016).	6
Figura 5: Compostos com atividade anti-pron descritos na literatura.....	7
Figura 6: Estrutura básica das chalconas.....	9
Figura 7: Proposta da rota biossintética da <i>chalconaringenin</i> 13 e isoliquiritigenina 15 . TAL: tirosina amônia-liase; 4-CL: 4-cumaroil-CoA ligase; CHS: chalcona sintase; CHR: chalcona resutase (Adaptado de ANDERSEN; MARKHAM, 2006; SPRINGOB et al., 2003; ZHUANG et al., 2017).	10
Figura 8: Esquema geral da reação de Claisen-Schmidt (Adaptado de RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017).	11
Figura 9: Obtenção de chalconas por outras estratégias sintéticas (Adaptado de RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017).	13
Figura 10: Chalconas com atividade biológica descritas na literatura (APONTE et al., 2010; CHEN et al., 1997; FOSSO et al., 2015; KOZŁOWSKA et al., 2019; NIELSEN et al., 2004; REDDY et al., 2011; WU et al., 2003; ZHANG et al., 2018).	14
Figura 11: Número de publicações anuais com "Buchwald-Hartwig" como palavra-chave (Levantamento realizado 24 de janeiro de 2021 em ScienceDirect).	15
Figura 12: A – Fatores que influenciam a reação de Buchwald-Hartwig; B – Ciclo catalítico simplificado da reação de Buchwald-Hartwig (Adaptado de SURRY; BUCHWALD, 2011).	16
Figura 13: A – Representação esquemática do ângulo de mordida (β_n) e ângulo de cone (θ); B – Estrutura de alguns ligantes comerciais utilizados na reação de Buchwald-Hartwig.	19
Figura 14: A – Simulação de <i>docking</i> molecular entre J8 e PrP ¹²¹⁻²³¹ (Adaptado de FERREIRA et al., 2017); B – Mapa farmacofórico 2D entre J8 e PrP ¹²¹⁻²³¹	23

Figura 15: Planejamento estrutural da série A.	24
Figura 16: Análise retrossintética da série A.	25
Figura 17: A – Mapa farmacofórico das interações entre J8 e PrP ¹²¹⁻²³¹ ; B – Mapa farmacofórico das interações pretendidas entre as chalconas das séries B, C e D e PrP ¹²¹⁻²³¹ ; C – Planejamento estrutural da série B, C e D.	26
Figura 18: Análise retrossintética da série B.	27
Figura 19: Análise retrossintética da série C.	27
Figura 20: Análise retrossintética da série D.	28
Figura 21: Planejamento estrutural da série E.	29
Figura 22: Análise retrossintética da série E.	29
Figura 23: Reação para obtenção dos intermediários benzaldeídos- <i>O</i> -alquilados.	30
Figura 24: Esquema de intermediários para síntese dos benzaldeídos- <i>O</i> -alquilados (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).	31
Figura 25: Reação para obtenção das chalconas intermediárias.	31
Figura 26: Esquema de intermediário proposto para síntese das chalconas: A – Formação do íon enolato; B – Reação de Claisen-Schmidt (Adaptado de ÁLVAREZ et al., 2019; CHANG, 2015; CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 619).	33
Figura 27: Expansão do espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) de 43 . A região de 4,05-6,55 ppm foi suprimida.	34
Figura 28: Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) obtido para o composto 47a de 3,0 a 4,4 ppm.	35
Figura 29: Expansão do espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) do derivado 47a de 0 a 80 ppm.	36
Figura 30: A - Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) da nitro-chalcona 57a de 0-4,4 ppm. B - Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) da nitro-chalcona 57a de 6,4-8,5 ppm e híbrido de ressonância que justifica o deslocamento químico do H _{12, 14} , cujo sinal encontra-se marcado em azul.	37
Figura 31: Reação de redução de Bechamp na obtenção das amino-chalconas 56a-b	38
Figura 32: Esquema de intermediários para síntese das amino-chalconas 56a-b (Adaptado de WANG, 2009, p. 284–287).	39
Figura 33: A - Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) da nitro-chalcona 57a de 6,4-8,5 ppm, cujo sinal do H _{12, 14} encontra-se marcado em azul. B - Expansão do espectro de	

RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) da amino-chalcona 56a de 6,4-8,5 ppm e híbrido de ressonância que justifica o deslocamento químico de H _{12, 14} , cujo sinal encontra-se marcado em azul.....	40
Figura 34: Reação de obtenção das α-bromo-acetamida-chalcona 60	40
Figura 35: Esquema de intermediários para síntese da α-bromo-acetamida-chalcona 60 : A – Ativação do eletrófilo pela DMAP 63 ; B – Reação de S _N Ac (Adaptado de VOGEL et al., 2016).	41
Figura 36: Reação de obtenção das chalconas finais da série A 42a-g	42
Figura 37: Esquema de intermediários proposto para síntese das chalconas finais da série A (Adaptado de SURRY; BUCHWALD, 2011).....	44
Figura 38: Esquema de intermediários para reação de desproteção com TFA 65 das chalconas finais da série A (Adaptado de ASHWORTH; COX; MEYRICK, 2010; CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 556).	45
Figura 39: Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) do composto 42b de 7,71 a 6,50 ppm.	46
Figura 40: Constantes de acoplamento spin-spin em ligações dupla <i>trans</i> e <i>cis</i> (Adaptado de PAVIA et al., 2010, p. 262–263).....	46
Figura 41: Estruturas de ressonâncias que justificam os deslocamentos químicos do composto 42b em campo baixo.	47
Figura 42: Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) do composto 42b de 4,05 a 3,20 ppm.	48
Figura 43: Esquema de intermediários para formação da fotodegradação observada na 4'-bromo-chalcona 43 (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 897).....	50
Figura 44: Análise de CCFA para reação de desproteção do derivado 42e eluída em Hex/Act 30%: à esquerda sob irradiação de λ = 254 nm e à direita λ = 365 nm.	51
Figura 45: A – Cromatograma de HPLC de 42d com detecção em λ = 320 nm, eluído com MeOH:H ₂ O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18. B – Cromatograma de HPLC de 42g com detecção em λ = 320 nm, eluído com MeOH:H ₂ O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.	52
Figura 46: A - Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) de 42f de 0 a 4,2 ppm. B - Expansão do espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 500 MHz) de 42f.HCl de 0 a 4,2 ppm. C - Expansão do espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 500 MHz) de 42f.HCl de 6,0 a 10,2 ppm.	54
Figura 47: Expansão do espectro de RMN ¹ H (DMSO-d ₆ , 500MHz) de 42g.HCl . A região de 3,01-10,75 ppm foi suprimida.	55

Figura 48: Cromatogramas de HPLC das chalconas finais 42d-g com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluido com MeOH:H ₂ O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.	55
Figura 49: Reação de obtenção das chalconas finais da série B.	56
Figura 50: Esquema de intermediários para síntese das chalconas finais da série B (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).	57
Figura 51: A - Expansão do RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) do composto 47c de 2,5-4,6 ppm. B - Expansão do RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) do composto 44j de 2,5-4,6 ppm.	58
Figura 52: Cromatogramas de HPLC das chalconas finais 44i e 44j com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluido com MeOH:H ₂ O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.	59
Figura 53: Reação de obtenção das chalconas finais da série C.	59
Figura 54: Esquema de intermediários para reação de hidrólise básica para obtenção das chalconas finais da série C (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 210).	60
Figura 55: Expansão do espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500 MHz) obtido para o composto 45b de 2,0-4,1 ppm.	61
Figura 56: Espectro de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 125 MHz) do composto 45b	62
Figura 57: A - Cromatograma de HPLC de 45b com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluido com MeOH:H ₂ O (65:35) com 1% de AcOH em coluna C-18. B - Cromatograma de HPLC das chalconas finais 45d com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluido com MeOH:H ₂ O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.	63
Figura 58: Rotas sintéticas desenvolvidas para obtenção das chalconas da série D.	66
Figura 59: Possíveis produtos formados na etapa final da rota sintética representada na Figura 58-C.	67
Figura 60: Rota sintética alternativa para obtenção das chalconas da série D.	68
Figura 61: Esquema de intermediários simplificado para obtenção da <i>N</i> -aril-oxazolidin-2-ona 54a-b a partir da amino-chalcona 56a-b	69
Figura 62: Reação de obtenção das chalconas finais da série E.	69
Figura 63: Esquema de intermediários para síntese das chalconas finais da série E (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).	70
Figura 64: Reação para obtenção da chalcona final 59e da série E.	71
Figura 65: Esquema de intermediários para síntese da chalcona- <i>N</i> -acetilada 59e (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).	71

Figura 66: Espectro de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 500MHz) do composto 59e . A região de 4,1-6,5 ppm foi suprimida.....	72
Figura 67: Cromatograma de HPLC das chalconas finais 59e com detecção em λ = 320 nm, eluído com MeOH:H ₂ O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.	73
Figura 68: Estados de protonação da histidina (Adaptado de LI; HONG, 2011).	74
Figura 69: <i>Docking</i> molecular entre PrP ¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e as chalconas finais da série A 42a-g utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP ¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.....	76
Figura 70: Sobreposição do <i>docking</i> molecular entre J8 (em branco) e 42e (em amarelo) e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).....	77
Figura 71: <i>Docking</i> molecular entre PrP ¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e as chalconas finais da série B 44a-p utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP ¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.....	79
Figura 72: <i>Docking</i> molecular entre PrP ¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e as chalconas finais da série C 45a-d utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalconas e PrP ¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.....	81
Figura 73: Sobreposição do <i>docking</i> molecular entre 44a da série B (em amarelo) e 45a da série C (em cinza) e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).....	82
Figura 74: <i>Docking</i> molecular entre PrP ¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e as chalconas finais da série D 46a-h utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP ¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.....	83
Figura 75: Sobreposição do <i>docking</i> molecular entre 44a da série B (em laranja) e 46a da série D (em rosa) e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).....	85
Figura 76: Visualização da superfície de Van der Waals do <i>docking</i> molecular entre 46e (em verde), 46f (em vermelho) e 46g (em azul) e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6),	

algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).	86
Figura 77: <i>Docking</i> molecular entre PrP ¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e as chalconas finais da série E 59a-d utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP ¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.	87
Figura 78: A – <i>Docking</i> molecular entre 59c da série E e PrP ¹²¹⁻²³¹ (His-ε) utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). B – <i>Docking</i> molecular entre GN8 e PrP ¹²¹⁻²³¹ (His ⁺) utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).....	88
Figura 79: Avaliação da citotoxicidade pela redução de MTT em células de neuroblastoma N2a na presença das chalconas da série A 42a-g na concentração de 10 μM.....	90
Figura 80: A - Avaliação do conteúdo de PrP ^{Res} em células N2a infectadas (cepa 22L) na presença das chalconas da série A 42a-g na concentração de 10 μM. B – Comparativo da avaliação do conteúdo de PrP ^{Res} em células N2a infectadas com cepas RML e 22L entre o J8 e 42d-g	91
Figura 81: A – Mapa farmacofórico 2D entre 42a e PrP ¹²¹⁻²³¹ . B – Mapa farmacofórico 2D entre 42e e PrP ¹²¹⁻²³¹	92
Figura 82: A – Mapa farmacofórico 2D entre 42d e PrP ¹²¹⁻²³¹ . B – Mapa farmacofórico 2D entre 42e e PrP ¹²¹⁻²³¹ . C – Mapa farmacofórico 2D entre 42f e PrP ¹²¹⁻²³¹ . D – Mapa farmacofórico 2D entre 42g e PrP ¹²¹⁻²³¹	93
Figura 83: Síntese dos benzaldeídos- <i>O</i> -alquilados.	96
Figura 84: Reação de obtenção das chalconas intermediárias.	96
Figura 85: Síntese das amino-chalconas intermediárias.	98
Figura 86: Síntese da α-bromo-acetamida-chalcona.....	99
Figura 87: Síntese das amino-chalconas finais da série A.	100
Figura 88: Síntese das chalconas finais da série B.....	103
Figura 89: Síntese das chalconas finais da série C.....	105
Figura 90: Síntese das chalconas finais da série E.....	107
Figura 91: Síntese da <i>N</i> -acetil-chalcona.....	107

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Rendimentos da reação para obtenção dos benzaldeídos- <i>O</i> -alquilados.	30
Tabela 2: Rendimentos da reação para obtenção das chalconas intermediárias.	32
Tabela 3: Rendimentos da reação de obtenção das amino-chalconas intermediárias.	38
Tabela 4: Rendimento da reação de obtenção das chalconas finais da série A 42a-g	43
Tabela 5: Rendimentos da etapa de desproteção/formação de cloridrato.	53
Tabela 6: Rendimento da reação de obtenção das chalconas finais da série B 44a-d,i-j	56
Tabela 7: Rendimento da reação de obtenção dos compostos finais da série C.	59
Tabela 8: Rendimento da reação de obtenção das chalconas finais da série E.	70
Tabela 9: Valores de energia de ligação obtidos no ancoramento molecular entre as chalconas da série A 42a-g e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.	77
Tabela 10: Valores de energia de ligação obtidos no <i>docking</i> molecular entre as chalconas da série B 44a-p e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.	80
Tabela 11: Valores de energia de ligação obtidos no <i>docking</i> molecular entre as chalconas da série C 45a-d e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.	81
Tabela 12: Valores de energia de ligação obtidos no <i>docking</i> molecular entre as chalconas da série D 46a-h e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.	84
Tabela 13: Valores de energia de ligação obtidos no <i>docking</i> molecular entre as chalconas da série E 59a-d e PrP ¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.	87

LISTA DE ABREVIATURAS

- 22L – cepa de prion
- 4CL – 4-comaroil-CoA ligase
- 5-LOX – 5-lipoxigenase
- Å – ångström
- AChE – acetilcolinesterase
- AcOH – ácido acético
- Act – acetato de etila
- Arg – arginina
- Asn – asparagina
- AURS – aurona sintase
- BChE – butirilcolinesterase
- BINAP – 2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl
- Boc – grupo protetor *terc*-butoxycarbonyl
- BrettPhos – 2-(dicyclohexylphosphino)3,6-dimethoxy-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl
- C-18 – coluna de octadesilsilano
- CCFA – cromatografia em camada fina analítica
- CE₅₀ – concentração que induz metade do seu efeito máximo
- CHI – chalcona isomerase
- CHR – chalcona redutase
- CHS – chalcona sintase
- CI₅₀ – metade da concentração inibitória máxima
- CIM – concentração inibitória mínima
- CJD – doença de Creutzfeldt-Jakob
- CoA – coenzima A
- COX-1 – ciclo-oxigenase 1
- COX-2 – ciclo-oxigenase 2
- DavePhos – 2-dicyclohexylphosphino-2'-(*N,N*-dimethylamino)biphenyl
- dba – dibenzalacetona
- DCM – diclorometano
- DMAP – 4-(dimetilamino)piridina
- DMF – dimetilformamida

DMSO – dimetilsulfóxido
DMSO-d₆ – dimetilsulfóxido deuterado
EC-109 – linhagem celular de carcinoma resistente
EEB – encefalopatia espongiiforme bovina
Et – etil
Gln – glutamina
Glu – ácido glutâmico
GN8 – *N,N'*-(methylenebis(4,1-phenylene))bis(2-(pyrrolidin-1-yl)acetamide)
h – hora
H37Rv – cepa de *Mycobacterium tuberculosis*
Hex – hexano
His – histidina
His⁺ – tautômero protonado de histidina
His-E – tautômero de histidina
HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência
HPLC/DAD – cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo
Hz – hertz
IQ-UFRRJ – instituto de química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
J – constante de acoplamento
J8 – (*E*)-3-(4-(dimethylamino)phenyl)-1-(2,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one
kcal – quilocaloria
KO^t-Bu – *tert*-butóxido de potássio
KYSE-180 – linhagem celular de carcinoma
KYSE-4 – linhagem celular de carcinoma
LHMDS – lithium bis(trimethylsilyl)amide
L_n – ligante genérico
Lys – lisina
MAO-A – monoamina oxidase A
MAO-B – monoamina oxidase B
Me – metil
MeCN – acetonitrila
MeOH – metanol
mg – miligrama

MHz – mega-hertz
mL – mililitro
mm – milímetro
mmol – milimol
MTT – (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
N2a – linhagem celular de neuroblastoma de rato
N2a-FK – linhagem celular de neuroblastoma de rato modificada
NaOMe – metóxido de sódio
NaOPh – fenóxido de sódio
NaOt-Bu – *terc*-butóxido de sódio
NIAID – *national institute of allergy and infectious diseases*
NIH – *national institute of health*
OAc – grupo acetato
°C – graus Celsius
P.F. – ponto de fusão
PDB – *protein data bank*
pH – cologaritmo da atividade do íon hidrônio
pKa – constante de acidez
PPh₃ – trifenilfosfina
ppm – partes por milhão
PrP – proteína priônica
PrP¹²¹⁻²³¹ – estrutura da proteína priônica do resíduo de aminoácido 121 ao 231
PrP^C – proteína priônica normal
PrP^{Int} – isoforma intermediária da proteína priônica
PrP^{Res} – isoforma resistente à protease de proteína priônica
PrP^{Sc} – isoforma infectante da proteína priônica
R.F. – fator de retenção
RML – cepa de príon
RMN ¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono
RMN ¹H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RuPhos – 2-dicyclohexylphosphino-2',6'-diisopropoxybiphenyl
S₁ – estado simpleto
SARS-CoV-2 – síndrome respiratória aguda grave de coronavírus 2

ScN2a-22L – célula de neuroblastoma de camundongo infectada com a cepa 22L de príon
ScN2a-RML – célula de neuroblastoma de camundongo infectada com a cepa RML de príon
S_N2 – substituição nucleofílica bimolecular
S_NAc – substituição nucleofílica acílica
TAL – tirosina amônia-liase
t-BuOH – *terc*-butanol
TFA – ácido trifluoracético
THF – tetraidrofurano
TMS – tetrametilsilano
Ts – tosil
UV – ultravioleta
XPhos – 2-dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl
 ΔG – variação da energia livre de Gibbs
 β_n – ângulo de mordida
 δ – deslocamento químico
 λ – comprimento de onda
 μM – micro molar
 θ – ângulo de cone

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Proteínas	1
1.1.1	Enovelamento proteico	1
1.2	Doença priônica	4
1.3	Compostos anti-príon	7
1.4	Chalconas	9
1.4.1	Biossíntese de chalconas	9
1.4.2	Síntese de chalconas	10
1.4.2.1	Reação de Claisen-Schmidt	11
1.4.2.2	Outras estratégias para síntese de chalconas.....	12
1.4.2.3	Atividade biológica de chalconas	13
1.5	Reação de Buchwald-Hartwig.....	15
1.5.1	A influência da base e ligante.....	17
1.5.2	A influência da fonte de paládio e solvente.....	19
1.5.3	A influência do haleto de arila e a amina	20
2	OBJETIVO	22
2.1	Objetivo geral	22
2.2	Objetivos específicos	22
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
3.1	Escolha do protótipo	23
3.2	Planejamento estrutural e sintético da série A.....	23
3.3	Planejamento estrutural das séries B, C e D	25
3.4	Planejamento sintético das séries B, C e D	26
3.5	Planejamento estrutural e sintético da série E	28
3.6	Síntese dos intermediários	30

3.6.1	Síntese dos intermediários benzaldeídos- <i>O</i> -alquilados	30
3.6.2	Síntese das chalconas intermediárias das séries A, B, D e E.....	31
3.6.2.1	Caracterização espectroscópica da bromo-chalcona (43).....	33
3.6.2.2	Caracterização espectroscópica da bromo-alquil-chalcona (47a).....	34
3.6.2.3	Caracterização espectroscópica da nitro-chalcona (57a).....	36
3.6.3	Síntese das amino-chalconas	38
3.6.3.1	Caracterização espectroscópica da amino-chalcona (56a).....	39
3.6.4	Síntese da α -bromo-acetamida-chalcona (60).....	40
3.7	Síntese dos produtos finais	42
3.7.1	Síntese dos produtos finais da série A	42
3.7.1.1	Estudo da degradação sofrida por 42d-g.....	49
3.7.2	Síntese das chalconas finais da série B.....	56
3.7.2.1	Caracterização espectroscópica das chalconas finais da série B	57
3.7.3	Síntese das chalconas finais da série C.....	59
3.7.3.1	Caracterização espectroscópica das chalconas finais da série C	61
3.7.4	Síntese das chalconas finais da série D	64
3.7.4.1	Desenvolvimento da rota sintética.....	64
3.7.5	Síntese das chalconas finais da série E.....	69
3.7.5.1	Caracterização espectroscópica da chalcona final da série E	72
3.8	Modelagem molecular	73
3.8.1	Estudos de <i>docking</i> molecular das chalconas da série A.....	74
3.8.2	Estudos de <i>docking</i> molecular das chalconas da série B.....	78
3.8.3	Estudos de <i>docking</i> molecular das chalconas da série C.....	80
3.8.4	Estudos de <i>docking</i> molecular das chalconas da série D.....	82
3.8.5	Estudos de <i>docking</i> molecular das chalconas da série E	86
3.9	Avaliação biológica das chalconas da série A.....	89
4	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	94
5	PARTE EXPERIMENTAL	95
5.1	Equipamentos	95
5.2	Síntese dos intermediários	96
5.2.1	Síntese dos intermediários benzaldeídos- <i>O</i> -alquilados	96

5.2.2	Síntese das chalconas intermediárias das séries A, B, D e E.....	96
5.2.3	Síntese das amino-chalconas	98
5.2.4	Síntese da α -bromo-acetamida-chalcona	99
5.3	Síntese dos produtos finais	100
5.3.1	Síntese das chalconas finais da série A	100
5.3.2	Síntese das chalconas finais da série B.....	103
5.3.3	Síntese das chalconas finais da série C.....	105
5.3.4	Síntese das chalconas finais da série E.....	107
5.4	Modelagem molecular	108
5.5	Avaliação biológica	108
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	109
7	ANEXOS	118

1 INTRODUÇÃO

1.1 Proteínas

Proteínas são as macromoléculas biológicas mais abundantes nos organismos vivos e participam da grande maioria das atividades fisiológicas. Proteínas são responsáveis por inúmeras funções, como: transporte de moléculas, participação na defesa e sinalização celular, catalisadores de reações químicas, entre outras. O processo pelo qual uma cadeia polipeptídica (estrutura primária) transforma-se em uma proteína perfeitamente estruturada e capaz de desempenhar sua função (estrutura terciária e/ou quaternária) é chamado de enovelamento proteico. A variedade de proteínas estruturalmente diversas permitiu que os organismos vivos desenvolvessem grande diversidade e seletividade em suas reações químicas. É essencial que o processo de formação e enovelamento de uma proteína seja rigorosamente controlado e específico a fim de que a proteína seja capaz de realizar sua função corretamente. Os organismos vivos possuem ferramentas para contornar os problemas decorrentes do mal enovelamento proteico como, por exemplo, o sistema ubiquitina-proteassoma. Entretanto é muito comum que haja falha nesse processo que pode ocasionar danos à saúde celular e evoluir para quadros patológicos (LEHNINGER; NELSON; COX, 2013; VOET; VOET, 2013).

1.1.1 Enovelamento proteico

A estrutura tridimensional na qual uma proteína consegue desempenhar seu papel é chamado de estado nativo e sua estrutura é determinada pela sua sequência de aminoácidos. A transição para o estado nativo é chamada de enovelamento proteico e depende tanto das propriedades intrínsecas da cadeia polipeptídica como também de outros fatores oriundos do meio celular em que a proteína se encontra (LEHNINGER; NELSON; COX, 2013; VOET; VOET, 2013).

O caminho para o enovelamento de uma cadeia polipeptídica não é simples, mas segue uma linha hierárquica de enovelamento onde estruturas secundárias como α -hélice e folhas- β são formadas primeiro (Figura 1). As estruturas de α -hélice e folhas- β são originadas pelas ligações hidrogênio intramoleculares entre os resíduos de aminoácidos próximos. Interações iônicas envolvendo os resíduos de aminoácidos carregados auxiliam na formação de estruturas enoveladas mais estáveis, juntamente com interações hidrofóbicas. Este processo de interação

entre as cadeias laterais dos resíduos de aminoácidos exerce um papel significativo na estabilização energética da proteína e esse processo continua até que toda a cadeia polipeptídica esteja enovelada de forma corretamente em seu estado nativo e capaz de realizar suas funções celulares (LEHNINGER; NELSON; COX, 2013; VOET; VOET, 2013).

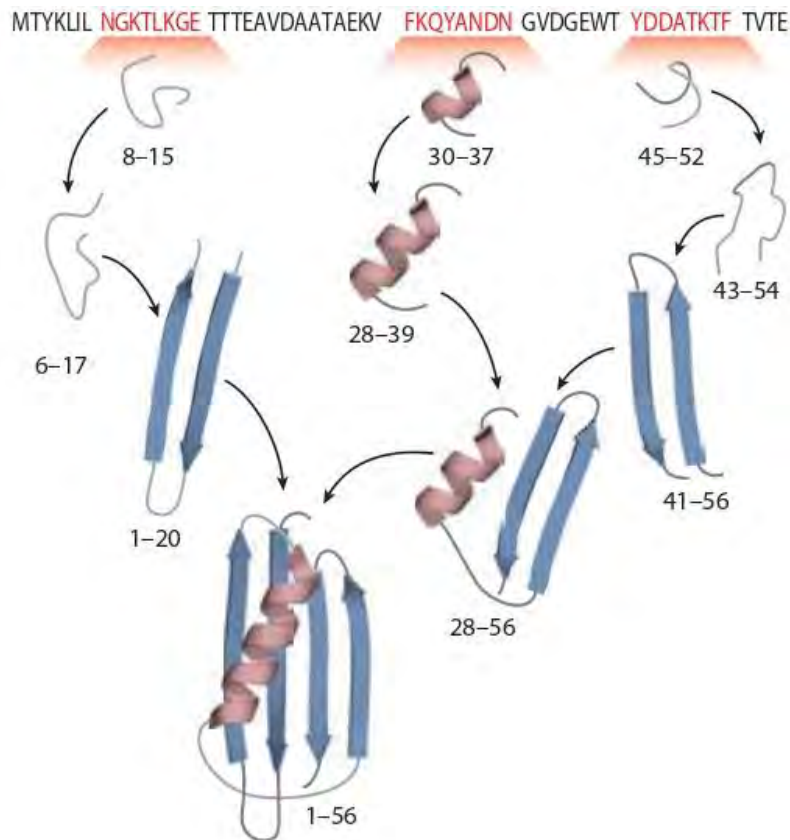


Figura 1: Esquema simplificado da ordem hierárquica de enovelamento de uma proteína genérica de 56 aminoácidos (Adaptado de LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).

Os experimentos de Christian Anfinsen utilizando a ribonuclease A nos anos de 1950-1970 demonstraram muito bem que as informações necessárias para o enovelamento correto de uma proteína estão contidas em sua própria sequência primária de aminoácidos. O experimento consistia em submeter a ribonuclease A às condições desnaturantes de ureia e um agente redutor. A ureia atuava rompendo as ligações intramoleculares entre os resíduos de aminoácidos enquanto o agente desnaturante rompia as ligações dissulfeto e, desta forma, a ribonuclease A sofria processo de desnaturação e conseqüentemente perda de sua atividade catalítica. Após a remoção do agente redutor e da ureia do meio, a ribonuclease A desnaturada, aleatoriamente enrolada, era capaz de se enovelar espontaneamente em sua estrutura terciária correta, com restauração total de sua atividade catalítica. Posteriormente, trabalhos adicionais mostraram que

algumas proteínas necessitavam da assistência de outras, chamadas proteínas chaperonas, para atingir seu estado de enovelamento correto (ANFINSEN, 1973; ANFINSEN et al., 1961; LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).

O processo de enovelamento de uma proteína é governado pelas leis da termodinâmica no qual o estado nativo da proteína é a estrutura termodinamicamente mais estável em condições fisiológicas. A estabilidade de uma proteína é dada pela diferença da energia livre de Gibbs (ΔG) entre o estado nativo e seu estado desenovelado, onde um valor negativo de ΔG indica que o processo de enovelamento para estrutura nativa da proteína é energeticamente favorável e pode ocorrer de maneira espontânea (HARTL; HAYER-HARTL, 2009).

O processo de enovelamento de uma proteína pode ser entendido com o auxílio de um funil termodinâmico (Figura 2). As cadeias polipeptídicas desnaturadas, apresentando alta energia livre de Gibbs e alta entropia conformacional, percorrem diversos caminhos possíveis até alcançarem seu estado nativo (termodinamicamente mais estável que o desnaturado) ou formarem agregados proteicos. A estrutura primária, através de interações intermoleculares, sofre algumas mudanças conformacionais até atingirem estados intermediários de enovelamento favoráveis. Estes intermediários parcialmente enovelados tornam-se cada vez mais estruturados e menos hidratados a medida que novas interações vão se estabelecendo, permitindo assim que a cadeia polipeptídica gradualmente alcance estruturas de menor energia até atingir seu estado nativo (HARTL; BRACHER; HAYER-HARTL, 2011; HARTL; HAYER-HARTL, 2009; LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).

Os estados mal enovelados de uma proteína são problemáticos porque tendem a formar agregados com o aumento da concentração dessas espécies. Esses estados mal enovelados frequentemente deixam expostos resíduos de aminoácidos hidrofóbicos que tendem a agregar-se através de interações intermoleculares com outras espécies mal enoveladas formando espécies insolúveis e possivelmente tóxicas ao invés de realizar interações intramoleculares e caminharem para a conformação nativa. Estes agregados, na sua grande maioria, são termodinamicamente mais estáveis que os estados nativos corretos e sua desagregação e retomada para estados termodinamicamente menos estáveis é praticamente irreversível (HARTL; BRACHER; HAYER-HARTL, 2011; HARTL; HAYER-HARTL, 2009; LEHNINGER; NELSON; COX, 2013).

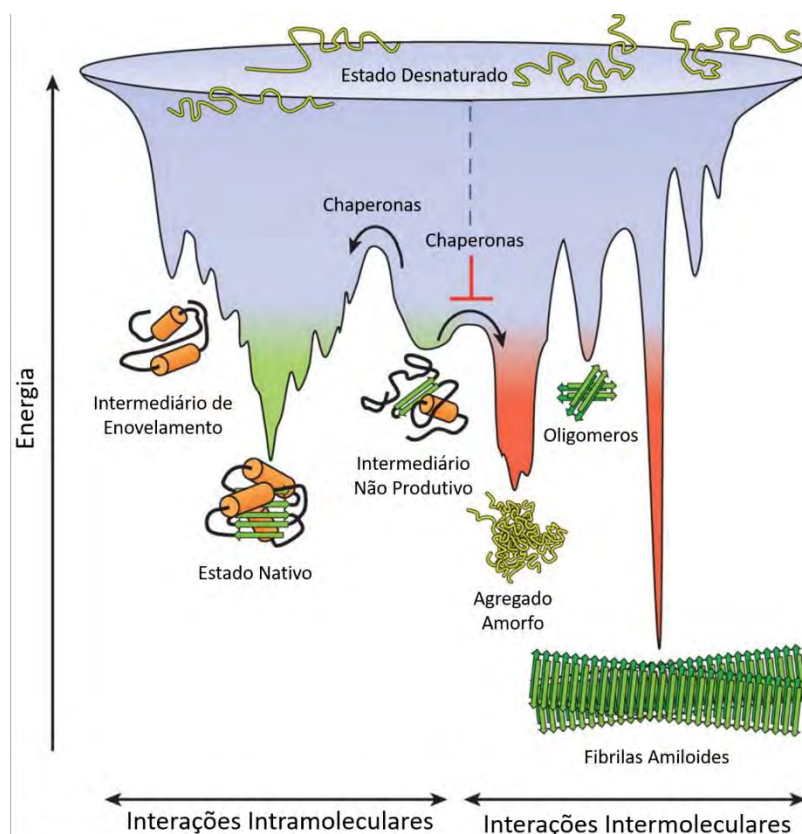


Figura 2: Funil termodinâmico do enovelamento proteico (Adaptado de HARTL; BRACHER; HAYER-HARTL, 2011).

1.2 Doença priônica

Com o frequente aumento da expectativa de vida da população brasileira (GUERRA, 2018) as doenças associadas à idade são atualmente alvos de diversos estudos. A Doença de Alzheimer certamente é o caso mais conhecido de distúrbio encefálico degenerativo, embora cada vez mais grupos de pesquisa venham estudando outros tipos de doenças encefálicas, onde entre elas encontram-se as doenças priônicas (BURCHELL; PANEGYRES, 2016; FERREIRA et al., 2014, 2017; MALLUCCI et al., 2007; MORENO et al., 2012).

As doenças priônicas constituem um conjunto de anomalias denominadas encefalopatias espongiformes, onde observam-se vacâncias nos neurônios que dão ao tecido cerebral a aparência microscópica de esponja, que afetam o sistema nervoso central e provocam disfunção cerebral, caracterizando-as como neurodegenerativas (VOET; VOET, 2013).

O primeiro relato científico sobre a doença priônica foi em 1811 no periódico Agricultural Improvement Society por Thomas Davies após um surto epizoótico em ovelhas da raça merino. Os criadores de ovelhas do Reino Unido acreditavam que a doença tinha sido

causada pela importação de ovinos espanhóis que contaminaram as regiões próximas (LIBERSKI, 2012). Na década de 1980, na Inglaterra, surgiu a doença denominada encefalopatia espongiforme bovina (EEB) que atingiu os animais adultos. Com a descoberta da transmissão da doença a humanos por via oral, o governo britânico proibiu a comercialização de derivados bovinos (LAURINDO; BARROS FILHO, 2017). Em humanos, a doença priônica mais comum é denominada doença de Creutzfeldt-Jakob (CJD) e corresponde a cerca de 85% dos casos de doenças priônicas. A incidência anual da doença de Creutzfeldt-Jakob é de 0,4 a 1,8 casos por milhão. Apesar da baixa incidência a CJD tornou-se alvo de estudos devido à transmissão da doença priônica a humanos pelo consumo de carne bovina oriundas de animais infectados com EEB, alertando assim sobre uma eventual epidemia de CJD (SALVADOR, 2014; TANWANI; FURMAN; RITCHIE, 2003).

De maneira geral, as doenças priônicas são causadas pelo enovelamento incorreto de uma proteína cerebral normal (PrP^C), cuja função ainda não é bem conhecida, localizada na parte externa da membrana celular, especialmente nos neurônios (VOET; VOET, 2013, p. 313). Deste mal enovelamento surge a isoforma infecciosa (PrP^{Sc}) (AMBADI THODY; MATHEW; UDGAONKAR, 2018).

Análises mostram que as sequências de aminoácidos de ambas proteínas são idênticas, diferenciando-se apenas quanto às suas estruturas secundárias e terciárias. Técnicas espectroscópicas determinaram que a isoforma PrP^C possui alto índice de α -hélice (40%) e baixo índice de folhas β (3%). Entretanto a PrP^{Sc} apresenta índice de α -hélice próximo a 30% e 45% de folhas β (Figura 3) (LEE et al., 2013). Tal mudança conformacional diminui consideravelmente a solubilidade e, por consequente, facilita a PrP^{Sc} se depositar em agregados fibrilares. Adicionalmente, a PrP^C pode ser integralmente degradada por proteases, enquanto o PrP^{Sc} não (BOLTON; MCKINLEY; PRUSINER, 1982).

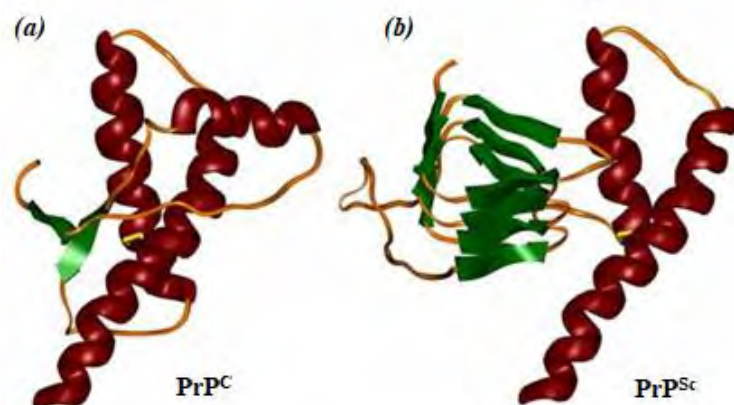


Figura 3: Representação estrutural genéricas de PrP^C (a) e PrP^{Sc} (b). Neste modelo as α -hélices são representadas em vermelho enquanto as folhas β são representadas em verde (Adaptado de VOET; VOET, 2013, p. 314).

O mecanismo de transformação de PrP^C em PrP^{Sc} foi bastante estudado por Stanley Prusiner (COHEN; PRUSINER, 1998; PRUSINER, 1982, 2001) e, a presença da PrP^{Sc}, seja exógeno ou endógeno, catalisa a transformação de PrP^C para PrP^{Sc}, passando primeiramente pelo intermediário PrP^{Int}, aumentando a concentração de PrP^{Sc} no metabolismo de maneira exponencial justificando assim o rápido avanço da doença (Figura 4).

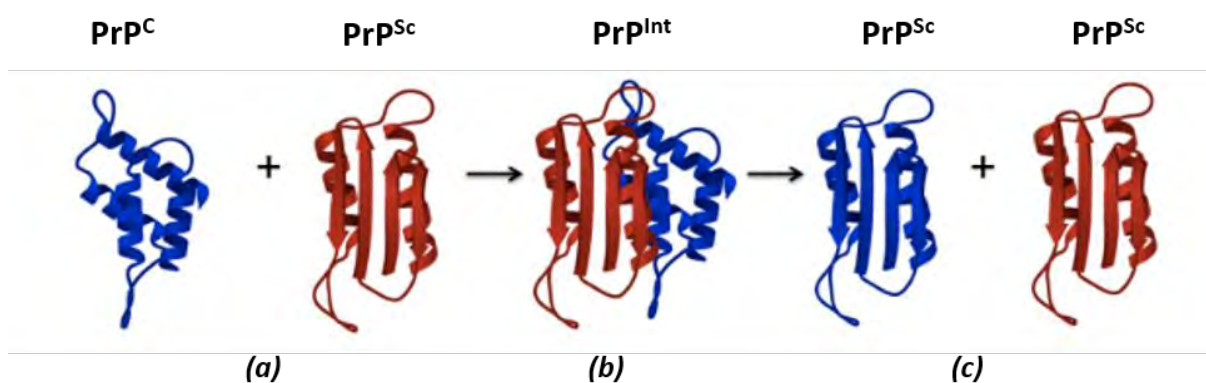


Figura 4: Representação esquemática do mecanismo de conversão de PrP^C em PrP^{Sc} (Adaptado de BURCHELL; PANEGYRES, 2016).

1.3 Compostos anti-príon

Existem atualmente três estratégias sendo estudadas para obtenção de compostos que possam atuar frente à doença priônica: *i*) a diminuição da expressão de PrP^C na superfície celular e, como consequência, diminuição do concentração de substrato para conversão de PrP^C em PrP^{Sc} (Figura 4, *a*); *ii*) a interação direta entre as moléculas bioativas e as isoformas envolvidas (PrP^C e PrP^{Sc}) que visam, principalmente, aumentar a estabilidade de uma das isoformas, atuando como uma chaperona química e impedir a interação entre elas, desfavorecendo assim formação de PrP^{Int} e, conseqüentemente, a conversão para PrP^{Sc} (Figura 4, *b*); *iii*) bioeliminação de PrP^{Sc} diminuindo os níveis da isoforma infectante na superfície celular (Figura 4, *c*) (BARRECA et al., 2018; FERREIRA et al., 2017; SIM, 2012).

Dentre as três abordagens citadas acima os compostos provenientes da química sintética podem atuar em duas: inibindo a conversão de PrP^C em PrP^{Sc} e agindo na bioeliminação de PrP^{Sc}. Já o controle da concentração de PrP^{Sc} através da diminuição da expressão do gene formador de PrP^C é realizado através da manipulação genética com intuito de obter a resposta desejada. Os compostos **1**, **2**, **3**, **5** e **J8** atuam na inibição da conversão das isoformas e o composto **4** atua na bioeliminação de PrP^{Sc} (Figura 5).

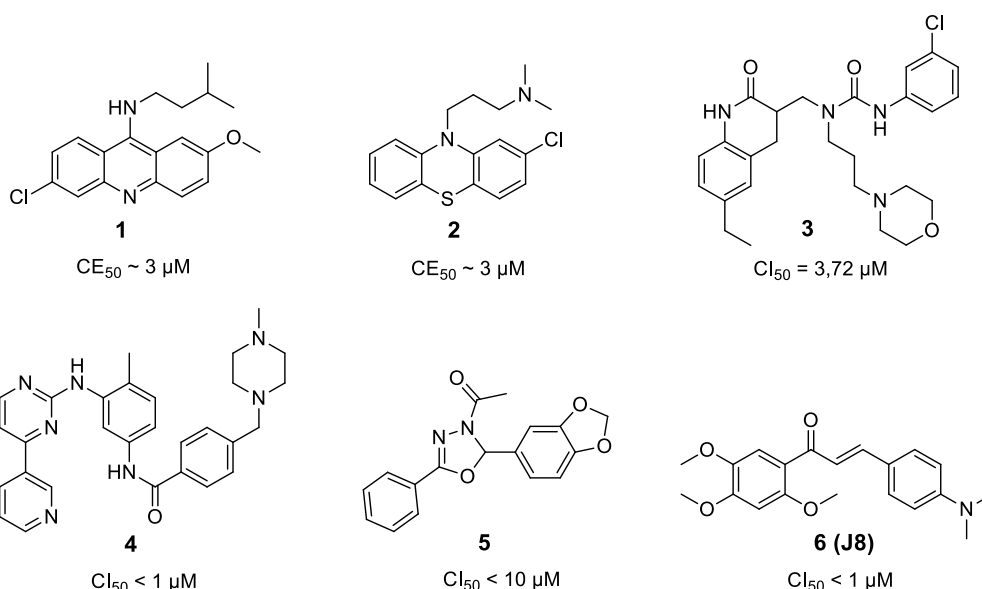


Figura 5: Compostos com atividade anti-príon descritos na literatura.

Korth e colaboradores testaram uma série de derivados da quinacrina (Figura 5, **1** e **2**) com valores de CE_{50} entre 0,3 e 5 μM e estudos de relação estrutura-atividade, constataram a importância da cadeia lateral alifática ligada ao anel intermediário do esqueleto tricíclico para a inibição da formação da isoforma infectante PrP^{Sc} , entretanto seu mecanismo de atuação ainda está sendo estudado (KORTH et al., 2001). Estudos *in vitro* realizados com o composto **3** (Figura 5) obtiveram valor de $CI_{50} = 3,72 \mu\text{M}$ frente à linhagem celular N2a-FK e estudos *in silico* forneceram evidências de ligação entre o composto **3** e a PrP^{C} induzindo a estabilização da conformação não infectante de PrP (ISHIBASHI et al., 2016). Ferreira e colaboradores estudaram uma gama de compostos heterocíclicos frente à inibição da atividade priônica. O composto **5**, um oxadiazol, que atingiu $CI_{50} < 10 \mu\text{M}$ agindo no domínio *N*-terminal da PrP. O composto **J8**, uma trimetoxi-chalcona, demonstrou agir através de mais de um mecanismo sendo eficaz não apenas na inibição da conversão de PrP^{C} em PrP^{Sc} , mas também reduzindo a concentração de PrP^{C} na superfície celular (FERREIRA et al., 2014, 2017).

Ertmer e colaboradores, com interesse de avaliar o impacto que os eventos de sinalização, como fosforilações, exercem na patologia da proteína priônica testaram o inibidor de tirosina quinase (Figura 5, **4**) em cultura de células N2a. Os estudos mostraram que o composto **4** é altamente eficaz com $CI_{50} < 1 \mu\text{M}$ removendo células infectadas por príons e conseguindo diminuir o tempo de meia-vida da PrP^{Sc} de mais de 24 horas para menos de 9 horas (ERTMER et al., 2004).

1.4 Chalconas

Esse grupo químico é constituído por dois anéis aromáticos conectados por um fragmento enona, uma cetona α,β -insaturada, na qual, ligado diretamente à carbonila encontra-se o anel A e, ligado à unidade olefinica, encontra-se o anel B (Figura 6). As chalconas (1,3-difenil-2-propen-1-ona) são uma classe de compostos naturais, pertencentes à família dos flavonoides, encontrados em frutos, legumes, especiarias e, em folhas, principalmente nas famílias *Asteraceae*, *Oxalidaceae*, *Gesneriaceae* e *Acanthaceae* (ANTONIOLLI et al., 2020; LEITÃO, 2020; ZHANG et al., 2018).

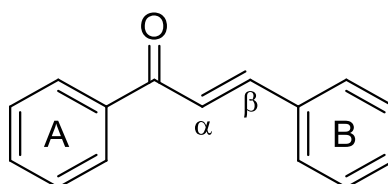


Figura 6: Estrutura básica das chalconas.

1.4.1 Biossíntese de chalconas

A biossíntese de chalconas (Figura 7) ocorre através da rota biossintética convergente: a via do acetato, que leva à formação do anel A e a via do chiquimato, responsável pela formação do anel B. A enzima responsável por esse processo é a chalcona sintase (CHS) que catalisa a reação entre o *p*-cumaroil-CoA **9** e o malonil-CoA **10**. Esta rota é iniciada pela desaminação do aminoácido tirosina **7** pela enzima tirosina amônia-liase (TAL) produzindo o ácido *p*-cumárico **8**. Em seguida o ácido *p*-cumárico **8** é convertido em *p*-cumaroil-CoA **9** pela 4-cumaroil-CoA ligase (4CL). O *p*-cumaroil-CoA **9** e o malonil-CoA **10** são substratos para enzima CHS que produz o dicetideo precursor das chalconas. Posteriormente a CHS catalisa a inserção de mais três unidades de malonil-CoA **10** formando o policetideo A **12** enquanto o mesmo processo, na presença da chalcona redutase (CHR) leva a formação do policetideo B **14**. Após a formação dos policetideos a CHS realiza uma ciclização regioespecífica levando a formação do anel A do esqueleto das chalconas. A ciclização promovida no policetideo A **12** leva a formação da *chalconaringenin* **13** enquanto a ciclização do policetideo B **14** forma a isoliquiritigenina **15**. Diversas chalconas naturais são utilizadas como substratos de outras enzimas como a aurona sintase (AURS) e a chalcona isomerase (CHI) para formação de outras

classes de produtos naturais como auronas, flavanonas e flavonas (ANDERSEN; MARKHAM, 2006; SPRINGOB et al., 2003; ZHUANG et al., 2017).

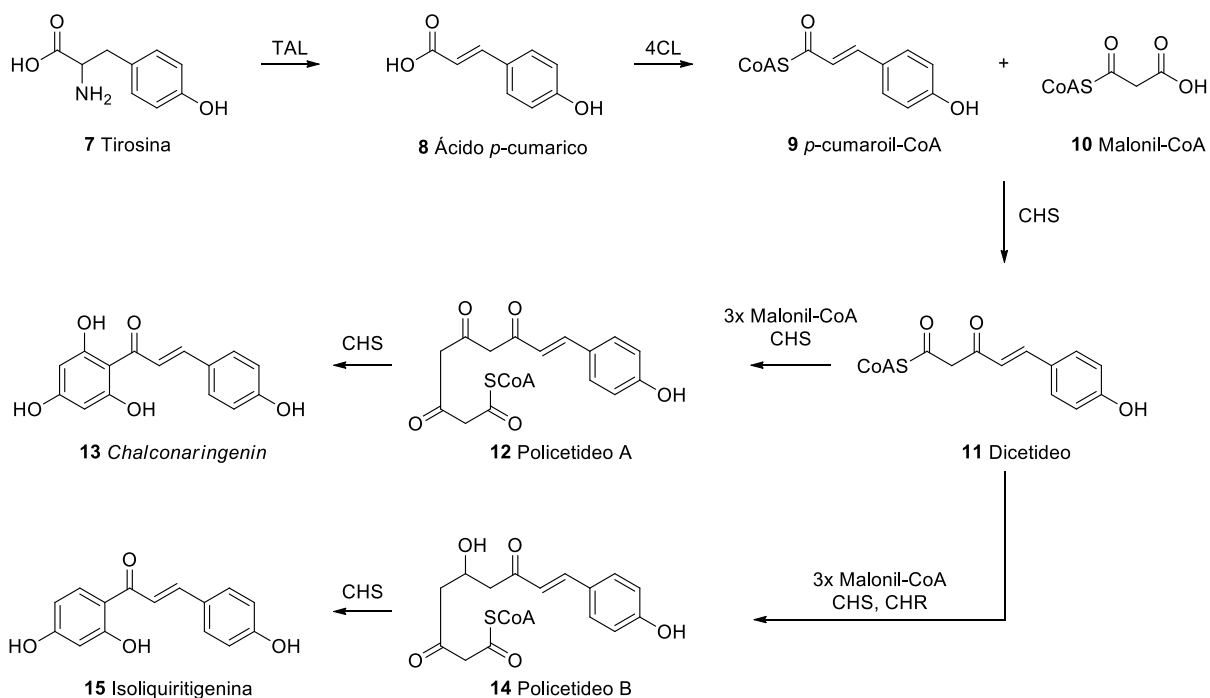


Figura 7: Proposta da rota biossintética da *chalconaringenina* **13** e *isoliquiritigenina* **15**. TAL: tirosina amônia-liase; 4-CL: 4-cumaroil-CoA ligase; CHS: chalcona sintase; CHR: chalcona redutase (Adaptado de ANDERSEN; MARKHAM, 2006; SPRINGOB et al., 2003; ZHUANG et al., 2017).

1.4.2 Síntese de chalconas

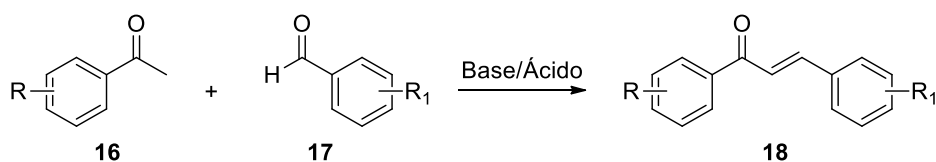
As chalconas podem ser obtidas através de reações clássicas de condensação e, apesar destas sínteses clássicas possibilitarem uma enorme variedade estrutural e padrões de substituições distintos, novas rotas sintéticas para obtenção deste grupo funcional continuam sendo desenvolvidas atualmente. Seja nos métodos clássicos ou modernos, as reações consistem na condensação de dois sistemas aromáticos possuindo grupos nucleofílicos e eletrofílicos para produzir o esqueleto central das chalconas (GOMES et al., 2017; RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017).

1.4.2.1 Reação de Claisen-Schmidt

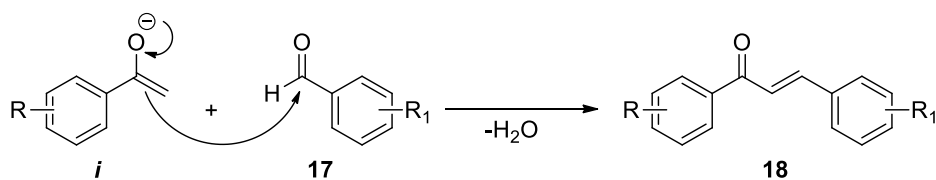
A reação de Claisen-Schmidt é uma reação de condensação entre um benzaldeído **17** e uma acetofenona **16** na presença de catalise ácido ou básica (Figura 8). Essa reação leva o nome dos pesquisadores R. L. Claisen e J. G. Schmidt devido aos trabalhos pioneiros nesse tipo de síntese no século XIX. Normalmente a reação de Claisen-Schmidt é empregada em meio líquido, entretanto há diversos relatos na literatura de sua realização em fase sólida e sem solvente (ADNAN et al., 2020; KUMAR et al., 2021; ROMANELLI et al., 2011).

A formação das chalconas **18** pela reação de Claisen-Schmidt em meio básico ocorre a partir da abstração do hidrogênio ácido presente na acetofenona **16** pela base presente no meio reacional, formando o íon enolato (*i*) que atua como nucleófilo atacando o centro eletrofílico do benzaldeído **17** que, após uma desidratação, leva a formação da ligação dupla carbono-carbono e a obtenção da chalcona **18**. Em meio de catalise ácida, primeiramente ocorre a ativação do eletrófilo pela protonação da carbonila do benzaldeído (*ii*) seguido do ataque nucleofílico da forma enol da acetofenona **19**, levando a formação da ligação dupla carbono-carbono após uma desidratação (Figura 8).

Esquema geral:



Catalise Básica:



Catalise Ácida:

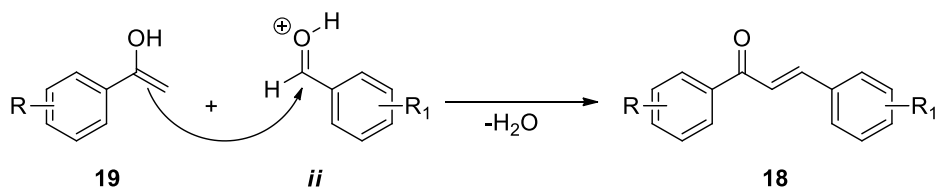


Figura 8: Esquema geral da reação de Claisen-Schmidt (Adaptado de RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017).

1.4.2.2 Outras estratégias para síntese de chalconas

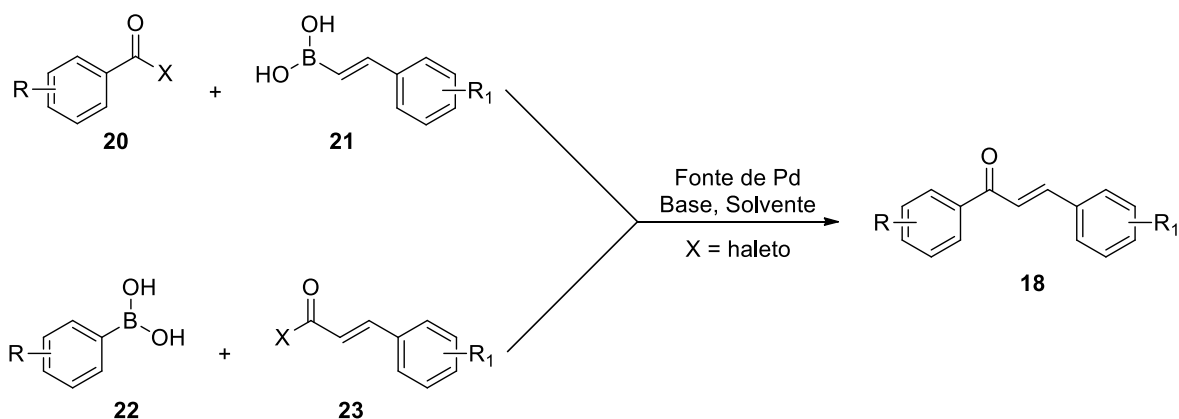
Novas estratégias para obtenção de chalconas através de substratos diferentes dos utilizados na reação de Claisen-Schmidt tem sido desenvolvidas, como reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio de Suzuki e Heck, além da reação de Wittig (Figura 9) (GOMES et al., 2017; RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017).

O acoplamento de Suzuki-Miyaura foi inicialmente descrito por A. Suzuki e N. Miyaura em 1979 para reação estereosseletiva entre haletos de arila e alquenil-boranos levando a formação de estirenos (MIYAURA; SUZUKI, 1979). O primeiro relato da utilização do acoplamento de Suzuki-Miyaura na síntese de chalconas foi descrito em 2003 por S. Eddarir. As chalconas **18** podem ser obtidas pela reação de Suzuki-Miyaura por dois caminhos: a reação entre haletos de benzoíla **20** e ácidos fenil-vinil-borônicos **21** ou a reação entre haletos cinâmicos **23** e ácidos fenil-borônicos **22** (Figura 9-A). Os resultados experimentais indicam que a reação entre haletos de benzoíla **20** e ácidos fenil-vinil-borônicos **21** geram chalconas **18** com rendimentos mais elevados (EDDARIR et al., 2003; RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017).

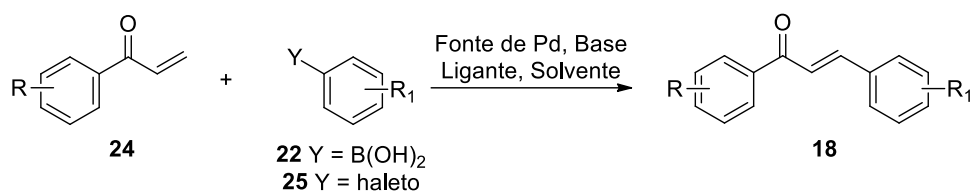
A reação de acoplamento de Heck, assim como a de Suzuki-Miyaura, é catalisada por paládio e possui como substratos ácidos fenil-borônico **22** ou haletos de arila **25** e diversos alcenos (Figura 9-B). Para obtenção de chalconas através da reação de Heck é necessário a utilização de vinil-aril-cetonas **24** (HECK; NOLLEY, 1972; ZHUANG et al., 2017). O primeiro relato de obtenção de chalconas via acoplamento de Heck foi descrito por A. Bianco em 2003 utilizando um sistema de acetato de paládio, trifenilfosfina e trietilamina em acetonitrila com excelentes rendimentos (BIANCO et al., 2003).

A reação de olefinação de Wittig é uma boa estratégia para síntese de compostos insaturados e também pode ser utilizada para obtenção de chalconas a partir de benzaldeídos **17** e trifenil-benzoil-metileno-fosforanos **26** (Figura 9-C) (RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017). As primeiras tentativas para síntese de chalconas através da reação de Wittig foram descritas por F. Ramirez e S. Dershowitz em 1957 e, apesar de terem obtidos bons rendimentos, a reação demandava muito tempo reacional (RAMIREZ; DERSHOWITZ, 1957). Posteriormente essa reação foi otimizada pela utilização de irradiação de micro-ondas por C. Xu em 1995 que descreveu a síntese de diversas chalconas com ótimos rendimentos com tempos reacionais de 5-6 minutos (XU; CHEN; HUANG, 1995).

A - Acoplamento de Suzuki-Miyaura:



B - Acoplamento de Heck:



C - Reação de Wittig:

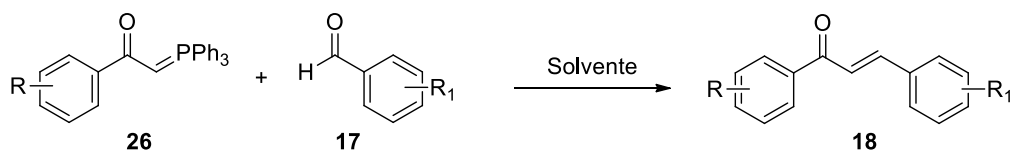


Figura 9: Obtenção de chalconas por outras estratégias sintéticas (Adaptado de RAMMOHAN et al., 2020; ZHUANG et al., 2017).

1.4.2.3 Atividade biológica de chalconas

As chalconas apresentam ampla variedade de atividades biológicas devido a facilidade de inserção de diversos substituintes em seu esqueleto e, por isso, tem sido alvo de diversos estudos em química medicinal, caracterizando-a como uma estrutura privilegiada. Resultados promissores foram observados como: atividade antimalárica, anti-inflamatória, anti-viral, anti-leishmania, anti-príon, anticâncer, bactericida, fungicida e, recentemente, vem sendo estudado seus efeitos frente a agregação β -amiloide e inibição de colinesterases associadas à doença de Alzheimer (Figura 10) (ANTONIOLLI et al., 2020; APONTE et al., 2010; CHEN et al., 1997; FERREIRA et al., 2014, 2017; FOSSO et al., 2015; KOZŁOWSKA et al., 2019; LEITÃO, 2020; NIELSEN et al., 2004; OSMANIYE et al., 2018; REDDY et al., 2011; SALEHI et al., 2021; WU et al., 2003; ZHANG et al., 2018).

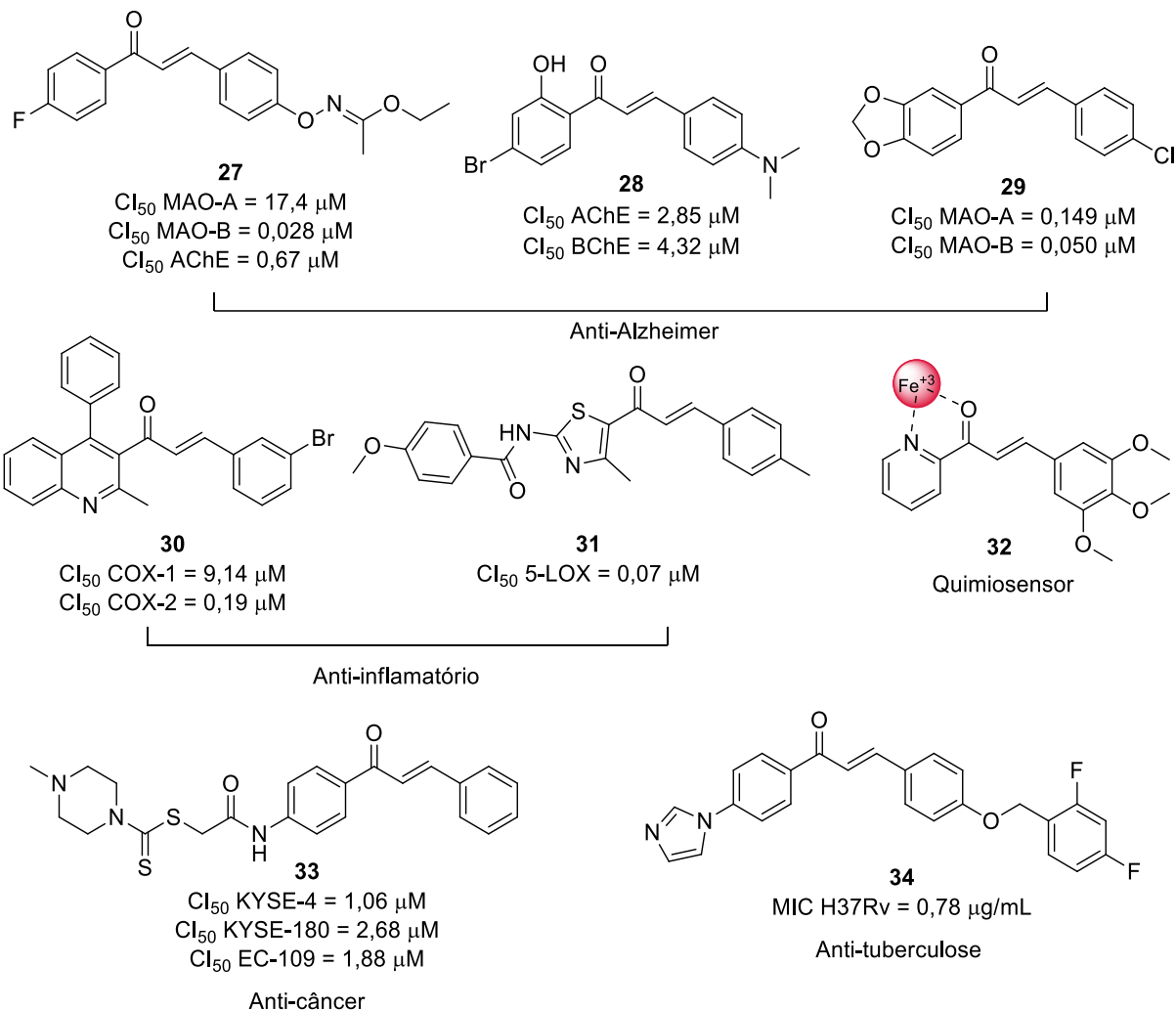


Figura 10: Chalconas com atividade biológica descritas na literatura (APONTE et al., 2010; CHEN et al., 1997; FOSSO et al., 2015; KOZŁOWSKA et al., 2019; NIELSEN et al., 2004; REDDY et al., 2011; WU et al., 2003; ZHANG et al., 2018).

1.5 Reação de Buchwald-Hartwig

A reação de *N*-arilação de Buchwald-Hartwig, que foi amplamente utilizada nesta dissertação, emergiu rapidamente de meados dos anos 1990 até hoje (SCIENCEDIRECT, 2020) (Figura 11) como uma ferramenta crucial para síntese de novos candidatos a fármacos e moléculas bioativas. Um dos fatores que levaram ao rápido avanço da química dos acoplamentos cruzados catalisados por paládio para formação da ligação C-N é a grande incidência de aminas aromáticas em moléculas biologicamente ativas, seja de origem natural ou sintética, como inibidores de quinases, antibióticos e compostos ativos no sistema nervoso central, além da utilização na síntese de heterocíclon, química de materiais, ligantes e catalisadores (RUIZ-CASTILLO; BUCHWALD, 2016; SURRY; BUCHWALD, 2011).

Embora o nome da reação tenha sido creditado a Stephen L. Buchwald e John F. Hartwig por seus intensos trabalhos na síntese de novos ligantes para o aprimoramento do escopo de substratos, o primeiro relato da utilização de acoplamento cruzado catalisado por paládio em *N*-arilações foi em 1983 por Kosugi, Kameyama e Migita, que descreveram a reação entre diversos haletos de arila e *N,N*-dietilamino-tributilestanho usando 1 mol% de PdCl₂[P(*o*-tolyl)]₃ em tolueno obtendo rendimentos entre 16-81% (KOSUGI; KAMEYAMA; MIGITA, 1983).

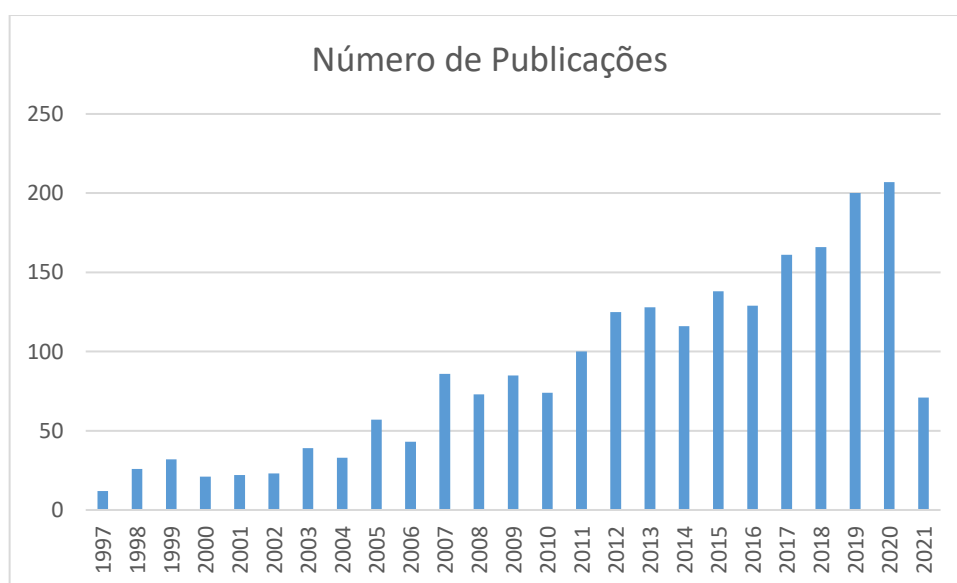


Figura 11: Número de publicações anuais com "Buchwald-Hartwig" como palavra-chave (Levantamento realizado 24 de janeiro de 2021 em ScienceDirect).

Os principais parâmetros da reação de Buchwald-Hartwig são: o ligante, a fonte de paládio, a base e o solvente. A seleção de cada um dos parâmetros é dependente da natureza eletrônica e estrutural da amina e do eletrófilo utilizados, entretanto, deve-se realizar um estudo preliminar das condições, pois, nem sempre a melhor base para um determinado conjunto de solvente e fonte de paládio é a mais adequada em outro conjunto por exemplo (Figura 12) (SURRY; BUCHWALD, 2011).

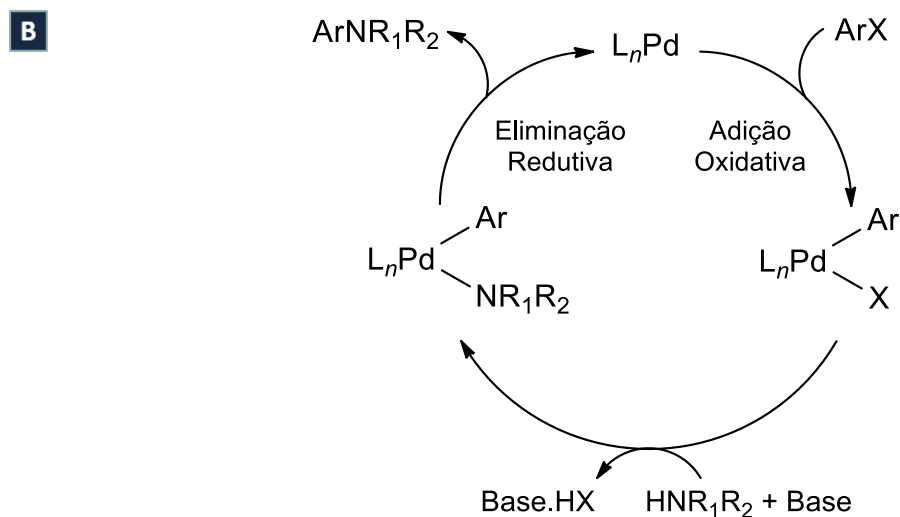
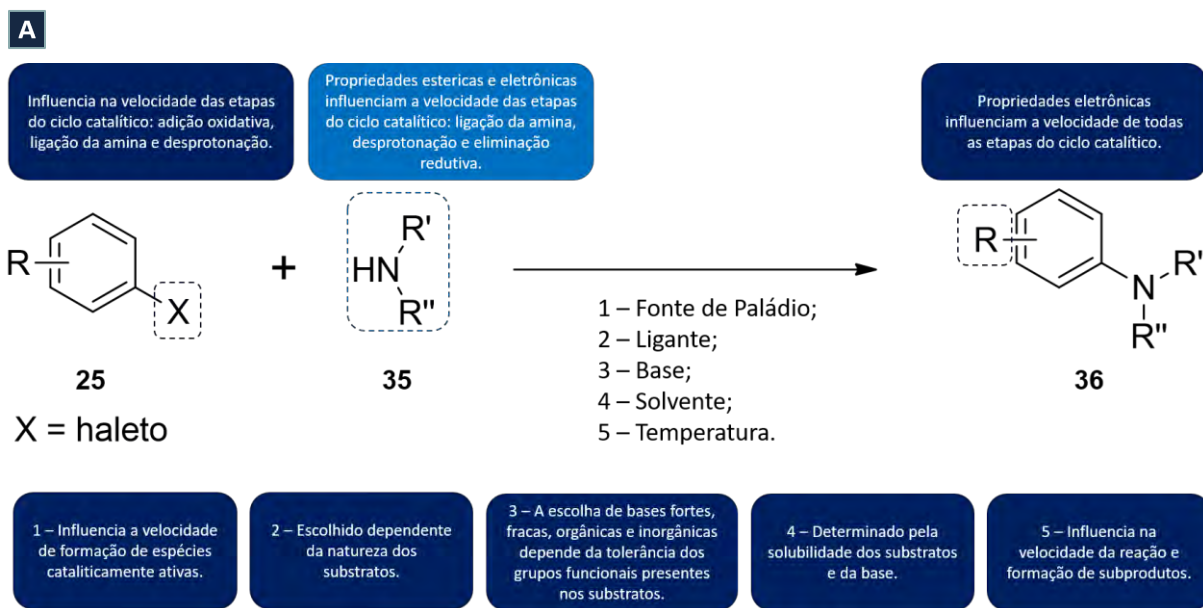


Figura 12: A – Fatores que influenciam a reação de Buchwald-Hartwig; B – Ciclo catalítico simplificado da reação de Buchwald-Hartwig (Adaptado de SURRY; BUCHWALD, 2011).

1.5.1 A influência da base e ligante

A escolha da base utilizada é dependente da tolerância dos grupos funcionais presentes nos substratos e não apenas dos valores de pKa das bases pois este valor é significativamente alterado quando coordenado ao metal. Por conta de tais peculiaridades, pesquisas sobre essa influência vem sendo realizadas por diversos grupos de pesquisa (BUIRAGO SANTANILLA et al., 2015; DENNIS et al., 2018; SHEKHAR; HARTWIG, 2007).

Os primeiros estudos da reação de acoplamento cruzado catalisada por paládio entre amina e haletos de arila utilizaram o sistema de *tert*-butóxido de sódio em tolueno. Esta base continua sendo uma das mais versáteis, gerando melhores rendimentos e necessitando de menores cargas de catalisadores, entretanto, por se tratar de uma base muito forte, participa de reações paralelas com centros eletrofilicos presentes no substrato. Diversas bases foram testadas visando o aumento do escopo da reação como: KO*t*-Bu, NaOMe, NaOPh, LHMS, KOH e NaOH. Bases inorgânicas fracas como Cs₂CO₃, K₃PO₄ e K₂CO₃ trazem benefícios significativos quanto à tolerância a grupos funcionais contendo centros eletrofilicos. Em virtude da baixa solubilidade dessas bases inorgânicas em solventes orgânicos, acredita-se que a etapa de desprotonação aconteça na interface sólido-líquido e, desta forma, o tamanho, o formato das partículas, o modo e a velocidade de agitação são fatores que influenciam na velocidade e rendimentos das reações (DAMON et al., 2006; MEYERS et al., 2004; SURRY; BUCHWALD, 2011).

Além dos efeitos eletrônicos e estéricos, o ângulo de mordida (β_n) e ângulo de cone (θ) (Figura 13-A) dos ligantes de fosfina são importantes para compreender a influencia destes nas reações de Buchwald-Hartwig. Os ligantes bidentados, como BINAP **38**, formam um quelato com o centro metálico. A estrutura do ligante influencia diretamente no ângulo de mordida que será formado nesse quelado. Estudos mostram que ligantes com maiores ângulos de mordida favorecem a reação por aumentar a velocidade de dissociação do complexo na etapa final de eliminação redutiva (BIRKHOLZ (NÉE GENSOW); FREIXA; VAN LEEUWEN, 2009; KAMER; VAN LEEUWEN; REEK, 2001). Já o ângulo de cone está associado às propriedades estéricas do ligantes: quanto maior o volume estérico, maior será o ângulo de cone (Figura 13-A). Em geral, ligantes de fosfina com maiores ângulos de cone favorecem a etapa de adição oxidativa por formarem, majoritariamente, espécies cataliticamente ativas de paládio do tipo PdL₁ que é mais reativa que espécies de PdL₂ (L = ligante de fosfina). A etapa de eliminação redutiva também é favorecida por ligantes de fosfina com maior volume estérico, entretanto a

natureza eletrônica destes ligantes possuem maior influência nesta etapa que o ângulo de cone (FEY; ORPEN; HARVEY, 2009; FLECKENSTEIN; PLENIO, 2010).

O primeiro ligante utilizado por Kosugi, Kameyama e Migita nas reações de acoplamento cruzado catalisadas por paládio foi o P(*o*-tolyl)₃ **37** (Figura 13-B) em 1983 (KOSUGI; KAMEYAMA; MIGITA, 1983). Buchwald e Hartwig também utilizaram este mesmo ligante monodentado no início de seus trabalhos. Entretanto, a busca por novos ligantes capazes de melhorar as condições reacionais cresceu logo depois dos primeiros estudos. Wolfe, Wagaw e Buchwald estudaram a influência de ligantes bidentados como o BINAP **38** (Figura 13-B) em um sistema utilizando Pd₂(dba)₃ e concluíram que tais ligantes impediam a β-eliminação de hidreto, proporcionavam a monoarilação de aminas e anilinas primárias e aumentavam o rendimento das reações (WOLFE; WAGAW; BUCHWALD, 1996).

Buchwald desenvolveu uma rota sintética capaz de produzir facilmente diversos ligantes monodentados que possibilitou o estudo, aprimoramento e desenvolvimento da reação de Buchwald-Hartwig. Desses trabalhos surgiu uma série de novos ligantes monodentados de fosfina como: DavePhos **39**, XPhos **40**, BrettPhos **41** (Figura 13-B). Estes ligantes são todos estáveis em contato com o ar, de fácil manipulação e apresentam bons resultados em sistemas de Pd₂(dba)₃ e Pd(OAc)₂ para *N*-arilações utilizando aminas primárias e secundárias com diferentes haletos de arila, necessitando de baixa carga de catalisador (HUANG et al., 2003; KAYE et al., 2001; TOMORI; FOX; BUCHWALD, 2000).

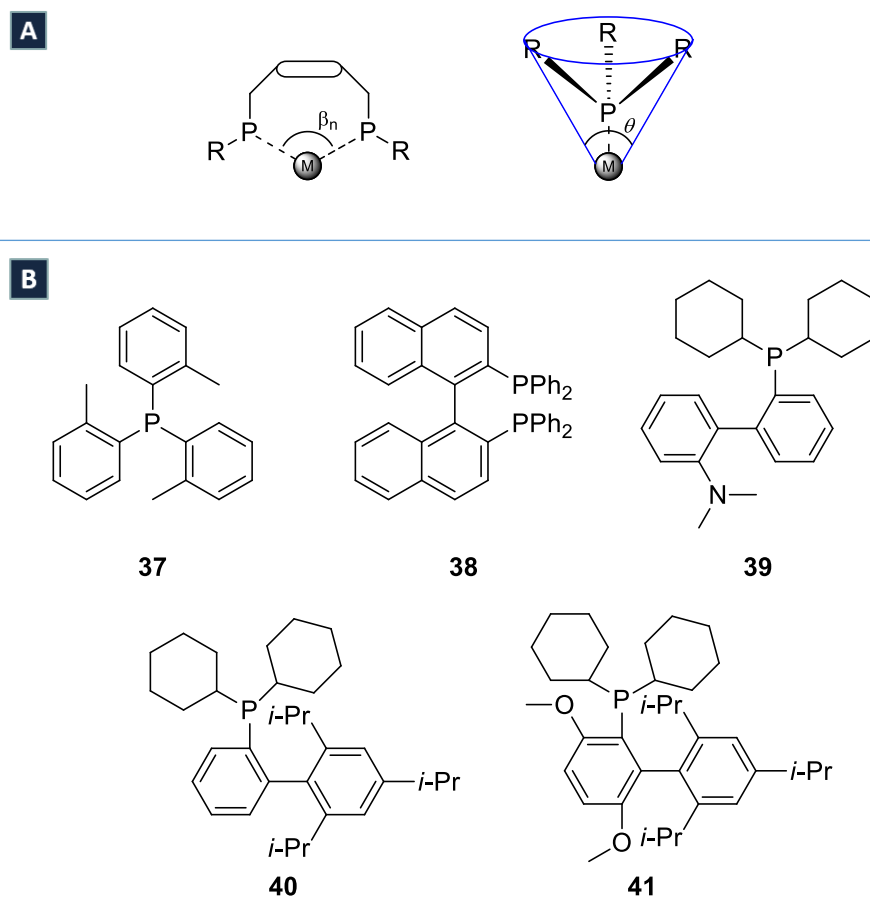


Figura 13: A – Representação esquemática do ângulo de mordida (β_n) e ângulo de cone (θ); B – Estrutura de alguns ligantes comerciais utilizados na reação de Buchwald-Hartwig.

1.5.2 A influência da fonte de paládio e solvente

A eficiência na formação do complexo de paládio cataliticamente ativo é um fator crucial na seleção das condições reacionais das *N*-arilações de Buchwald-Hartwig. Caso um sal de Pd^{II} seja usado, como o Pd(OAc)₂, a redução do Pd^{II} a Pd⁰ deve ocorrer antes da entrada do paládio no ciclo catalítico, descrito na Figura 37 da seção 3.7.1 na página 44. Em alguns casos a redução é acelerada pela adição de uma amina terciária e ácido fenilborônico (SURRY; BUCHWALD, 2011).

A etapa de redução do Pd^{II} para Pd⁰ pode ser evitada utilizando complexos de Pd⁰ como a fonte de paládio. A utilização de ligantes do tipo dialquilbilarilfosfina com Pd₂(dba)₃ ou Pd(dba)₂ oferecem um sistema altamente reativo de Pd⁰. Tais sistemas fornecem espécies tão reativas de paládio que permitem a *N*-arilação de anilinas com cloretos de arila utilizando cargas baixas de paládio em tempos reacionais curtos (LEE; BISCOE; BUCHWALD, 2009; MAITI et al., 2010).

Os solventes mais empregados nas reações de *N*-arilação de Buchwald-Hartwig são tolueno e 1,4-dioxano. O tolueno tem uma vantagem a mais quando utilizado iodetos de arila devido à baixa solubilidade dos sais de iodo formados durante a reação (FORS; DAVIS; BUCHWALD, 2009). Os solventes próticos como *t*-BuOH são apropriados quando se utiliza bases inorgânicas, por exemplo: K₃PO₄, K₂CO₃, Cs₂CO₃ ou KOH, acelerando a reação devido à solubilização da base. Solventes polares apróticos como DMF e DMSO têm sido utilizados com êxito em certas reações (BARLUENGA et al., 2007).

Por não ser tóxica, nem inflamável, a água vem sendo um solvente atrativo para esse tipo de reação. Devido à alta hidrofobicidade dos ligantes de fosfina convencionais, diversos grupos de pesquisa vêm trabalhando na síntese de ligantes mais solúveis em água com intuito de explorar este solvente (ANDERSON; BUCHWALD, 2005; SALOMÉ et al., 2014; WAGNER et al., 2014). Misturas entre água e solventes não polares formando um sistema bifásico podem resultar em melhores resultados em comparação com sistemas monofásicos (POONDRA; TURNER, 2005).

1.5.3 A influência do haleto de arila e a amina

A estrutura do eletrófilo tem grande importância na escolha das condições reacionais. Iodetos, brometos, cloretos e sulfonatos possuem diferentes propriedades e isso afeta diretamente a etapa de adição oxidativa no ciclo catalítico (Figura 37, seção 3.7.1, página 44). A presença de substituintes doadores de elétrons no anel ou a presença de heteroátomo no anel aceleram a etapa de eliminação redutiva e retardam a etapa de adição oxidativa (SURRY; BUCHWALD, 2011).

Os estudos iniciais de *N*-arilações catalisadas por paládio foram, predominantemente, realizados com brometos de arila, entretanto os cloretos de arila são substratos mais atraentes devido ao seu baixo custo e maior facilidade sintética. A descoberta de ligantes do tipo dialquilbifosfina como o DavePhos **39** (Figura 13) permitiu a utilização de cloretos de arila desativados em condições mais brandas (LITTKER; FU, 2002; SURRY; BUCHWALD, 2011).

Iodetos de arila são substratos eficientes em reações de acoplamento cruzado para formação de ligação C-C, no entanto, estudos mecanísticos mostraram que há formação de uma espécie não reativa de paládio com o ânion iodeto, prejudicando o andamento da reação. A utilização de tolueno como solvente é um recurso válido devido à baixa solubilidade dos sais

de iodo formados na reação, diminuindo a formação da espécie inativa de paládio (SURRY; BUCHWALD, 2011; WIDENHOEFER; BUCHWALD, 1996).

Pseudo-haletos como sulfonatos aromáticos e triflatos aromáticos também são substratos utilizados na reação de Buchwald-Hartwig. A fácil obtenção de sulfonatos a partir do fenol correspondente expande a gama de substratos disponíveis para a reação, entretanto, tais compostos são muito susceptíveis à hidrólise e à ação de bases fortes, então a utilização de peneira molecular e bases inorgânicas fracas são recomendadas nas reações que utilizam esses substratos (ÅHMAN; BUCHWALD, 1997; BARLUENGA et al., 2007).

A reação de Buchwald-Hartwig pode ser realizada com diversos nucleófilos: aminas alifáticas, anilinas, amidas e heterocíclis contendo NH. Os fatores mais importantes são o pKa dos compostos e suas propriedades estéricas que estão diretamente associadas às etapas do ciclo catalítico: ligação da amina, desprotonação e eliminação redutiva (SURRY; BUCHWALD, 2011).

BrettPhos **41** (Figura 13) é um ligante altamente seletivo para aminas primárias sendo capaz de promover *N*-arilações seletivas para aminas primárias na presença de aminas secundárias na proporção de 40:1. A seletividade desse ligante é muito útil na elaboração da rota sintética, não necessitando de etapas de proteção e desproteção de grupos amino. Outros ligantes derivados do BrettPhos **41** também são seletivos para monoarilações com proporção de 97:3 frente a diarilações com metilamina. Tais seletividades são importantes para construção de *N*-metilanilinas e aminas cíclicas *N*-ariladas, esqueletos frequentemente utilizados em agentes ativos no sistema nervoso central (FORS et al., 2008; NILSSON et al., 2001).

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é o planejamento, síntese e avaliação biológica de cinco séries de chalconas desenvolvidas como possíveis compostos anti-príon capazes de atuar como chaperona química na estabilização conformacional da isoforma não infectante PrP^C, impedindo a formação de PrP^{Sc}.

2.2 Objetivos específicos

i) Síntese de cinco séries de chalconas utilizando-se de técnicas clássicas como a condensação de Claisen-Schmidt e abordagens avançadas como reação de *N*-arilação de Buchwald-Hartwig;

ii) Investigação *in silico* por métodos teóricos de modelagem molecular do perfil de interação das séries com PrP¹²¹⁻²³¹;

iii) Avaliação *in vitro* da citotoxicidade em células N2a infectadas com príon;

iv) Avaliação *in vitro* anti-príon em células N2a infectadas com cepas de príon 22L e RML.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Escolha do protótipo

O planejamento estrutural dos novos derivados de chalconas da série A, B, C, D e E baseou-se nos relatos da literatura referentes aos resultados de atividade anti-príon do composto protótipo **J8**, uma chalcona capaz de reduzir os níveis intracelulares de príon em modelos *in vitro* (FERREIRA et al., 2014, 2017). Analisando o modo de interação entre **J8** e a PrP¹²¹⁻²³¹ (Figura 14) nota-se que próximo ao grupamento *N,N*-dimetil do protótipo estão presentes resíduos de aminoácidos polares: Arg156, Lys194 e Glu196, capazes de realizar interações fortes do tipo ligação hidrogênio e iônicas. Diante desta análise, foi proposto o desenvolvimento de cinco séries de chalconas (A, B, C, D e E) possuindo uma cadeia lateral ligada ao anel B com grupamentos capazes de realizar tais interações com os resíduos de Arg156, Lys194 e Glu196.

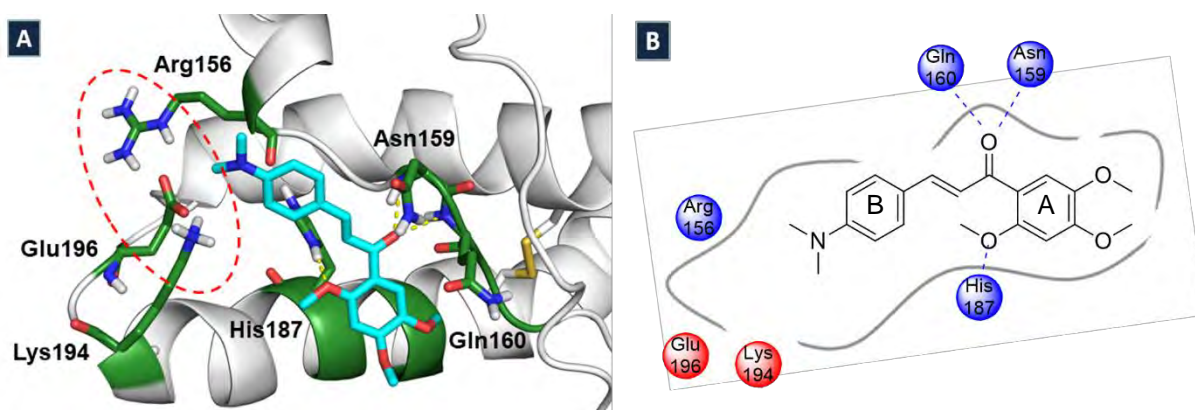


Figura 14: A – Simulação de *docking* molecular entre **J8** e PrP¹²¹⁻²³¹ (Adaptado de FERREIRA et al., 2017); B – Mapa farmacofórico 2D entre **J8** e PrP¹²¹⁻²³¹.

3.2 Planejamento estrutural e sintético da série A

Analisando o trabalho que descreve a síntese do protótipo **J8** (COSTA et al., 2014), observa-se que, dentre as vinte e nove chalconas sintetizadas, este é o único que possui uma subunidade *N*-arilada no anel B. Diante desta análise, foi planejada uma nova série de compostos análogos ao **J8**, substituindo o grupamento *N,N*-dimetil por diversas aminas cíclicas (Figura 15), com intuito de avaliar a influência de outros substituintes *N*-arilados na atividade

anti-príon das chalconas através da introdução de átomos capazes de realizar interações com os resíduos Arg156, Lys194 e Glu196.

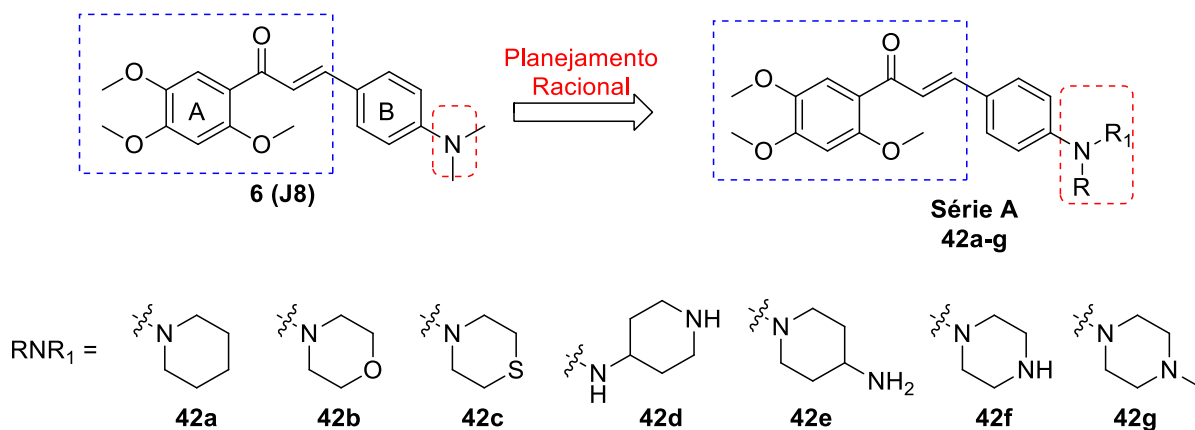


Figura 15: Planejamento estrutural da série A.

Através da rota sintética descrita para **J8**, a obtenção de um grande número de derivados *N*-arilados seria limitada, pois necessitaria de diversos aldeídos *N*-arilados comerciais ou previamente sintetizados para obtenção do núcleo das chalconas pela reação clássica de Claisen-Schmidt (FAROOQ; NGAINI, 2019). Visando contornar essa limitação sintética, fez-se uso da reação de acoplamento cruzado de Buchwald-Hartwig (BUSKES; BLANCO, 2020; RUIZ-CASTILLO; BUCHWALD, 2016) para a síntese dos compostos pretendidos. A reação de Buchwald-Hartwig é uma ótima ferramenta para obtenção de séries congêneres de compostos *N*-arilados a partir de um haleto de arila e aminas primárias ou secundárias, possibilitando assim a síntese de uma diversidade maior de derivados análogos ao **J8**.

A síntese das amino-chalconas da série **A** foram baseadas na análise retróssintética detalhada na Figura 16. Inicialmente, por meio da desconexão C-N, é possível identificar a 2,4,5-trimetoxi-4'-bromo-chalcona **43** e diversas aminas **35** como intermediários que, através da reação de Buchwald-Hartwig, levam a formação dos produtos finais **42a-g**. Em seguida, através da desconexão C=C, identifica-se a 2,4,5-trimetoxi-acetofenona **16a** e 4-bromo-benzaldeído **17a** como precursores comerciais de **43**, obtido pela reação de Claisen-Schmidt (FAROOQ; NGAINI, 2019).

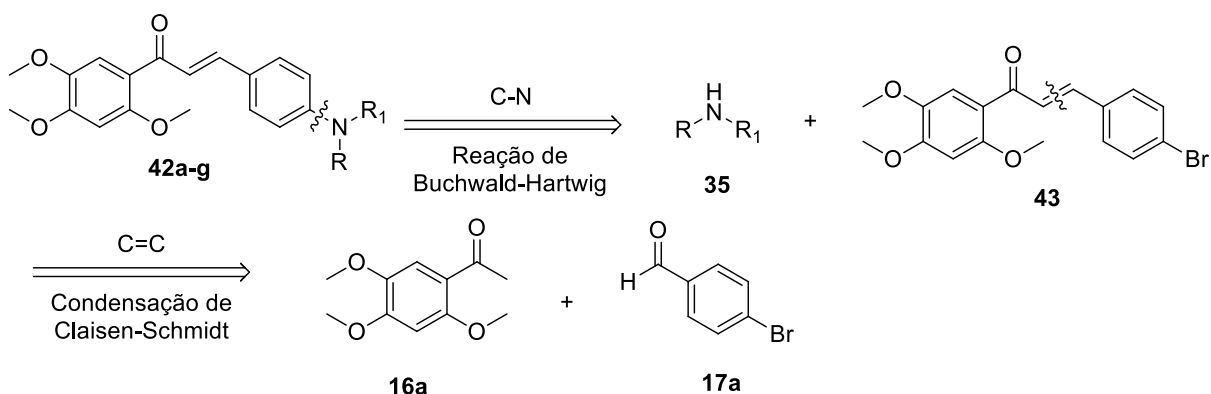


Figura 16: Análise retrossintética da série A.

3.3 Planejamento estrutural das séries B, C e D

O planejamento estrutural das séries B, C e D (Figura 17) consistiu na inserção de um grupamento ionizável (catiônico e aniônico) à cadeia lateral através do uso de um espaçador alifático ligado ao esqueleto da chalcona. Foram propostos a inclusão de grupos ionizáveis básicos e ácidos: os básicos (Série B e D) poderiam realizar interações iônicas com resíduo Glu196 presente no sítio de ligação da proteína priônica, enquanto os ácidos (Série C) interagiriam com os resíduos Arg156 e Lys194. A presença destes aminoácidos localizados tão próximos faz com que a região seja considerada um “*hot spot*”, uma região propensa a iniciar processos de nucleação e agregação proteica, e, diante disso, promover interações com estes resíduos pode conferir uma estabilização conformacional à proteína (ESPARGARÓ et al., 2015; KUWATA et al., 2007; MONSELLIER et al., 2008).

A escolha de uma cadeia alquílica de diferentes tamanhos teve como objetivo determinar a distância ótima necessária para realização das interações entre os grupos ionizáveis e os resíduos de aminoácidos Arg156, Lys194 e o Glu196. Como é possível observar na Figura 17, propôs-se também a troca bioisostérica do átomo de nitrogênio (presente em **J8**) pelo oxigênio (BARREIRO; FRAGA, 2014, p. 275) ligado direto ao anel B da chalcona nas séries B e C.

Como este planejamento procurou estabelecer novas interações de natureza iônica e ligação hidrogênio com resíduos da ponte salina (mais afastados da região de interação do anel contendo as três metoxilas), optou-se pela utilização da simplificação molecular (BARREIRO; FRAGA, 2014, p. 389) através da retirada das metoxilas, visando investigar a importância destas para atividade anti-prion dos novos derivados. Este planejamento visou a investigação da capacidade farmacofórica destes grupamentos ionizáveis ($Y = R_1NR_2$ na série B e $Y =$

COOH na série C), através da síntese dos derivados **44q-t** cujo $Y = H$. Desta forma, a comparação dos valores de atividade obtidos poderá confirmar a importância da interação polar para atividade anti-príon.

Por sua vez, através de uma reação via *N*-ariloxazolidin-2-ona é possível obter sinteticamente derivados *N*-aril-1,2-etilenodiaminas a partir de compostos análogos à anilina (MORITA et al., 2007). Essa metodologia sintética é extremamente útil, mas limita-se à síntese de derivados 1,2-etilenodiaminas e, diante dessa limitação, foi proposta a série D ($X = NH$ e $Y = R_1NR_2$) com $n = 1$.

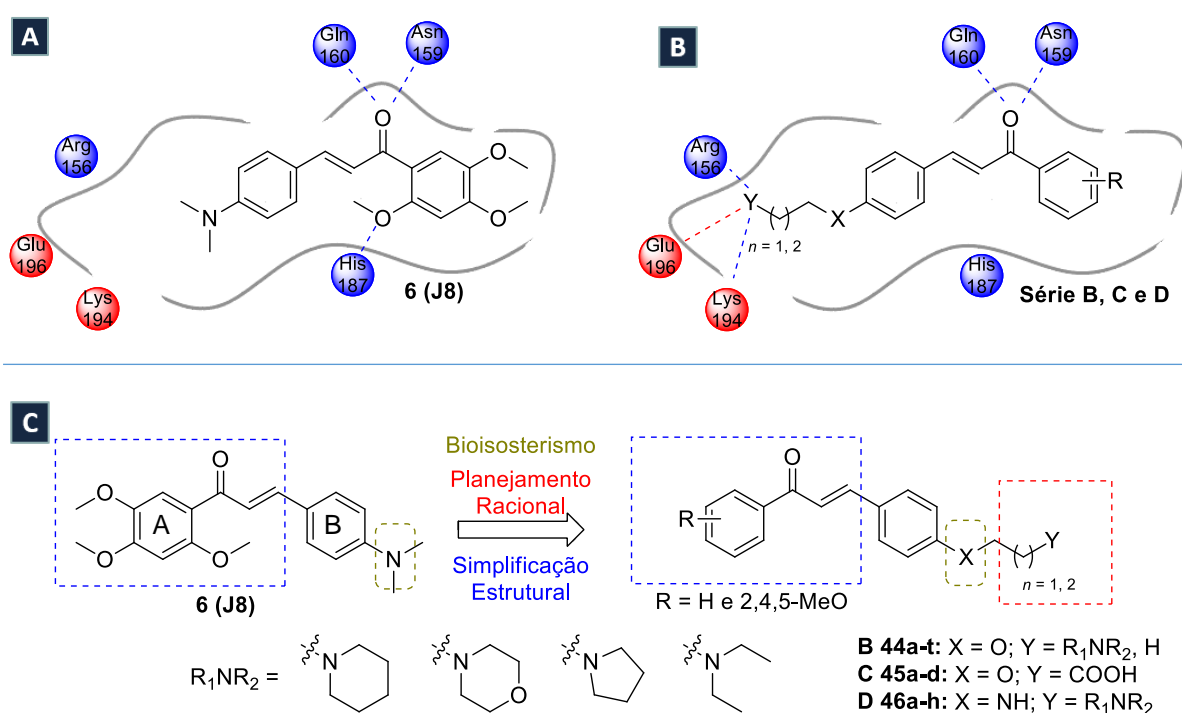


Figura 17: A – Mapa farmacofórico das interações entre **J8** e PrP¹²¹⁻²³¹; B – Mapa farmacofórico das interações pretendidas entre as chalconas das séries B, C e D e PrP¹²¹⁻²³¹; C – Planejamento estrutural da série B, C e D.

3.4 Planejamento sintético das séries B, C e D

A rota sintética planejada para série B foi baseada na análise retrossintética detalhada na Figura 18 e inicia-se pela desconexão C-N fornecendo como intermediários as aminas **35** e as chalconas-*O*-alquiladas **47a-d** e **44q-t**. Por sua vez, através de uma desconexão C=C identifica-se como intermediários as acetofenonas comerciais **16a-b** ($R = H$ e $R = 2,4,5$ -trimetoxila) e os benzaldeídos-*O*-alquilados **48a-b** e **49a-b**. Por fim, pela desconexão C-O

identifica-se como precursores estruturais da série: o 4-hidroxi-benzaldeído **17b**, os dibromo-alcanos **50a-b** e os bromo-alcanos **51a-b**.

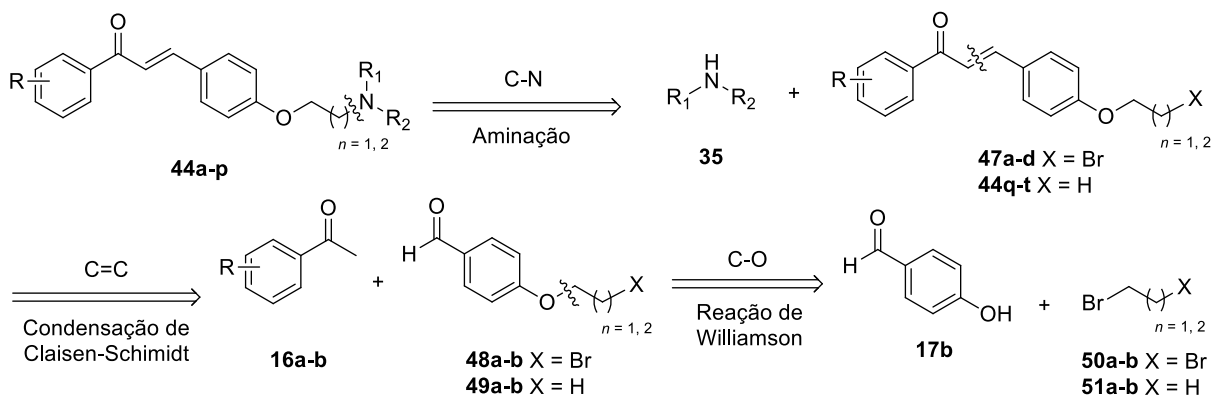


Figura 18: Análise retrossintética da série B.

A rota sintética para série C foi baseada na análise retrossintética representada na Figura 19. Inicialmente pode-se identificar, através da desconexão C=C, as acetofenonas **16a-b** (R = H e R = 2,4,5-trimetoxila) comerciais e o 4-alcoxiéster-benzaldeído **52a-b** como intermediários que, por sua vez, pela desconexão C-O, fornece os precursores comerciais 4-hidroxi-benzaldeído **17b** e os bromo-alkil-ésteres **53a-b**.

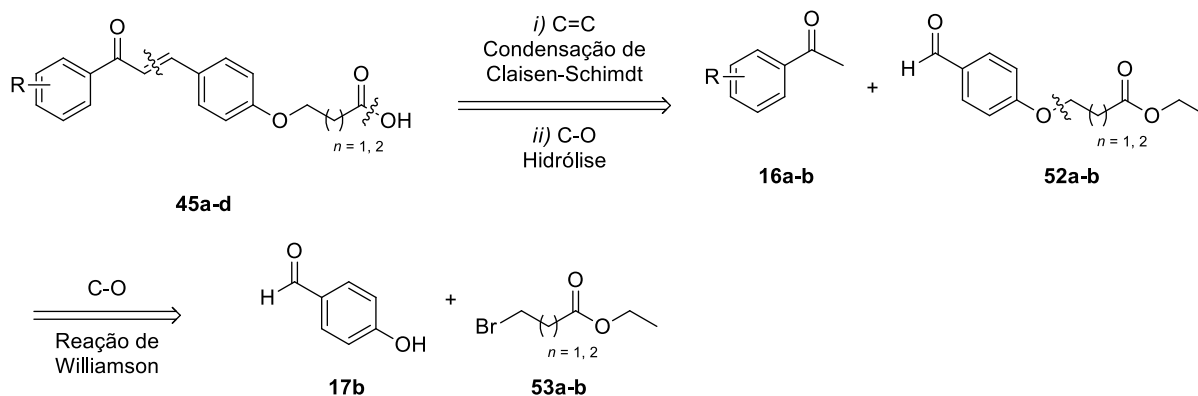


Figura 19: Análise retrossintética da série C.

Diante da possível dificuldade sintética para realizar reações de *N*-alquilação em compostos análogos à anilina (JUARISTI; DANIEL REYNA, 1984) e baseando-se na reação descrita por Morita e colaboradores (MORITA et al., 2007), a rota sintética da série D foi planejada de acordo com a análise retrossintética representada na Figura 20. Inicialmente, pela desconexão C-N, obtém-se diversas aminas comerciais **35** e chalcona-*N*-oxazolidin-2-ona **54a-**

b como intermediários. Posteriormente, através de duas desconexões C-N, identifica-se o cloroformiato de cloreto comercial **55** e as amino-chalconas **56a-b** como intermediários. As amino-chalconas **56a-b**, através de uma interconversão de grupo funcional, fornece as nitro-chalconas **57a-b** como precursoras. Por fim, uma desconexão C=C, identifica-se as acetofenonas **16a-b** (R = H e R = 2,4,5-trimetoxila) e 4-nitro-benzaldeído **17c** como precursores comerciais.

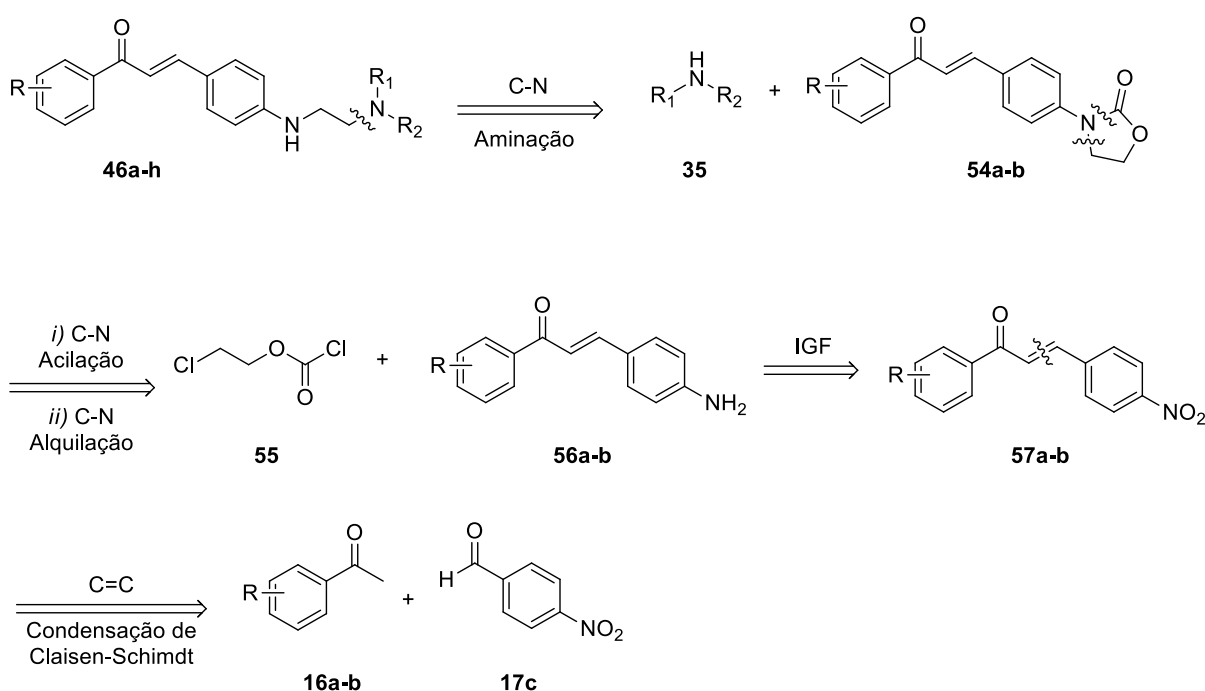


Figura 20: Análise retróssintética da série D.

3.5 Planejamento estrutural e sintético da série E

Kuwata e colaboradores (KUWATA et al., 2007) descreveram um composto (**GN8**) com atividade anti-príon capaz de interagir com os resíduos de aminoácidos Lys194 e Glu196 e, com objetivo de realizar as interações com estes mesmos resíduos, utilizou-se a técnica de hibridação molecular (BARREIRO; FRAGA, 2014, p. 343) para propor uma série híbrida **59a-d** (Série E) (Figura 21). O ponto escolhido para a união das estruturas dos protótipos foi o anel B, uma fenila *N*-arilada em ambas os protótipos. Adicionalmente, além da utilização da subunidade pirrolidina do **GN8**, será explorada também a inserção de outras aminas ($Y = R_1NR_2$), juntamente com sua supressão ($Y = H$).

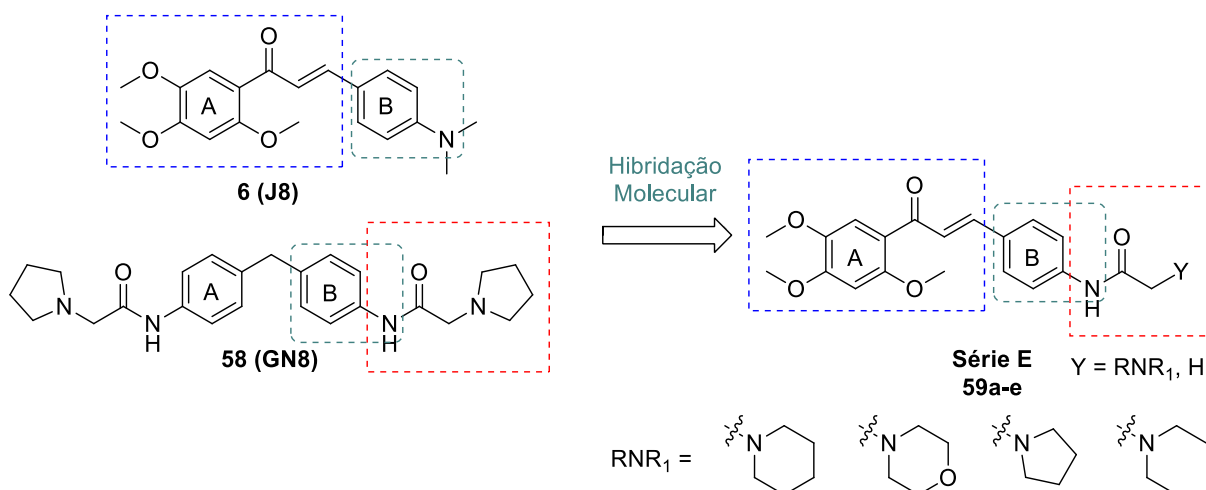


Figura 21: Planejamento estrutural da série E.

A rota sintética da série E foi planejada através da análise retrossintética representada na Figura 22. A retrossíntese inicia-se pela desconexão C-N na qual é possível identificar as diversas aminas comerciais **35** e as acetamida-chalconas **60** e **59e**. Seguindo a análise, a desconexão C-N fornece o brometo de bromo acetila comercial **61** ou o cloreto de acetila **62** juntamente com a amino-chalcona **56a** como intermediários. A amino-chalcona **56a**, através de uma interconversão de grupo funcional, fornece a nitro-chalcona **57a** como precursora. Por fim, pela desconexão C=C identifica-se a 2,4,5-trimetoxi-acetofenona **16a** e o 4-nitro-benzaldeído **17c** como precursores comerciais da série.

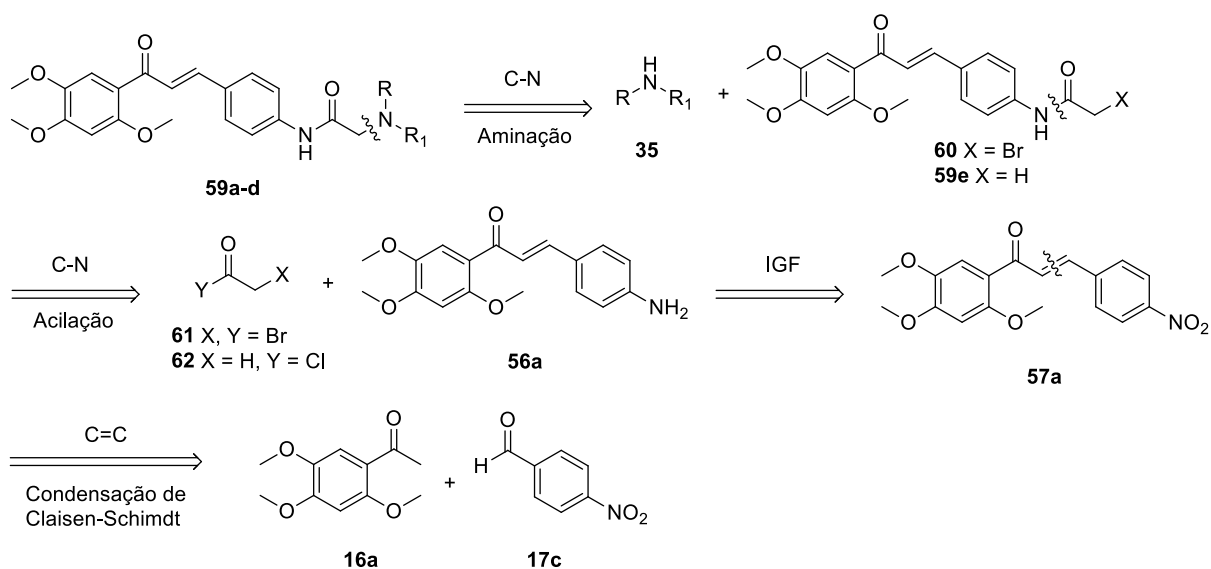


Figura 22: Análise retrossintética da série E.

3.6 Síntese dos intermediários

3.6.1 Síntese dos intermediários benzaldeídos-*O*-alquilados

Os benzaldeídos-*O*-alquilados **48a** e **52b** foram obtidos através da reação de alquilação tipo S_N2 (Figura 23) entre o 4-hidroxi-benzaldeído **17c** e os agentes alquilantes **50a** e **53b** (1,2-dibromo-etano para o intermediário da série B e 4-bromo-butirato de etila para o intermediário da série C) na presença de carbonato de potássio em acetonitrila sob refluxo durante 12 horas (KONKEN et al., 2018; WANG et al., 2019), obtendo-se, ao final da reação, os produtos alquilados cujos rendimentos estão na Tabela 1.

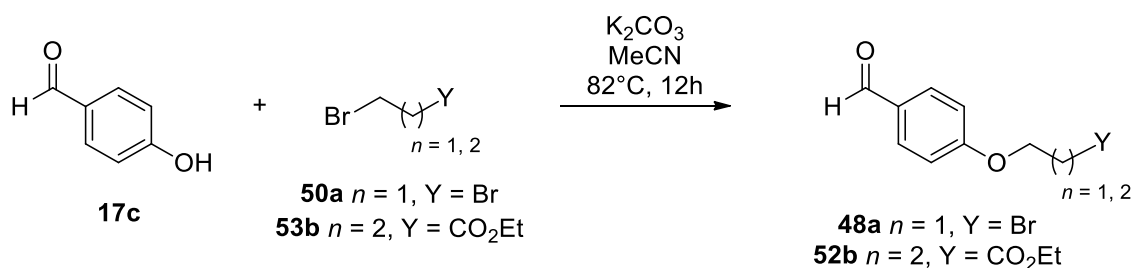


Figura 23: Reação para obtenção dos intermediários benzaldeídos-*O*-alquilados.

Tabela 1: Rendimentos da reação para obtenção dos benzaldeídos-*O*-alquilados.

Composto	<i>n</i>	Rendimento (%)
48a	1	96
52b	2	80

O mecanismo proposto (Figura 24) inicia-se pela abstração do hidrogênio fenólico do 4-hidroxi-benzaldeído **17c** pelo íon carbonato, formando o íon fenóxido (*i*) correspondente, nucleófilo da reação. Em seguida ocorre o ataque nucleofílico ao carbono ligado ao bromo do respectivo dibromo-alcano **50a-b** ou bromo-alkil-éster **53a-b** passando pelo estado de transição (*ii*) onde há a formação da ligação O-C paralelamente à clivagem da ligação C-Br. Conseqüentemente, há a liberação do íon brometo e a formação do composto alquilado desejado (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).

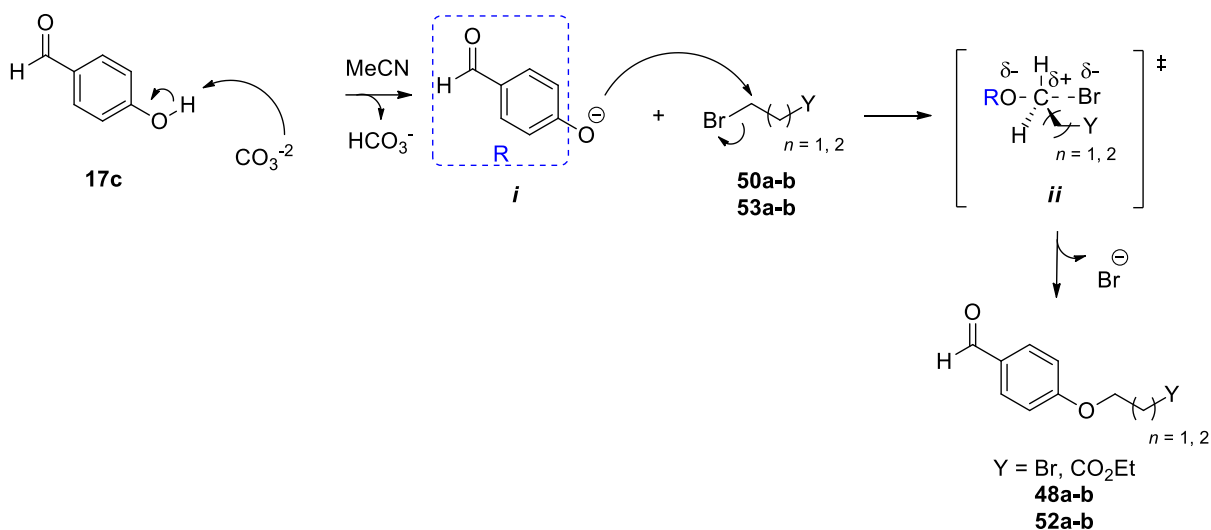


Figura 24: Esquema de intermediários para síntese dos benzaldeídos-*O*-alquilados (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).

A caracterização espectroscópica por RMN ^1H e ^{13}C dos derivados **48a** e **52b** não foi realizada, porém as características físicas dos derivados estão de acordo com a literatura (P.F. **48a** = 57-59°C e **52b** = óleo amarelado) (NAGARAPU et al., 2009; WANG et al., 2019), além das análises de RMN ^1H e ^{13}C dos produtos subsequentes (**47a**, **47c** e **45b**) que corroboram a obtenção dos benzaldeídos-*O*-alquilados.

3.6.2 Síntese das chalconas intermediárias das séries A, B, D e E

A síntese das chalconas intermediárias foi realizada a partir da condensação de Claisen-Schmidt (FAROOQ; NGAINI, 2019) (Figura 25) em meio básico de hidróxido de sódio 30% entre as acetofenonas **16a-b** ($\text{R} = \text{H}$ e $\text{R} = 2,4,5$ -trimetoxila) e os benzaldeídos **17a**, **17c** e **48a**, fornecendo as chalconas intermediárias ao final da reação na forma de um sólido amarelo cujos rendimentos estão representados na Tabela 2 (BELLO et al., 2011).

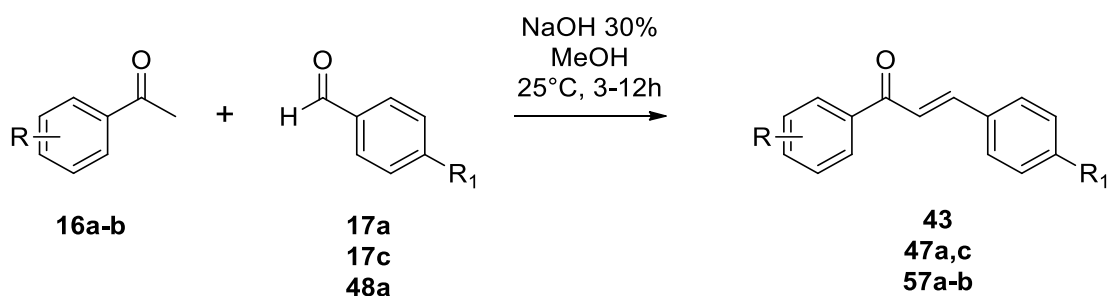


Figura 25: Reação para obtenção das chalconas intermediárias.

Tabela 2: Rendimentos da reação para obtenção das chalconas intermediárias.

Composto	R	R ₁	Tempo	Rendimento (%)
43	2,4,5-MeO	-Br	3 horas	85
47a	2,4,5-MeO	-O-(CH ₂) ₂ -Br	12 horas	91
47c	H	-O-(CH ₂) ₂ -Br	12 horas	88
57a	2,4,5-MeO	-NO ₂	3 horas	84
57b	H	-NO ₂	3 horas	80

O mecanismo para formação das chalconas intermediárias **43**, **47a,c** e **57a-b** (Figura 26) passa, primeiramente, pela abstração do hidrogênio ácido localizado na posição alfa à carbonila das acetofenonas **16a-b** pelo íon hidróxido, levando a formação do respectivo carbânion (*i*) que é estabilizado por ressonância gerando o enolato correspondente (Figura 26-A). Após a formação do enolato (*i*), ocorre o ataque nucleofílico dos elétrons da ligação dupla ao centro eletrofílico localizado no carbono da carbonila dos benzaldeídos **17a**, **17b** e **48a**, formando assim o intermediário tetraédrico (*ii*). Este, por sua vez, é protonado gerando o álcool secundário correspondente (*iii*) e a liberação de íon hidróxido. Posteriormente há uma segunda abstração do hidrogênio alfa à carbonila formando o enolato correspondente (*iv*). Por fim, ocorre a eliminação da hidroxila através do mecanismo E1cB (ÁLVAREZ et al., 2019; CHANG, 2015; CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 619) no qual os elétrons localizados no oxigênio de (*iv*) reestabelecem a ligação dupla da carbonila, a ligação dupla entre os carbonos 1 e 2 migra para os carbonos 2 e 3, levando a eliminação da hidroxila, gerando as chalconas **43**, **47a,c** e **57a-b** desejadas na configuração *E*, que é a termodinamicamente mais estável (Figura 26-B).

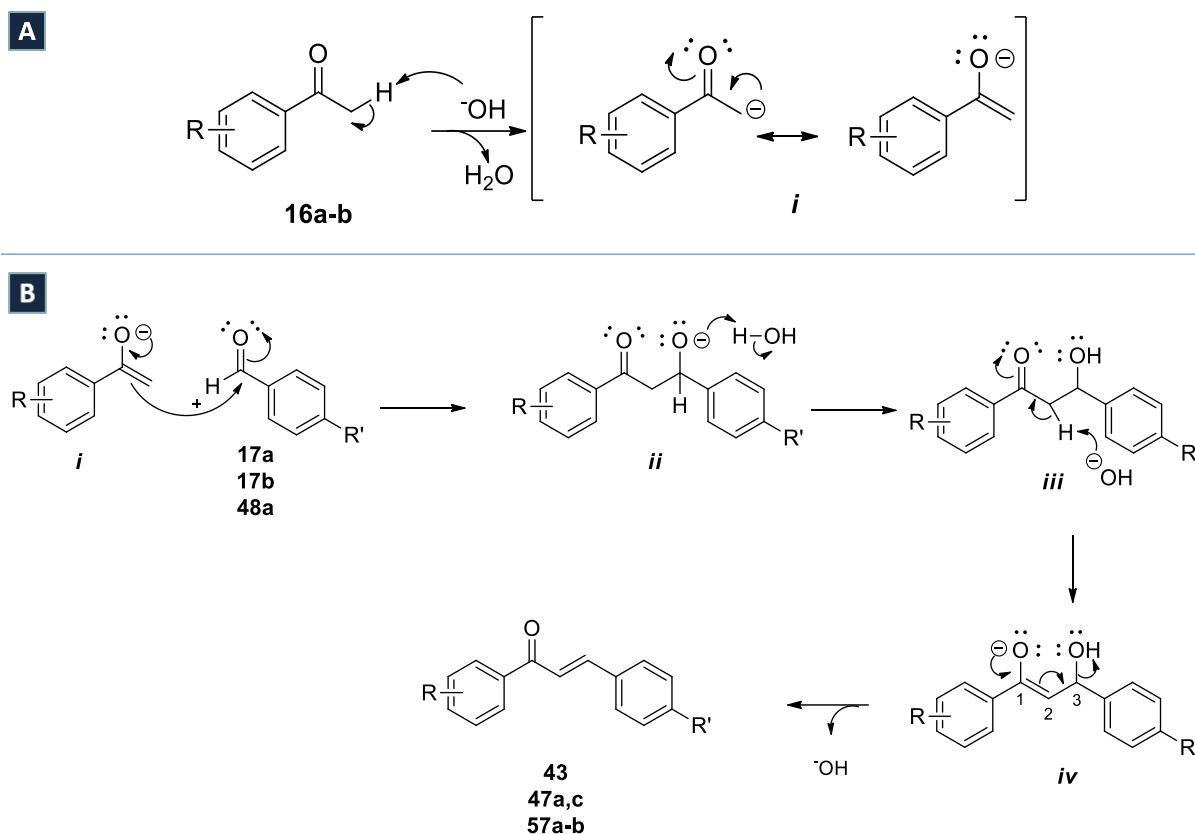


Figura 26: Esquema de intermediário proposto para síntese das chalconas: A – Formação do íon enolato; B – Reação de Claisen-Schmidt (Adaptado de ÁLVAREZ et al., 2019; CHANG, 2015; CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 619).

Os compostos foram isolados através da filtração a vácuo do precipitado formado no meio reacional e não passaram por procedimento de purificação posterior devido ao alto grau de pureza obtido pela precipitação *in situ*. Essa pureza orgânica dos compostos obtidos pôde ser observada qualitativamente pelas expansões dos espectros presentes nas Figuras 27-30 (páginas 34-37), além dos espectros completos em anexo (Anexos 1, 3-6).

3.6.2.1 Caracterização espectroscópica da bromo-chalcona (43)

Para confirmar a formação da bromo-chalcona **43** foram realizados experimentos de determinação estrutural como RMN ^1H e RMN ^{13}C (Anexo 1) e alguns sinais característicos possibilitaram a confirmação do composto formado. A condensação entre a 2,4,5-trimetoxi-acetofenona **16a** e o 4-bromo-benzaldeído **17a** foi constatada pelo aparecimento dos sinais oriundos de ambos os reagentes, como a presença de três simpletos referente às metoxilas em 3,75, 3,90, 3,93 ppm, todos com integração para 3 hidrogênios, além dos sinais em 6,80 e 7,21 ppm na forma de simpletos com integração para um hidrogênio referentes aos H_6 e H_3 ,

respectivamente. Os sinais provenientes do 4-bromo-benzaldeído **17a** não se apresentaram de forma clara no espectro de RMN ^1H , pois os dupletos padrões em anéis aromáticos *para* substituídos e um dos sinais referentes aos hidrogênios da ligação dupla coalesceram na região de 7,62-7,70 ppm, sendo observado somente o sinal referente ao H₈ em 7,53 ppm na forma de um duplete com $J = 15,8$ Hz característico de acoplamento em sistema de ligação dupla com configuração *E* (Figura 27) (COSTA et al., 2014; PAVIA et al., 2010, p. 262–263). Por outro lado, no espectro de RMN ^{13}C todos os sinais são nítidos e distintos, onde foi possível observar em 56,7, 56,0 e 55,9 ppm os sinais relativos às metoxilas, em 188,5 ppm o carbono quaternário da carbonila e a presença dos sinais entre as metoxilas C₃ e C₆ em 112,6 e 97,9 ppm, respectivamente (COSTA et al., 2014). Os sinais referentes ao anel bromado encontram-se em 131,9 e 130,2 ppm com intensidade maior que os demais, configurando assim um sinal relativo a dois carbonos em mesmo ambiente químico. Por fim, a condensação das moléculas foi constatada com a presença dos sinais dos carbonos sp^2 que compõem a ligação dupla: C₉ = 139,5 ppm e C₈ = 127,9 ppm.

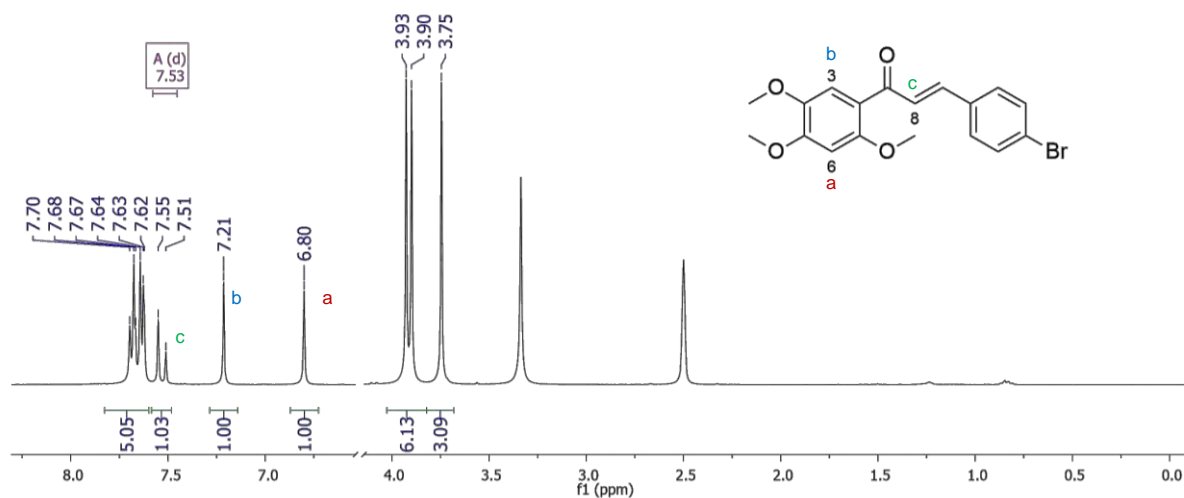


Figura 27: Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) de **43**. A região de 4,05-6,55 ppm foi suprimida.

3.6.2.2 Caracterização espectroscópica da bromo-alkil-chalcona (**47a**)

Nesta caracterização foi utilizado o composto **47a** como exemplo representativo. Analisando a região de campo alto do espectro de RMN ^1H obtido para este composto (Figura 28) é possível observar os sinais referentes à cadeia carbônica alifática e às metoxilas. Em 3,66 ppm encontra-se o sinal referente ao H₂₀ com integração para dois hidrogênios e $J = 6,2$ Hz,

cuja constante de acoplamento condiz com os valores da literatura para acoplamento de cadeia alifática similares (DE SOUZA et al., 2019; GAN et al., 2017). O sinal referente ao H₁₉ aparece em 4,34 ppm, também com integração para dois hidrogênios e $J = 6,2$ Hz, caracterizando que são sinais referente aos metilenos vizinhos proveniente do benzaldeido-*O*-alquilado **48a** (DE SOUZA et al., 2019; GAN et al., 2017), confirmando, desta forma, a síntese deste intermediário. Como nos demais compostos, os sinais das três metoxilas encontram-se em 3,90, 3,93 e 3,97 ppm, referentes aos H₁₆, H₁₇ e H₁₈, respectivamente.

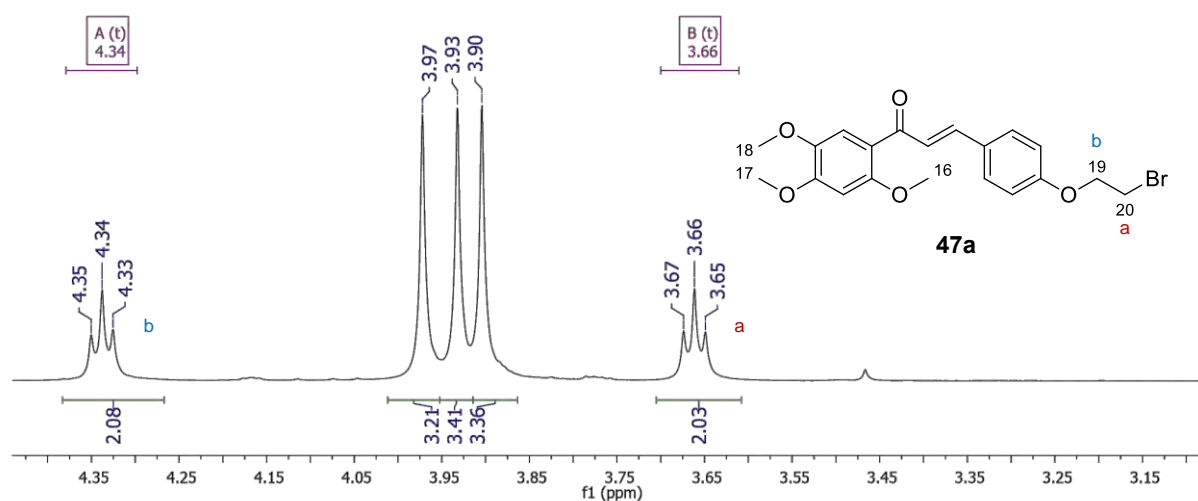


Figura 28: Expansão do espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) obtido para o composto **47a** de 3,0 a 4,4 ppm.

Analisando o espectro de RMN ¹³C obtido para o composto **47a**, nota-se que os sinais do esqueleto da chalcona tiveram pouca variação nos valores de deslocamento químico comparado com as outras chalconas obtidas. A confirmação da síntese da chalcona pode ser evidenciada pela presença dos sinais referentes à ligação dupla em 125,5 ppm para C₈ e 141,7 ppm para o C₉. Além da presença de dois sinais em fase de CH₂ referente aos dois metilenos da cadeia alifática espaçadora em 28,9 e 68,0 ppm, C₂₀ e C₁₉ respectivamente (Figura 29) (GAN et al., 2017).

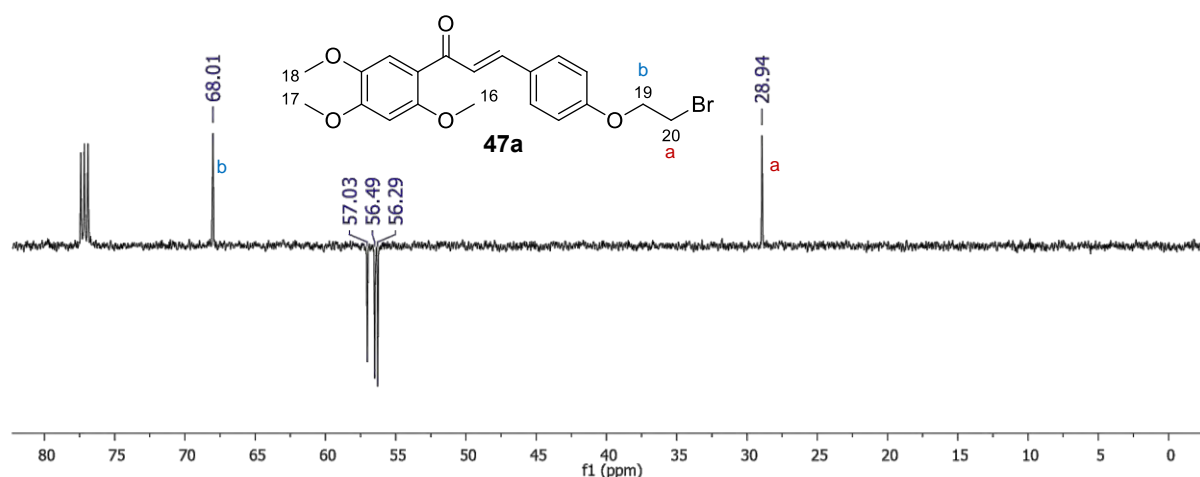
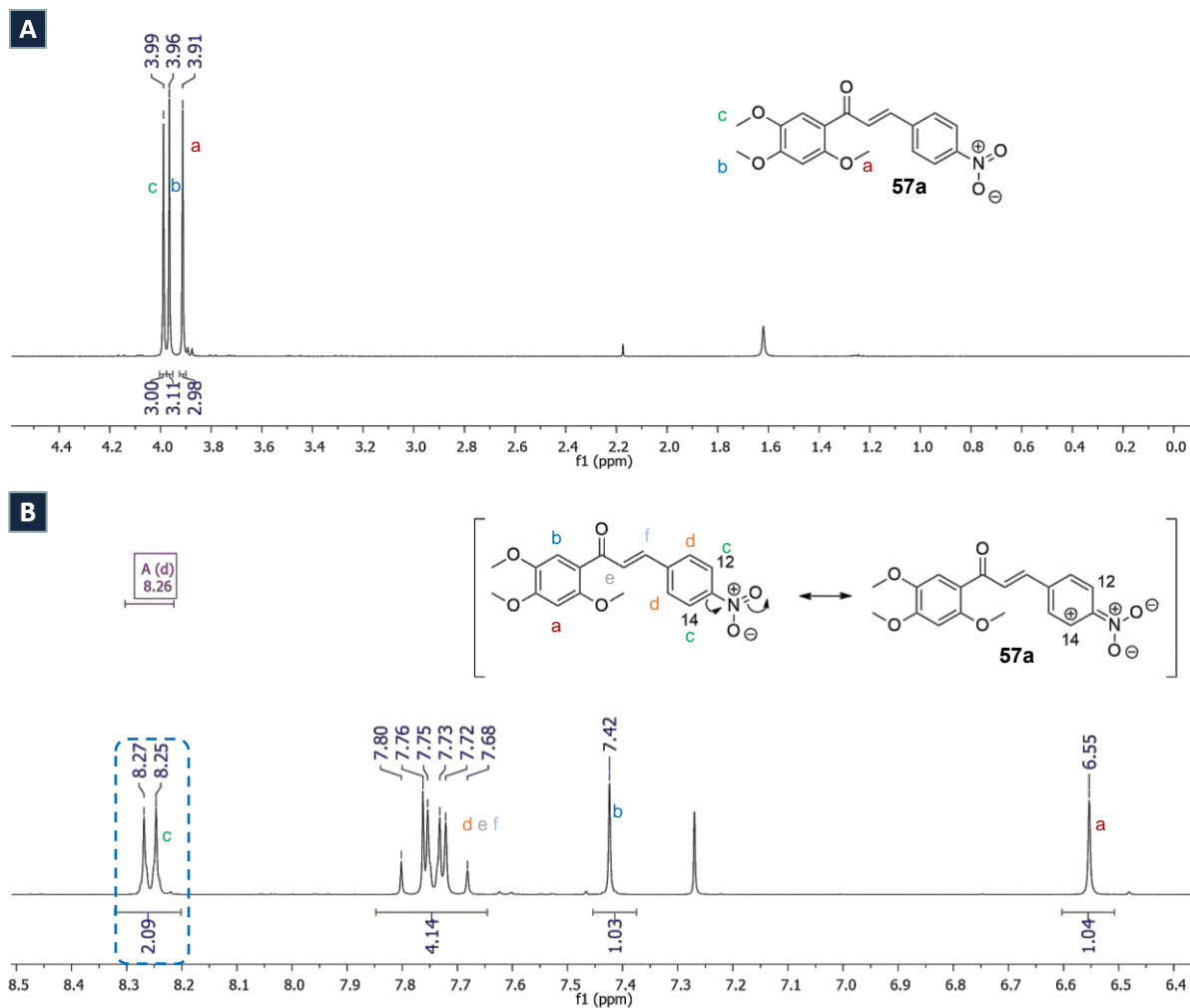


Figura 29: Expansão do espectro de RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz) do derivado **47a** de 0 a 80 ppm.

3.6.2.3 Caracterização espectroscópica da nitro-chalcona (**57a**)

Analisando o espectro de RMN ¹H obtido para o composto **57a** é possível observar, em campo alto, os sinais referentes às metoxilas em 3,91, 3,96 e 3,99 ppm (Figura 30-A), condizente com os demais valores de deslocamento químico obtidos para as metoxilas nos derivados sintetizados anteriormente.

Devido ao efeito altamente retirador de elétrons associado ao grupo nitro presente na posição 4' da chalcona, os sinais em campo baixo se apresentaram de forma totalmente diferente dos valores observados anteriormente. É possível observar que os sinais referentes aos H_{12, 14} aparecem na forma de um duplete com $J = 8,8$ Hz em 8,26 ppm, tal deslocamento químico é justificado pelo híbrido de ressonância representada na Figura 30-B, cujo efeito retirador de elétrons por ressonância do grupo nitro gera uma carga positiva nos carbonos que sustentam os H_{12, 14} (DAS et al., 2020). Os sinais referentes aos demais hidrogênios presentes no anel B da chalcona e aos hidrogênios ligados aos carbonos sp² da ligação dupla da enona coalesceram na região de 7,68-7,80 ppm, deslocados para campo mais baixo quando comparados com os mesmos sinais referentes aos intermediários descritos anteriormente. Por sua vez, os sinais referentes ao hidrogênio presentes no anel A, que praticamente não sofrem interferência do efeito do grupo nitro, aparecem em 6,55 e 7,42 ppm, valores muito próximos aos observados no intermediário bromo-alkil-chalcona **47a**, que contém um átomo doador de elétron na posição 4'.



3.6.3 Síntese das amino-chalconas

As amino-chalconas **56a-b** foram obtidas através da redução das nitro-chalconas **57a-b** na presença de ferro em pó e cloreto de amônio em uma mistura de etanol:água à 80°C por aproximadamente uma hora (Figura 31) (FONSÊCA, 2012), fornecendo, ao término da reação, os produtos reduzidos na forma de um sólido amarelo cujos rendimentos estão representados na Tabela 3.

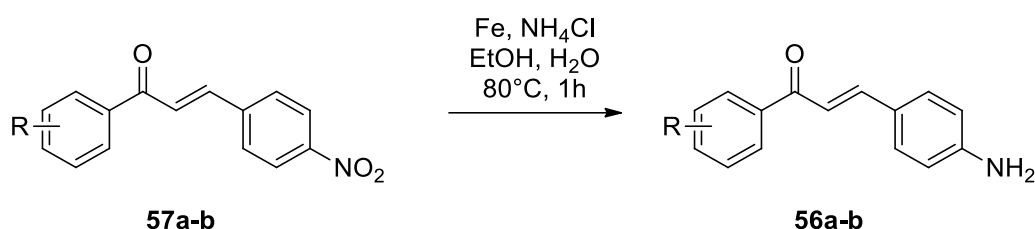


Figura 31: Reação de redução de Bechamp na obtenção das amino-chalconas **56a-b**.

Tabela 3: Rendimentos da reação de obtenção das amino-chalconas intermediárias.

Composto	R	Rendimento (%)
56a	2,4,5-MeO	90
56b	H	96

O mecanismo proposto (Figura 32) para síntese das amino-chalconas **56a-b** (Redução de Bechamp) se inicia pela transferência de dois elétrons da espécie metálica para a nitro-chalcona **57a-b** juntamente com a abstração de dois prótons presentes no meio reacional formando o intermediário (*i*). O intermediário (*i*), por sua vez, sofre uma desidratação e forma o intermediário nitrosobenzênio (*ii*). Os pares de elétrons não ligantes presente no nitrosobenzênio (*ii*) atuam abstraindo um próton do meio levando a formação da espécie (*iii*). O Fe^0 transfere dois elétrons para o intermediário (*iii*) seguido da abstração de mais um próton, gerando o intermediário hidroxilamina (*iv*). A hidroxilamina (*iv*) é protonada formando o intermediário (*v*) que, em seguida, sofre uma desidratação juntamente com a transferência de dois elétrons da espécie metálica, gerando o sal de amônio (*vi*). A finalização se dá através da etapa de neutralização no meio formando, ao final, o produto reduzido **56a-b** desejado (WANG, 2009, p. 284–287).

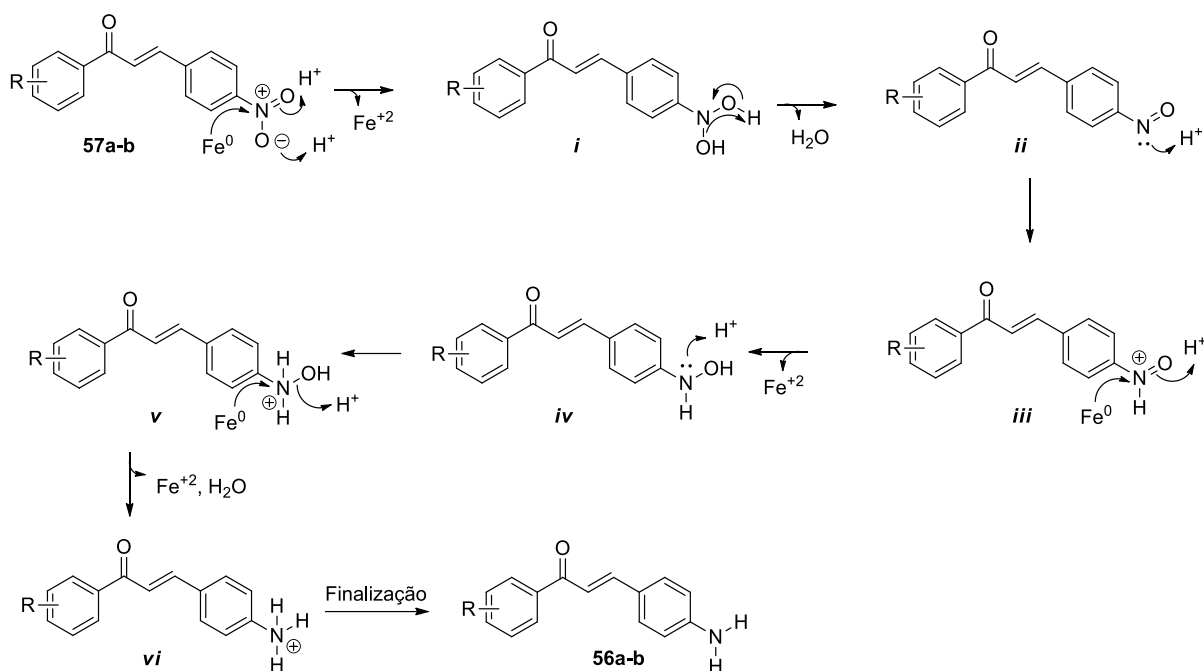


Figura 32: Esquema de intermediários para síntese das amino-chalconas **56a-b** (Adaptado de WANG, 2009, p. 284–287).

3.6.3.1 Caracterização espectroscópica da amino-chalcona (56a)

Analisando o espectro de RMN ^1H obtido para a amino-chalcona **56a**, como representante da série, apesar de não ser possível observar os sinais referentes aos hidrogênios ligados ao heteroátomo, nota-se alguns sinais característicos da estrutura proposta. O mais nítido e importante sinal é referente aos hidrogênios *orto* ao grupamento amino, $\text{H}_{12, 14}$. Estes hidrogênios, no reagente, por estarem *orto* ao grupamento nitro, altamente retirador de elétrons por efeito indutivo e ressonância, aparecem em uma região de campo mais baixo, em 8,26 ppm na forma de um duplete com integração para dois hidrogênios (DAS et al., 2020). Por sua vez, no produto formado, estes hidrogênios são mais blindados devido à presença do grupo amino, doador de elétrons por ressonância, fazendo com que, agora, os sinais se apresentem em uma região mais protegida, em 6,67 ppm, também na forma de um duplete com integração para dois hidrogênios (SHARMA et al., 2014). Nota-se também que, devido à presença de um grupo ativador na posição 4' da chalcona, houve uma melhor separação dos demais sinais na região de 7,4-7,7 ppm, havendo sobreposição apenas dos sinais referentes ao H_8 e $\text{H}_{11, 15}$, sendo possível observar agora o duplete com integração para um hidrogênio e $J = 15,7$ Hz em 7,66 ppm referente ao H_9 (Figura 33).

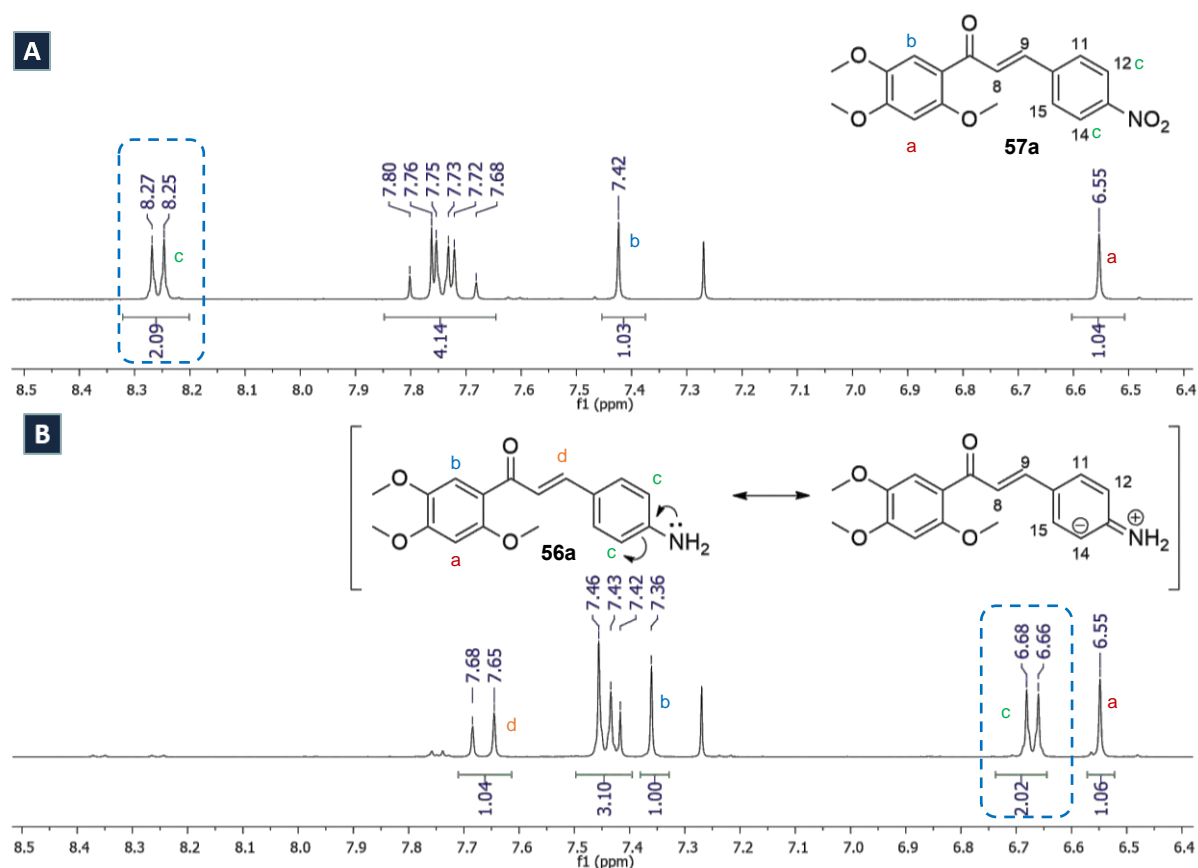


Figura 33: A - Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da nitro-chalcona **57a** de 6,4-8,5 ppm, cujo sinal do $\text{H}_{12, 14}$ encontra-se marcado em azul. B - Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) da amino-chalcona **56a** de 6,4-8,5 ppm e híbrido de ressonância que justifica o deslocamento químico de $\text{H}_{12, 14}$, cujo sinal encontra-se marcado em azul.

3.6.4 Síntese da α -bromo-acetamida-chalcona (**60**)

A α -bromo-acetamida-chalcona **60** foi obtida através de uma reação do tipo $\text{S}_{\text{N}}\text{Ac}$ entre a amino-chalcona **56a** e o brometo de bromo-acetila **61** na presença de piridina e DMAP **63** em diclorometano à temperatura ambiente durante uma hora (Figura 34) (KIMURA et al., 2011). Ao término da reação, o produto foi obtido na forma de um sólido amarelo com 83% de rendimento.

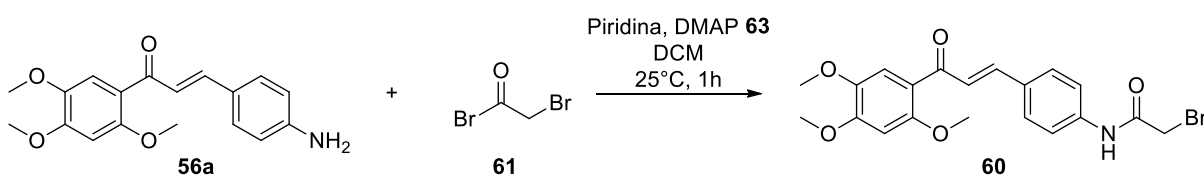


Figura 34: Reação de obtenção das α -bromo-acetamida-chalcona **60**.

O mecanismo proposto se inicia pela ativação do eletrófilo pela DMAP **63** (Figura 35-A). Posteriormente ocorre o ataque nucleofílico dos pares de elétrons não ligantes do nitrogênio da amino-chalcona **56a** ao centro eletrofílico presente no carbono da carboxila do eletrófilo ativado (*ii*), levando a formação do intermediário tetraédrico (*iii*). Nesta etapa a piridina **64** atua abstraindo o hidrogênio ligado ao nitrogênio, estabilizando a carga positiva, que leva a formação do intermediário (*iv*). Os pares de elétrons do oxigênio reestabelecem a ligação dupla da carboxila e leva a eliminação do DMAP **63** formando, desta forma, a α -bromo-acetamida-chalcona **60** desejada.

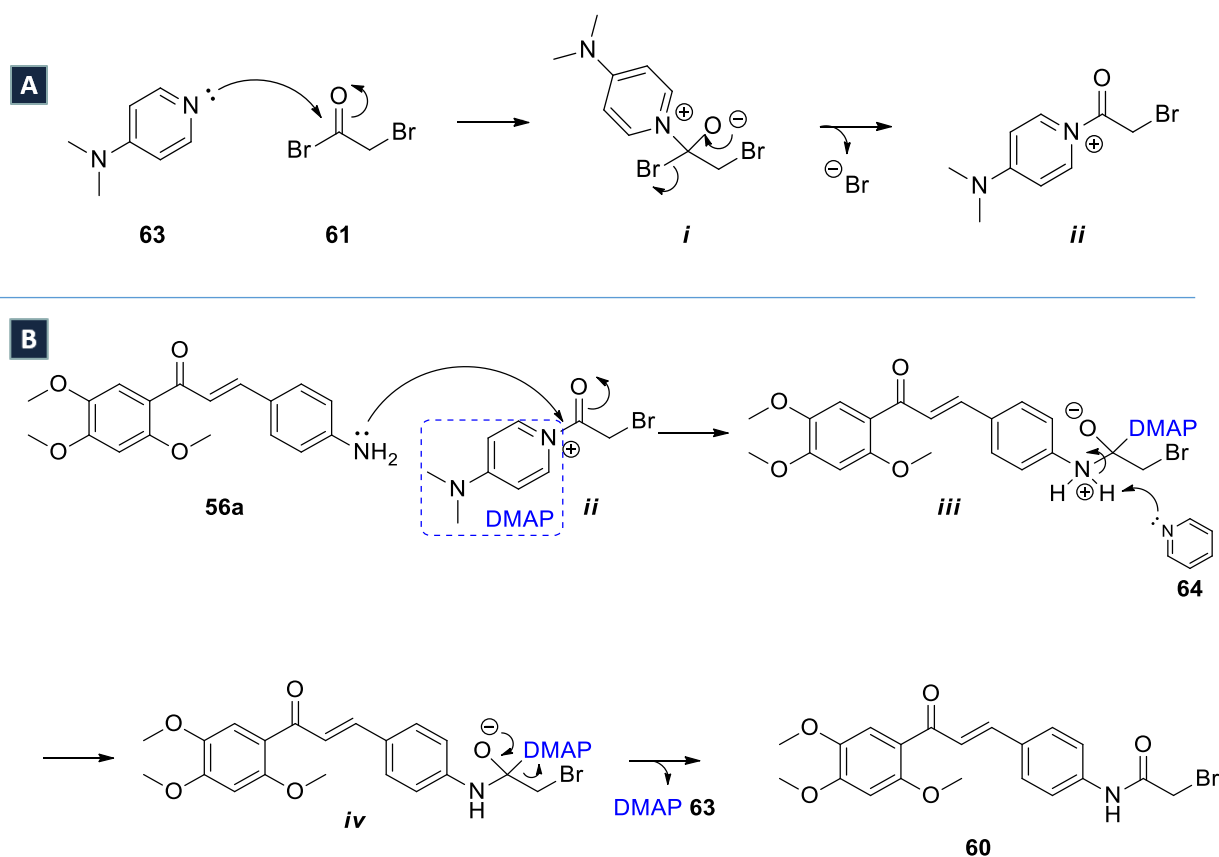


Figura 35: Esquema de intermediários para síntese da α -bromo-acetamida-chalcona **60**: A – Ativação do eletrófilo pela DMAP **63**; B – Reação de $\text{S}_{\text{N}}\text{Ac}$ (Adaptado de VOGEL et al., 2016).

3.7 Síntese dos produtos finais

3.7.1 Síntese dos produtos finais da série A

As chalconas finais da série A **42a-g** foram obtidas através da reação de Buchwald-Hartwig (*a*) (Figura 36) na presença da 4-bromo-chalcona **43**, Pd₂(dba)₃, XPhos, K₃PO₄ e as respectivas aminas **35** em tolueno durante 3 horas à 100 °C (DE AZEVEDO, 2018), fornecendo diretamente as chalconas **42a-d**. Os compostos **42e-g** foram obtidos pela metodologia sequencial (*b* ou *c*) que passa, na primeira etapa (*i*) pela reação de Buchwald-Hartwig e, em seguida, pela etapa de desproteção (*ii*). Na Tabela 4 estão representados os rendimentos obtidos para os compostos **42a-g** obtidos através das metodologias (*a*) e (*b*). Os rendimentos dos compostos obtidos pela metodologia (*c*) são representados da Tabela 5.

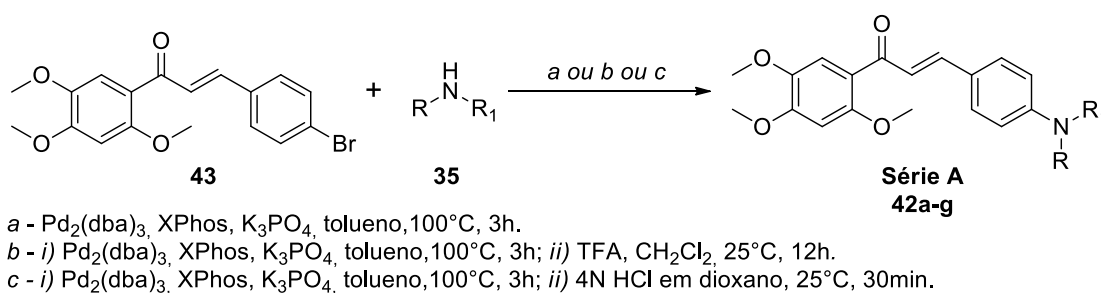
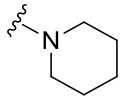
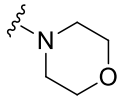
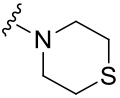
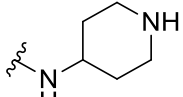
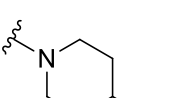
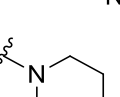
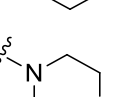


Figura 36: Reação de obtenção das chalconas finais da série A **42a-g**.

Tabela 4: Rendimento da reação de obtenção das chalconas finais da série A **42a-g**.

Composto	RNR ₁	Rendimento – Buchwald (%)	Rendimento – Desproteção (%)
42a		49	-
42b		69	-
42c		71	-
42d		66	97
42e		81	85
42f		78	91
42g		29	-

O mecanismo da reação de Buchwald-Hartwig (Figura 37) passa por quatro etapas principais: adição oxidativa, adição da amina, desprotonação e, por fim, eliminação redutiva. Primeiramente o Pd⁰ na forma de Pd₂(dba)₃ é complexado ao ligante de fosfina L_nPd⁰. A primeira etapa do ciclo catalítico envolve a adição oxidativa da 4-bromo-chalcona **43** ao L_nPd⁰ formando o intermediário (*i*), aumentando o número de coordenação em duas unidades e o número de oxidação do metal também em duas unidades, caracterizando assim a adição oxidativa. Em seguida ocorre a ligação da amina **35** ao intermediário de Pd^{II} (*i*) gerando o intermediário (*ii*). Posteriormente ocorre a etapa de desprotonação promovida pelo fosfato de potássio juntamente com a saída do brometo originando o intermediário (*iii*). Por fim, ocorre a etapa de eliminação redutiva, onde há a diminuição do número de coordenação em duas unidades juntamente com o número de oxidação do metal, levando a formação da ligação C-N desejada nos compostos **42a-g** e regenerando o L_nPd⁰ no ciclo catalítico (SURREY; BUCHWALD, 2011).

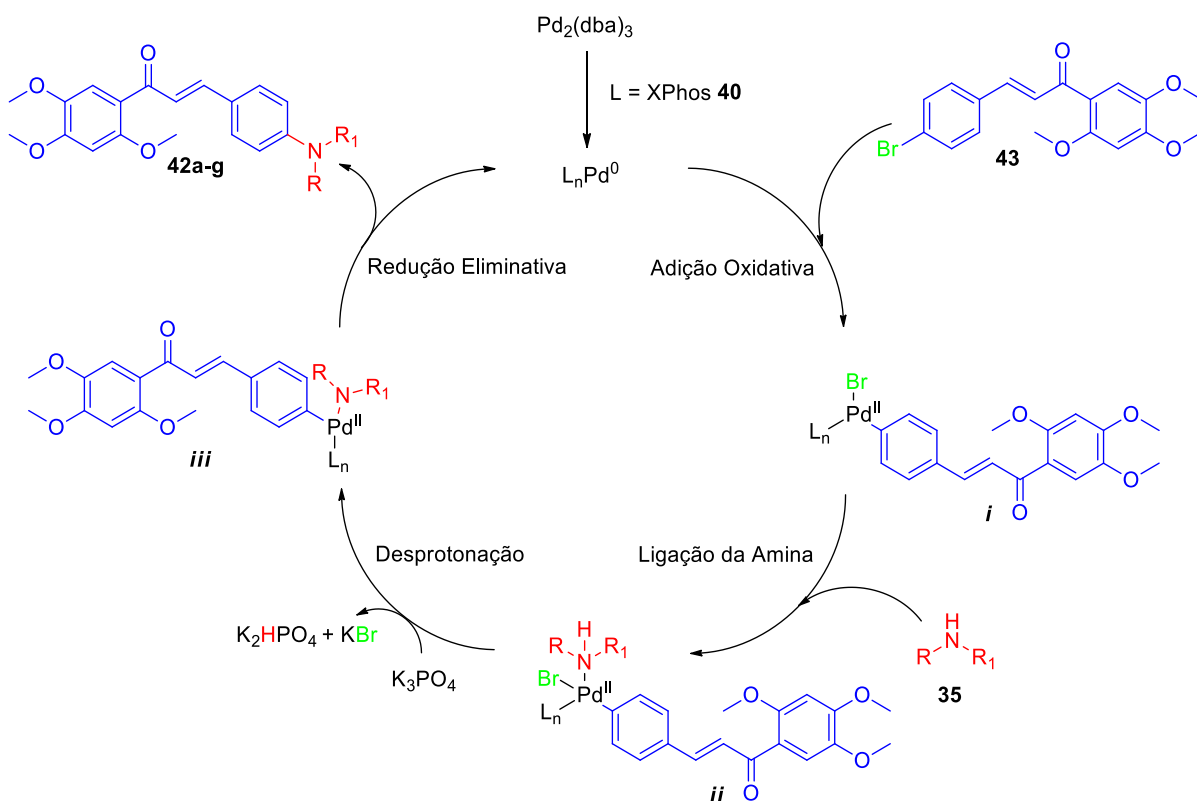


Figura 37: Esquema de intermediários proposto para síntese das chalconas finais da série A (Adaptado de SURRY; BUCHWALD, 2011).

Os compostos **42d-f** que foram submetidos à metodologia (b), primeiramente, passaram pela reação de Buchwald-Hartwig (i) como descrito acima e seguiram para reação de desproteção (ii) em TFA **65** e diclorometano à temperatura ambiente durante 12 horas. O mecanismo de desproteção para obtenção dos compostos **42d-f** é representado na Figura 38 utilizando o composto **42d'** como exemplo.

Primeiramente ocorre a protonação do oxigênio da carboxila (ASHWORTH; COX; MEYRICK, 2010; CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 556) devido ao meio ácido. Em seguida a ligação O-*t*Bu é clivada levando a formação do cátion *terc*-butílico (ii), que é convertido ao isobutileno **66**, e forma o respectivo ácido carbâmico (iii). O ácido carbâmico neutro (iii) encontra-se em equilíbrio com sua forma zwitteriônica (iv). O processo de descarboxilação é melhor compreendido quando observado através da forma zwitteriônica (iv) onde os pares de elétrons não ligantes localizados sobre o oxigênio migram para estabelecer a ligação dupla do CO_2 enquanto os elétrons da ligação N-C estabilizam a carga positiva sobre o nitrogênio (v). Como o meio encontra-se ácido, há a protonação da amina gerando o respectivo sal com TFA (vi). Por fim, é necessário alcalinizar o meio até $\text{pH} = 9$ para obter o composto neutro **42d**.

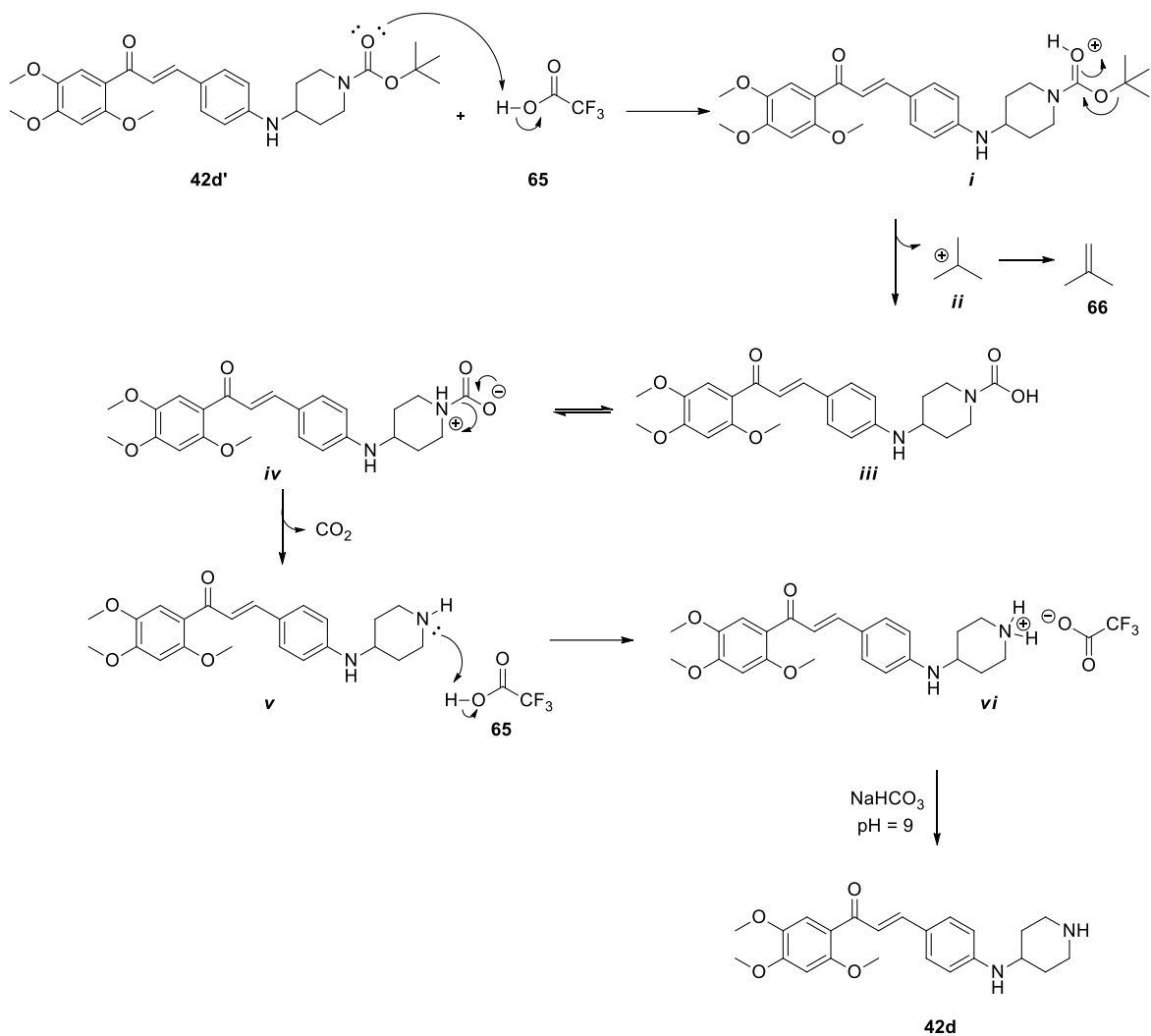


Figura 38: Esquema de intermediários para reação de desproteção com TFA **65** das chalconas finais da série A (Adaptado de ASHWORTH; COX; MEYRICK, 2010; CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 556).

Para confirmar a formação das amino-chalconas **42a-g** foram realizados experimentos de determinação estrutural como RMN ^1H e RMN ^{13}C (Anexos 9-18) e alguns sinais característicos possibilitaram a confirmação dos compostos sintetizados. Os sinais aqui discriminados são do composto **42b** e são observados em todos os compostos da série com diferenças mínimas em seus deslocamentos químicos e, devido à utilização de diversas aminas, ocorre o aparecimento de diferentes sinais referentes à cadeia alifática.

Analisando o espectro de RMN ^1H nota-se que na região de campo baixo é possível observar os sinais referentes aos anéis aromáticos e à ligação dupla (Figura 39). Em 7,68 e 7,48 ppm observa-se dois dupletos referentes, respectivamente, ao H_9 e H_8 , ambos com integração

para um hidrogênio e $J = 15,7$ Hz, característico de ligação dupla *trans* (PAVIA et al., 2010, p. 263) (Figuras 39 e 40). Também são observados os sinais do anel aromático característico de sistema *para* substituído, com dois dupletos em 7,55 e 6,89 ppm com $J = 8,7$ Hz, característicos de um sistema de acoplamento A_xB_x , A_yB_y (PAVIA et al., 2010, p. 275–277) referentes aos $H_{11, 15}$ e $H_{12, 14}$ respectivamente, ambos com integração para dois hidrogênios. Além dos simples do anel aromático contendo as metoxilas, com sinais em 7,37 e 6,55 ppm referentes ao H_3 e H_6 , respectivamente (COSTA et al., 2014).

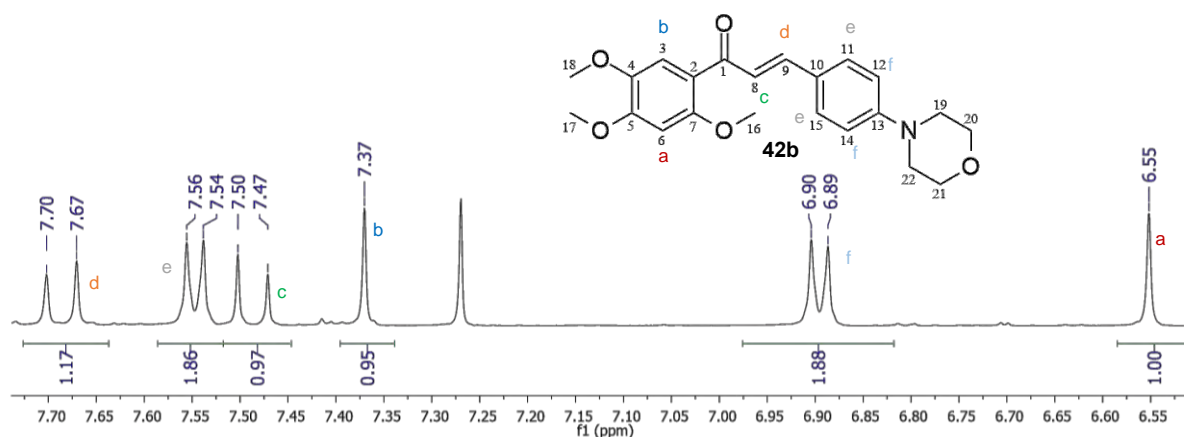


Figura 39: Expansão do espectro de RMN 1H ($CDCl_3$, 500 MHz) do composto **42b** de 7,71 a 6,50 ppm.

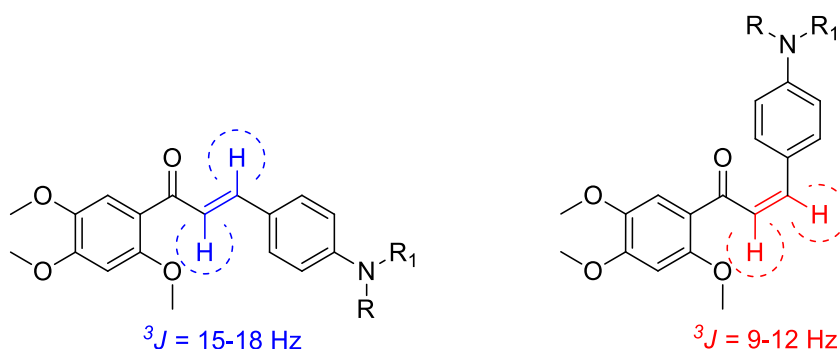


Figura 40: Constantes de acoplamento spin-spin em ligações dupla *trans* e *cis* (Adaptado de PAVIA et al., 2010, p. 262–263).

Os deslocamentos químicos descritos acima para os hidrogênios 3, 6, 8, 9, 11, 12, 14 e 15 são justificados por estruturas de ressonância. Na Figura 41-A é possível observar a presença de carga positiva no carbono ligado ao H_9 da ligação dupla o tornando mais desprotegido quando comparado ao H_8 na posição alfa à carbonila que mantém seu caráter de hidrogênio de ligação dupla em ambas as estruturas canônicas. Na Figura 41-B é possível observar que o

efeito retirador de elétrons por ressonância da carbonila, nas estruturas canônicas, leva a formação de carga positiva no carbono do H₃, localizado na posição *orto* à carbonila, tornando-o menos protegido e, conseqüentemente, possuindo deslocamento químico maior que o H₆, localizado na posição *meta* à carbonila, que não sofre influência direta do efeito retirador, além de estar localizado entre duas metoxilas, que, por ressonância, exercem efeito de blindagem no hidrogênio ligado ao carbono seis, representado em Figura 41-C, justificando assim seu valor mais deslocado para campo alto. O deslocamento químico dos hidrogênios na posição *orto* ao nitrogênio no anel *N*-arilado é justificado na Figura 41-D pelo efeito doador de elétrons do nitrogênio para o anel, aumentando a densidade eletrônica nas posições *orto*, H₁₂ e H₁₄, e, conseqüentemente, gerando um sinal em região de campo mais alto.

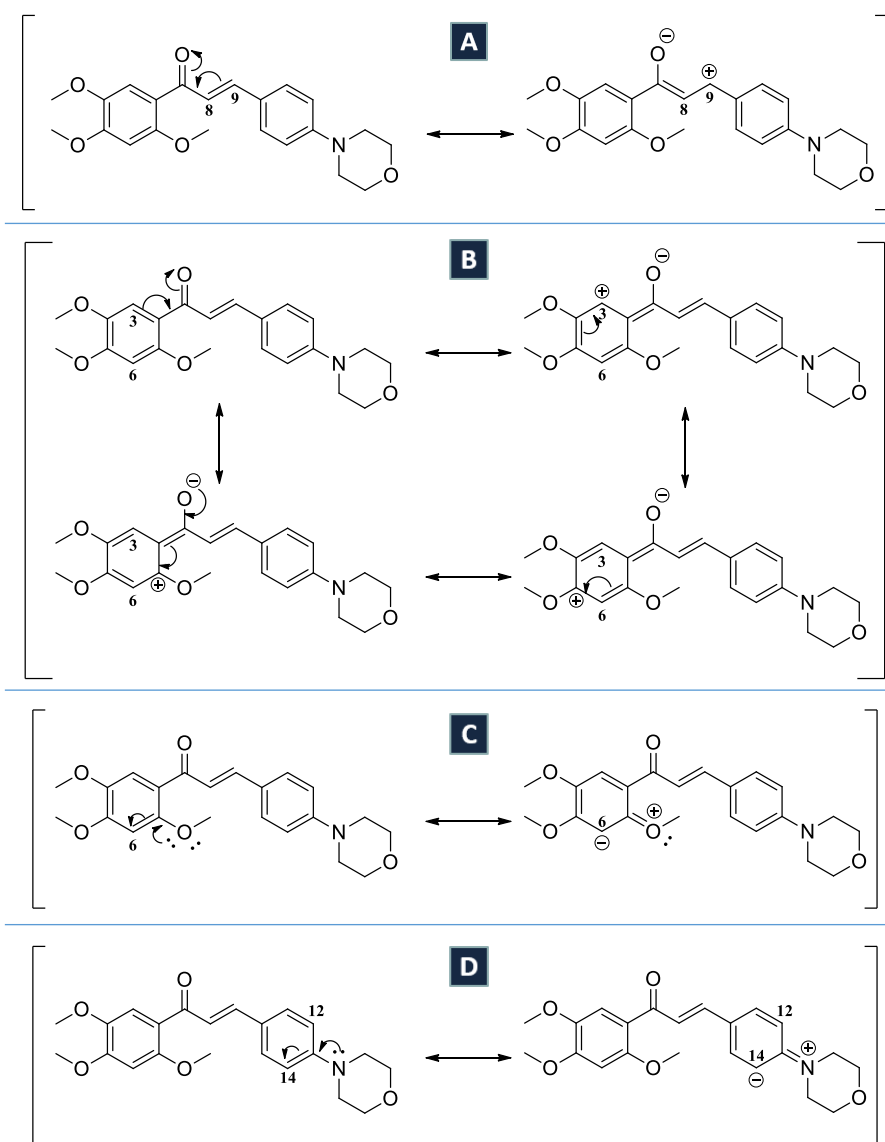


Figura 41: Estruturas de ressonâncias que justificam os deslocamentos químicos do composto **42b** em campo baixo.

Na região de campo alto é possível observar os sinais referentes à cadeia carbônica alifática e às metoxilas (Figura 42). Em 3,97, 3,92 e 3,90 ppm encontram-se os simpletos relativos às três metoxilas, H₁₆, H₁₇ e H₁₈ respectivamente, ambos com integração para três hidrogênios (COSTA et al., 2014). Os sinais da cadeia carbônica da morfolina são observados em 3,87 e 3,26 ppm e ambos se apresentaram na forma de tripleto com integração para quatro hidrogênios (DE AZEVEDO, 2018; POLO, 2019). Nota-se que o sinal em 3,87 ppm é atribuído aos H₂₀ e ₂₁, que, por estarem vizinhos ao oxigênio são mais desblindados que os H₁₉ e ₂₂, que, por sua vez, são vizinhos ao nitrogênio e aparecem em região mais protegida, em 3,26 ppm.

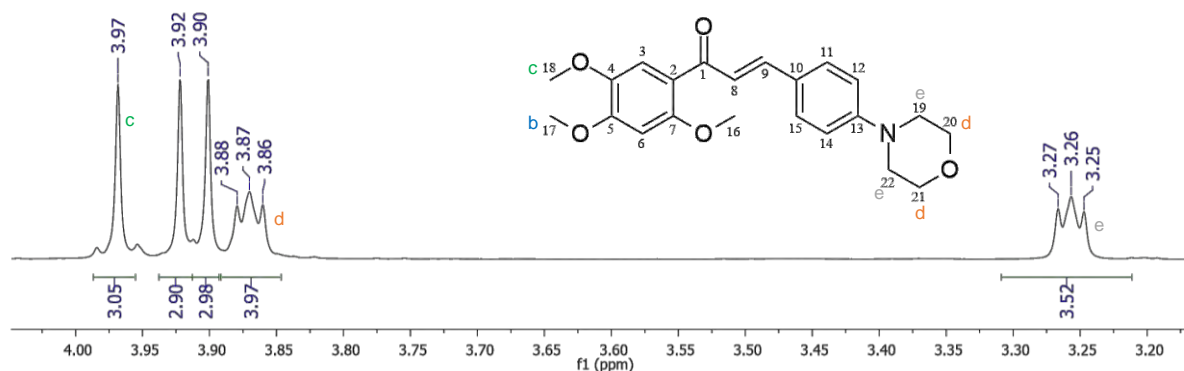


Figura 42: Expansão do espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) do composto **42b** de 4,05 a 3,20 ppm.

Analisando o espectro de RMN ¹³C nota-se um sinal de carbono quaternário em 190,2 ppm que é atribuído ao C₁, seguido dos sinais em 154,6, 153,2, 152,5, 143,4, 126,6 e 121,1 ppm com intensidade e fase característicos de carbono quaternário, referentes ao C₅, C₇, C₁₃, C₄, C₁₀ e C₂, respectivamente. Os sinais de C₈ e C₉ que constituem a ligação dupla aparecem, respectivamente, em 124,1 e 142,5 ppm, e a diferença em seus deslocamentos químicos é justificada de forma análoga na Figura 41-A. Em 113,2 ppm encontra-se o sinal do C₃ e, em 97,3 ppm o sinal do C₆. A diferença no deslocamento químico dos carbonos três e seis também é justificada de forma análoga na Figura 41-B e C. Com intensidade maior que os demais, caracterizando que os sinais são referentes a mais de um carbono em mesmo ambiente químico, os sinais relativos aos C_{11, 15} e C_{12, 14} aparecem, respectivamente, em 130,0 e 114,8 ppm e a diferença em seus deslocamentos químicos é explicada de forma análoga na Figura 41-D. Os três sinais referentes aos carbonos das metoxilas, C₁₆, C₁₇ e C₁₈ são mostrados em 57,0, 56,4 e 56,2 ppm respectivamente (COSTA et al., 2014). Por fim, em 66,8 e 48,2 ppm aparecem os sinais da cadeia carbônica da morfolina, C_{20, 21} e C_{19, 22} respectivamente, que apresentam

diferenças no deslocamento químico pois encontram-se ligados diretamente a átomos com eletronegatividade distintas, oxigênio e nitrogênio.

3.7.1.1 Estudo da degradação sofrida por 42d-g

Curiosamente, com o passar do tempo os derivados **42d-g** aparentemente sofriam degradação onde, por CCFA, era possível observar pequenos novos *spots* mais apolares. Inicialmente acreditou-se que os derivados não teriam sido purificados de forma eficiente antes da reação de desproteção, visto que esta etapa é muito limpa e não costuma gerar subprodutos. As análises de RMN ^1H e RMN ^{13}C dos produtos protegidos eliminaram a hipótese de as impurezas serem provenientes dos mesmos, pois os espectros não apresentavam sinais além dos atribuídos aos produtos protegidos. A hipótese de os produtos protegidos estarem impuros também não explicava as impurezas observadas no derivado **42g**, que aparentava ter o mesmo perfil em CCFA que os demais, mesmo não passando pela reação de desproteção. Diante deste resultado, começou-se a especular que o produto poderia estar sofrendo algum tipo de fotodegradação durante o processo de isolamento e armazenamento, visto que os compostos apresentam fluorescência e já fora observada fotodegradação da molécula 4'-bromo-chalcona **43** (Figura 43), cujo RMN ^1H e ^{13}C encontram-se no Anexo 2.

A literatura relata degradações sofridas por chalcona (LEI et al., 2017; LIU et al., 2018; TRÖSTER et al., 2016), descrevendo reações fotoquímicas de cicloadição [2+2] ocorridas no sistema α,β -insaturado, levando a formação de um dímero **67** com duas espécies **43** unidas por um ciclobutano (Figura 43).

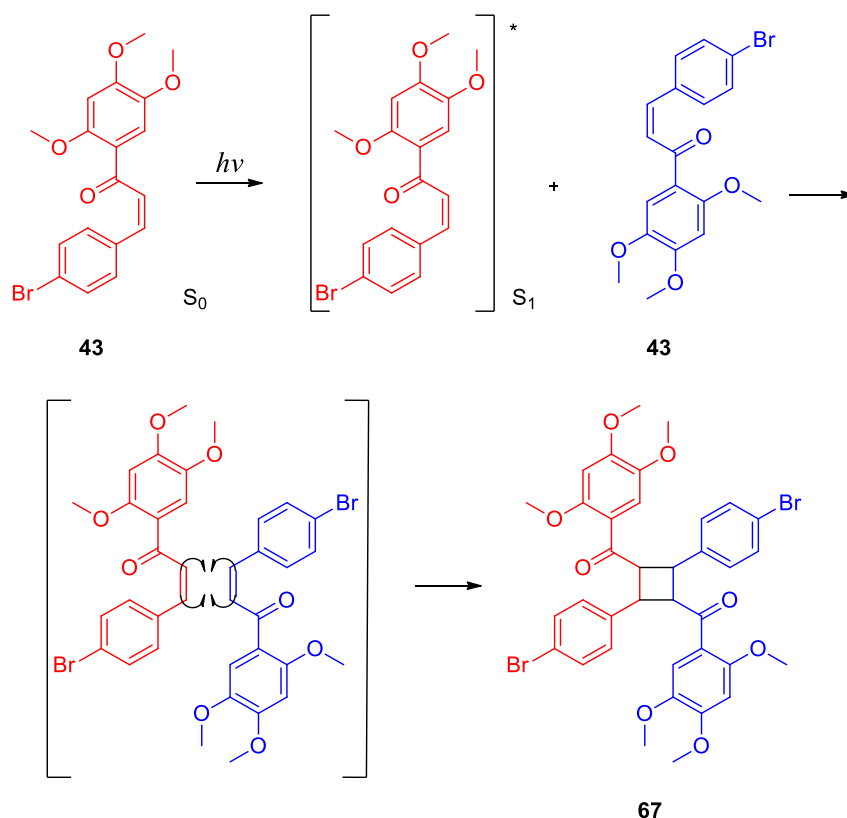


Figura 43: Esquema de intermediários para formação da fotodegradação observada na 4'-bromo-chalcona **43** (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 897).

Entretanto, uma análise qualitativa da emissão de fluorescência observada em CCFA indicava que o sistema *N*-aril-chalcona provavelmente estava intacto nas supostas degradações observadas, visto que a tonalidade da fluorescência emitida pela degradação observada em câmara UV de $\lambda = 365$ nm era idêntica à tonalidade de todos os derivados *N*-aril-chalconas previamente sintetizados de forma pura, sob o mesmo comprimento de onda. A cicloadição [2+2] levaria a produtos com perda de conjugação e de fluorescência.

De forma representativa, uma análise de CCFA para reação de desproteção do derivado **20e** está demonstrada na Figura 44. No *spot* A encontra-se o produto de partida protegido **20e'**, no *spot* C encontra-se o produto desprotegido **42e** e, em B, a mistura de ambos. Fica evidente, na Figura 44, a coloração característica de emissão de fluorescência gerado pelos compostos *N*-arilados. Tal coloração se mantém nos possíveis produtos de degradação. Também fica evidente que, logo após a reação estes produtos não apresentam degradação.

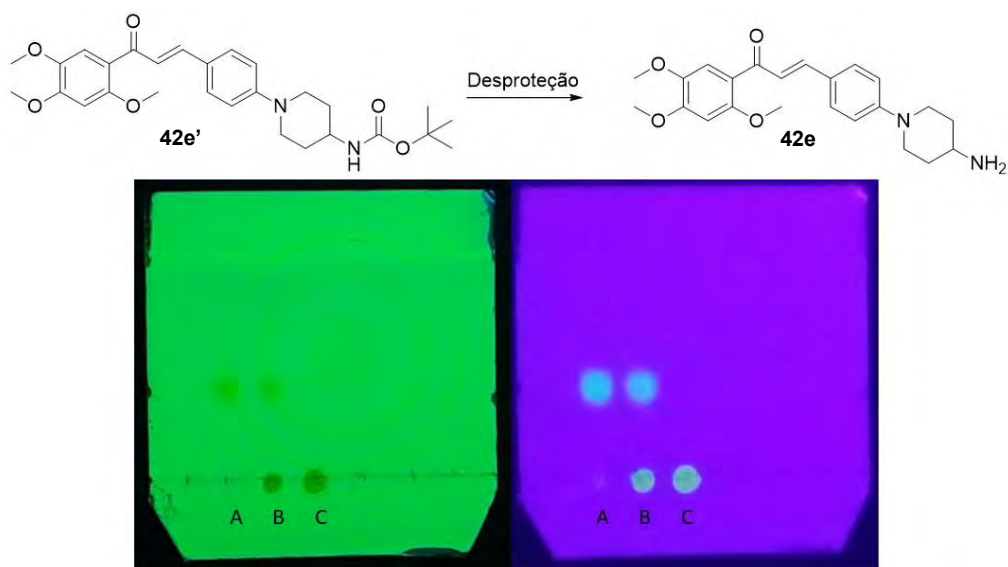


Figura 44: Análise de CCFA para reação de desproteção do derivado **42e** eluída em Hex/Act 30%: à esquerda sob irradiação de $\lambda = 254$ nm e à direita $\lambda = 365$ nm.

Com esses resultados qualitativos em mãos, formulou-se a hipótese, ainda a se confirmar, de que a degradação seria proveniente de alguma reação envolvendo os pares de elétrons não ligantes do grupamento amino básico presente na cadeia lateral, visto que todos os derivados com o segundo nitrogênio da cadeia lateral apresentavam tal degradação, o mesmo não sendo observado nos derivados **42a-c** (RNR₁ = piperidina, morfolina e tiomorfolina).

Posteriormente os derivados que apresentaram degradação foram enviados para HPLC/DAD para quantificação da porcentagem de impureza presente na amostra. Apesar da análise visual qualitativa da CCFA indicar que havia uma quantidade razoável de material degradado, os resultados cromatográficos dos derivados **42d** e **42g** (Figura 45) constataram que apenas uma pequena porcentagem do material sofreu degradação, valores próximos a 3% em ambos os casos (Figura 45).

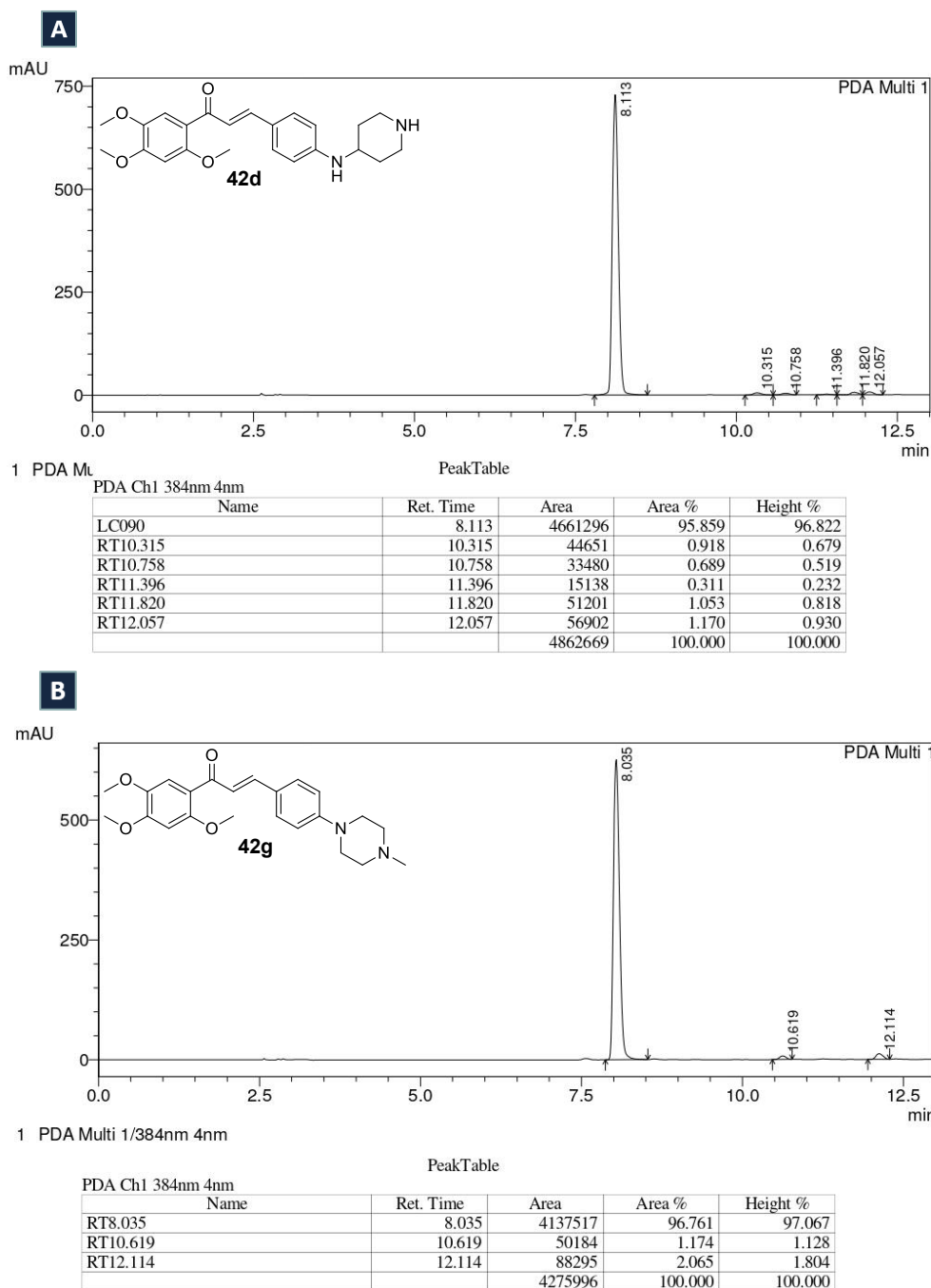
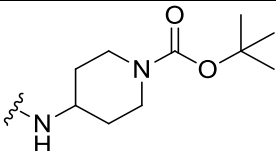
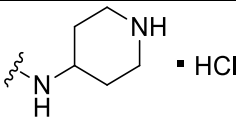
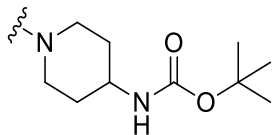
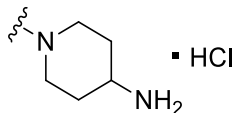
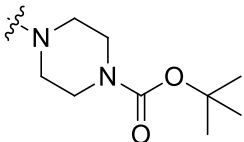
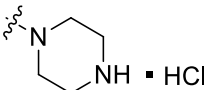
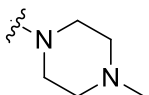
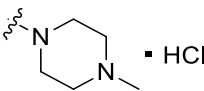


Figura 45: A – Cromatograma de HPLC de **42d** com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluído com MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18. B – Cromatograma de HPLC de **42g** com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluído com MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.

Visando contornar este problema e baseado na suposição de oxidação do nitrogênio básico, decidiu-se então realizar a síntese dos respectivos cloridratos de **42d-f**, obtidos diretamente pela reação de desproteção do grupo BOC utilizando solução de HCl em dioxano 4N sob agitação durante 30 minutos (RAIMUNDO et al., 2004). O mesmo meio foi também utilizado na formação do cloridrato do derivado **42g**. Os rendimentos desta reação estão

representados na Tabela 5 e o mecanismo de desproteção/formação do cloridrato para obtenção dos compostos **42d-g** ocorre de forma análoga ao representado na Figura 38.

Tabela 5: Rendimentos da etapa de desproteção/formação de cloridrato.

Composto	RNR ₁ – Reagente	RNR ₁ – Produto	Rendimento (%)
42d.HCl			93
42e.HCl			91
42f.HCl			95
42g.HCl			95

A formação dos respectivos sais obtidos através da reação de desproteção também pode ser evidenciada através da técnica de ressonância magnética nuclear. Analisando o RMN ¹H obtido para o composto **42f.HCl**, nota-se que não há sinal na região de campo alto entre 1,0-2,0 ppm, onde normalmente é observado os sinais referentes aos nove hidrogênios do grupo *tert*-butila do BOC (SANTOS et al., 2019) (Figura 46-A). Por outro lado, na região de campo baixo, observa-se um sinal largo, característico de hidrogênio de cloridratos, em 9,27 ppm com integração para dois hidrogênios (Figura 46-B). Esse alargamento do sinal ocorre devido à troca com prótons presentes na solução e ao alargamento quadrupolar (PAVIA et al., 2010, p. 327). Os demais sinais do núcleo da chalcona apresentaram deslocamentos químicos e multiplicidade compatíveis com os valores já discutidos acima para o composto **42b**.

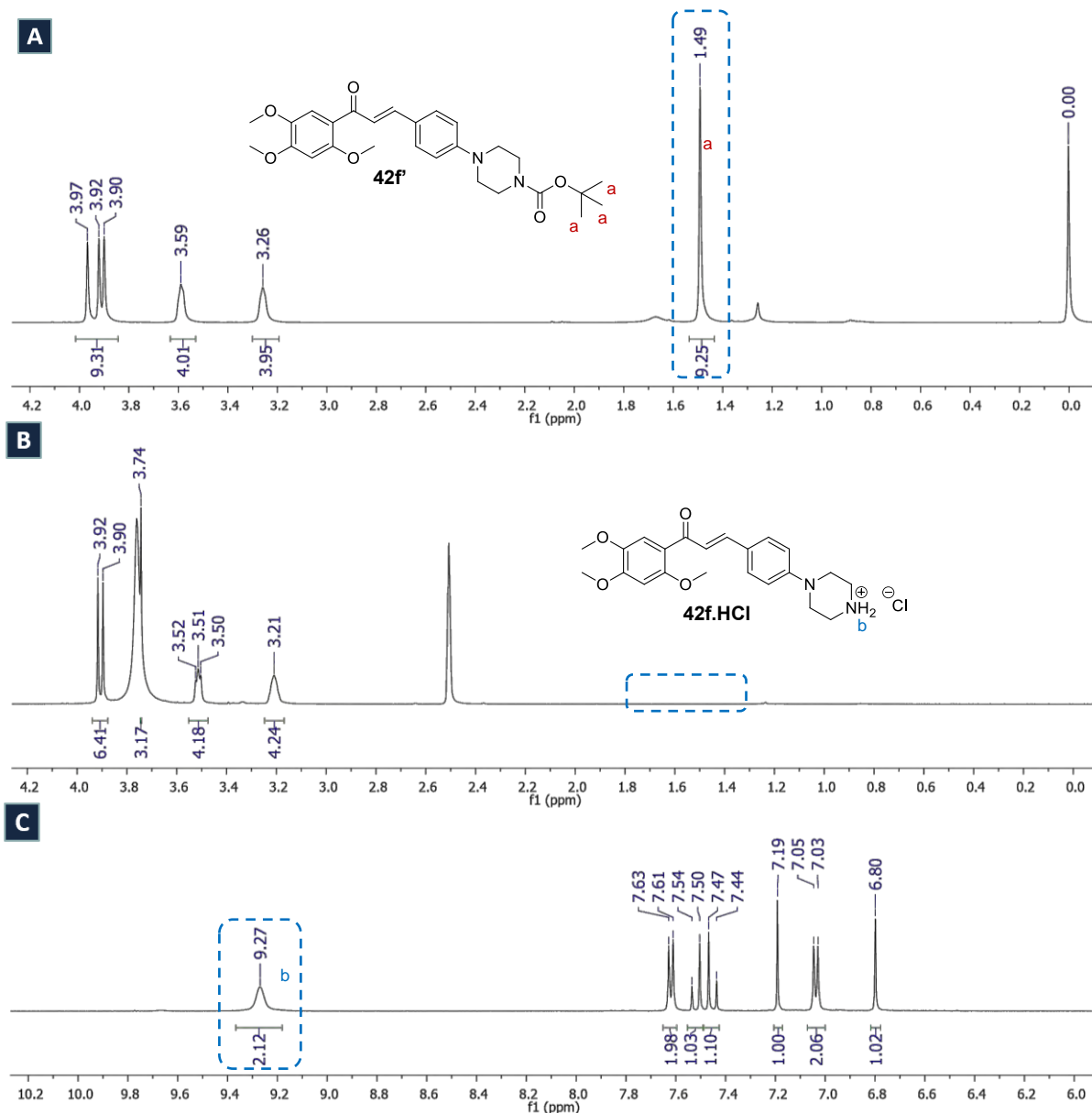


Figura 46: A - Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) de **42f** de 0 a 4,2 ppm. B - Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO-d_6 , 500 MHz) de **42f.HCl** de 0 a 4,2 ppm. C - Expansão do espectro de RMN ^1H (DMSO-d_6 , 500 MHz) de **42f.HCl** de 6,0 a 10,2 ppm.

O produto **42g.HCl** ($\text{RNR}_1 = \text{metil-piperazina}$), apesar de não ser proveniente de uma amina protegida, foi submetido à mesma metodologia sintética para formação do seu respectivo cloridrato. Analisando o RMN ^1H obtido para o composto **42g.HCl** (Figura 47), é possível confirmar a síntese do sal devido ao sinal em campo alto, referente à metila, se apresentar na forma de um duplete com integração para três hidrogênio em 2,79 ppm e $J = 4,5$ Hz, esse fenômeno ocorre devido à interação entre os hidrogênios da metila com o hidrogênio ligado ao nitrogênio (KORMOS et al., 2014). Outro indício observado pelo RMN ^1H e a presença de um sinal simpleto largo em 11,17 ppm com integração para um hidrogênio, referente ao hidrogênio

do sal de amônio (PAVIA et al., 2010, p. 327). Os demais sinais do núcleo da chalcona apresentaram deslocamentos químicos e multiplicidade compatíveis com os valores já discutidos acima para o composto **42b**.

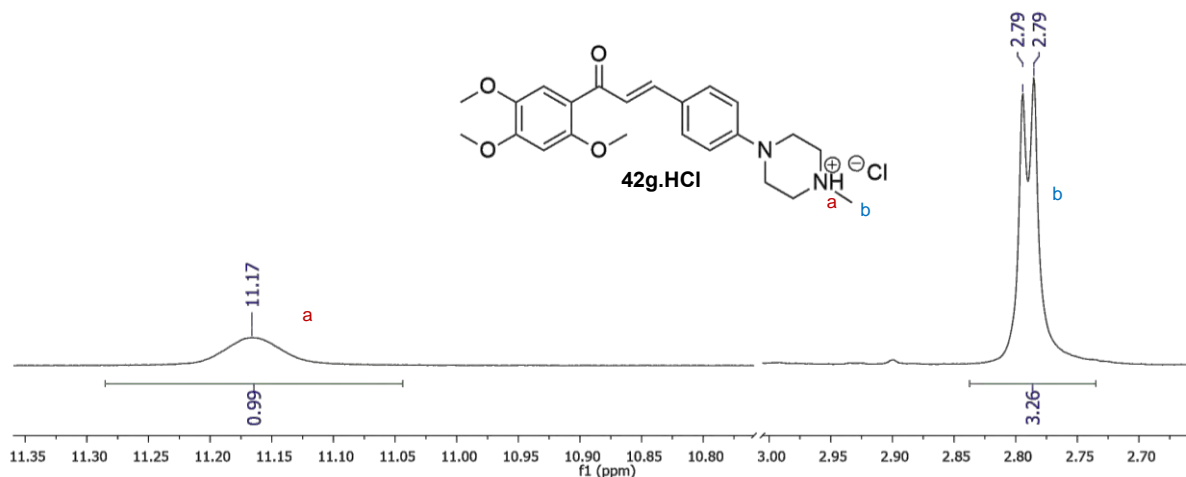


Figura 47: Expansão do espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 500MHz) de **42g.HCl**. A região de 3,01-10,75 ppm foi suprimida.

A pureza dos compostos foi mensurada através da análise de HPLC/DAD em equipamento Shimadzu eluída com mistura de MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18 e detecção em $\lambda = 320$ nm. Os cromatogramas estão representados na Figura 48.

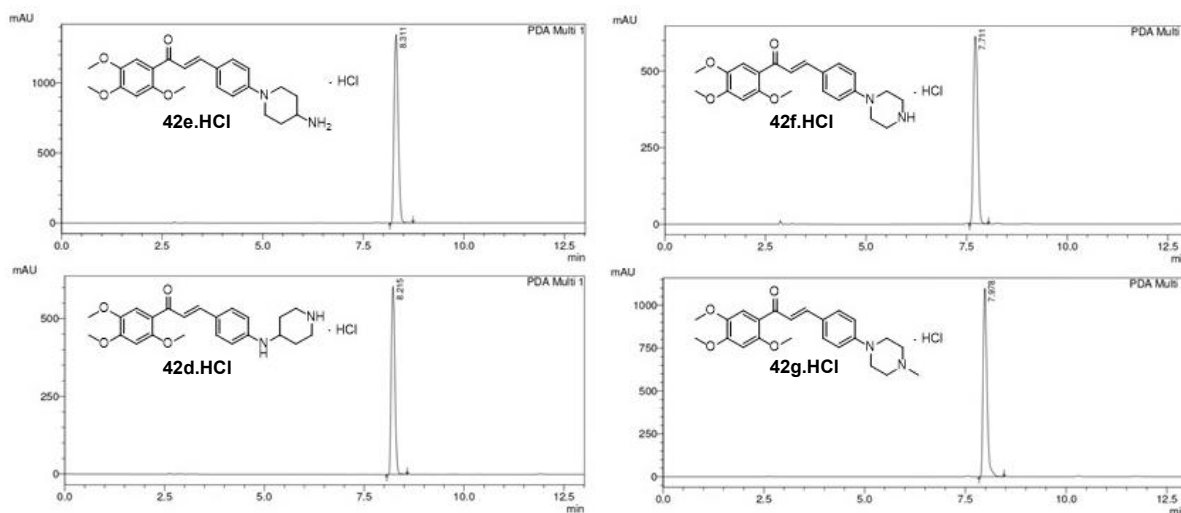


Figura 48: Cromatogramas de HPLC das chalconas finais **42d-g** com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluído com MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.

Através da modificação sintética e obtenção dos respectivos cloridratos dos derivados contendo o grupamento amino básico na cadeia lateral, foi possível contornar o problema da degradação e os produtos finais foram obtidos com alto grau de pureza. Nenhuma das amostras das possíveis degradações foram analisadas por métodos espectroscópicos ainda, entretanto, posteriormente serão analisadas para maior compreensão do ocorrido.

3.7.2 Síntese das chalconas finais da série B

As chalconas finais da série B **44a-d,i-l** foram obtidas através da reação entre as *O*-alquil-bromo-chalconas **47a-b** e diversas aminas secundárias **35** através de uma reação tipo S_N2 em acetonitrila à 60°C durante quatro horas (Figura 49) (SANTOS et al., 2019), levando a formação das chalconas finais na forma de sólidos coloridos e seus rendimento estão representados na Tabela 6.

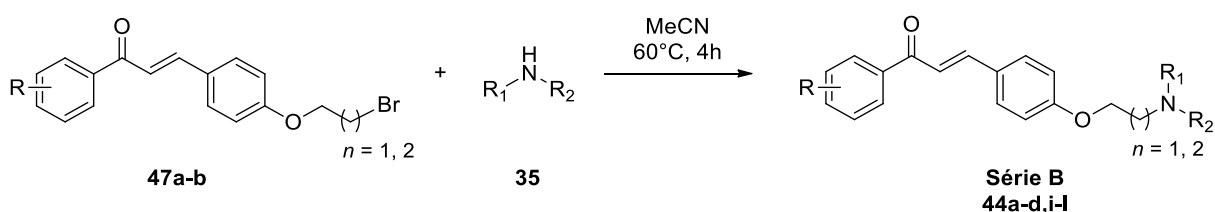


Figura 49: Reação de obtenção das chalconas finais da série B.

Tabela 6: Rendimento da reação de obtenção das chalconas finais da série B **44a-d,i-j**.

Composto	R	n	R_1NR_2	Rendimento (%)
44a	2,4,5-MeO	1	Piperidina	75 ^a
44b	2,4,5-MeO	1	Morfolina	70 ^a
44c	2,4,5-MeO	1	Pirrolidina	65 ^b
44d	2,4,5-MeO	1	Dietilamina	86 ^c
44i	H	1	Piperidina	77 ^a
44j	H	1	Morfolina	62 ^a
44k	H	1	Pirrolidina	73 ^b
44l	H	1	Dietilamina	90 ^c

^a isolado e caracterizado; ^b não caracterizado; ^c bruto

O mecanismo proposto (Figura 50) inicia-se pelo ataque nucleofílico dos pares de elétrons não ligantes do nitrogênio da amina **35** ao centro eletrofílico presente no carbono sp³

ligado ao bromo da bromo-alquil-chalcona **47a-b**. A reação passa pelo estado de transição representado em (i) onde é formada a ligação N-C concomitantemente à clivagem da ligação C-Br. Posteriormente ocorre a liberação do ânion brometo e a formação do intermediário catiônico (ii). Por fim, a amina secundária presente em excesso no meio reacional realiza a desprotonação do intermediário (ii) formando, desta forma, as respectivas chalconas finais da série B **44a-d,i-l** e liberando, para o meio, o sal de amônio quaternário (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).

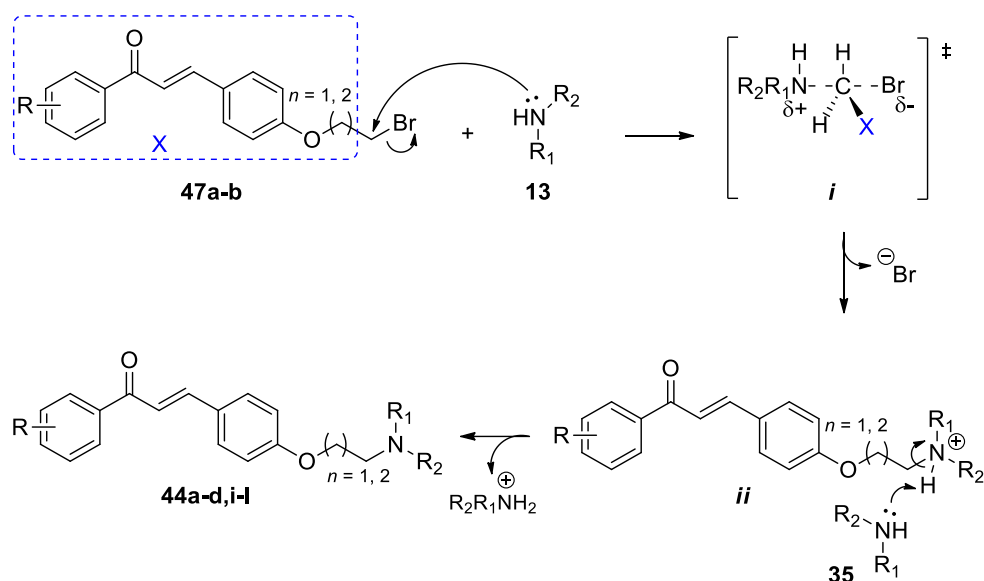


Figura 50: Esquema de intermediários para síntese das chalconas finais da série B (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).

Ao final da reação foi realizada uma partição em acetato de etila e água para retirada do excesso de amina utilizado e o sal de amônio formado durante a síntese. Ao término do processo de partição, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório e o produto se apresentou na forma de sólido colorido com alto grau de pureza, sem necessidade de realizar nenhum processo de purificação posterior antes da realização das análises de RMN ^1H , RMN ^{13}C e HPLC/DAD.

3.7.2.1 Caracterização espectroscópica das chalconas finais da série B

Nesta caracterização foi utilizado o composto **44j** como exemplo representativo. Analisando o espectro de RMN ^1H obtido para o composto **44j** em comparação com o reagente **47c**, encontram-se indícios contundentes de que o produto foi realmente sintetizado (Figura 51). Os tripletos referentes aos metilenos da cadeia espaçadora que antes encontravam-se em 4,35

ppm para o H₁₆ e 3,67 ppm para o H₁₇ no composto **27c** (DE SOUZA et al., 2019; GAN et al., 2017), agora se apresentam em 4,17 e 2,84 ppm respectivamente para o composto **44j** (SHANKARAI AH et al., 2017). A maior diferença de deslocamento químico se dá pela substituição do bromo ligado diretamente ao C₁₇ em **47c** para o nitrogênio da morfolina em **44j** e os valores de deslocamento químico estão condizentes com a literatura (DE SOUZA et al., 2019; GAN et al., 2017; SHANKARAI AH et al., 2017). Além do nítido aparecimento dos sinais referentes aos metilenos do ciclo da morfolina, localizados em 2,60 ppm para H_{18, 21} na forma de um tripleto com pouca definição e em 3,75 ppm para H_{19, 20} se apresentando como um tripleto nítido, ambos com integração para quatro hidrogênios cada (SHANKARAI AH et al., 2017).

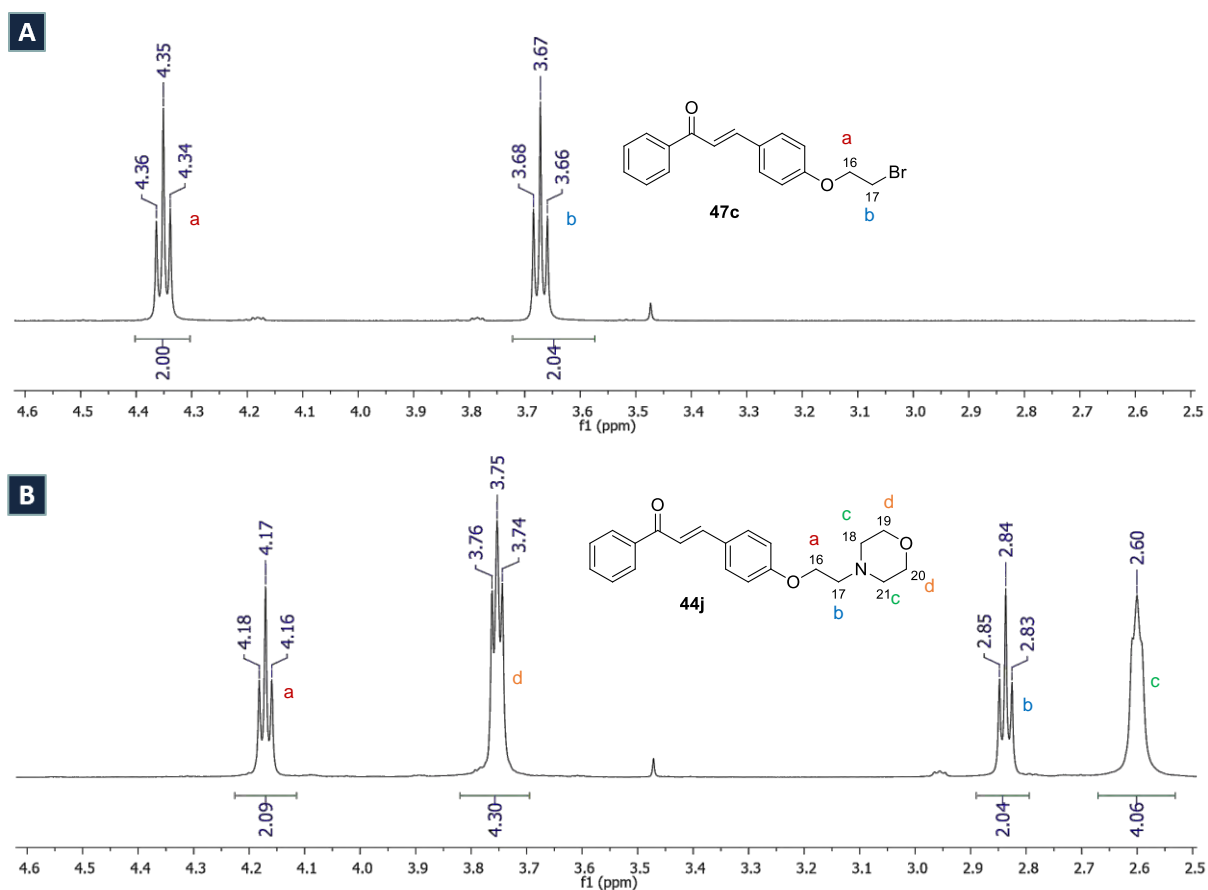


Figura 51: A - Expansão do RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) do composto **47c** de 2,5-4,6 ppm. B - Expansão do RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz) do composto **44j** de 2,5-4,6 ppm.

A pureza dos compostos foi mensurada através da análise de HPLC/DAD em equipamento Shimadzu eluída com mistura de MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18 e detecção em $\lambda = 320$ nm. Os cromatogramas estão representados na Figura 52.

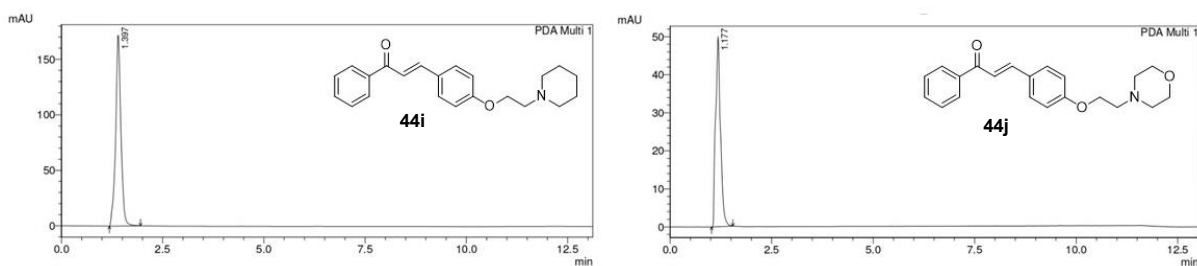


Figura 52: Cromatogramas de HPLC das chalconas finais **44i** e **44j** com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluído com MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.

3.7.3 Síntese das chalconas finais da série C

A síntese das chalconas finais da série C **45b,d** foi realizada a partir da condensação de Claisen-Schmidt (FAROOQ; NGAINI, 2019) seguido da hidrólise *in situ* do grupamento éster (RIOUX et al., 2017) (Figura 53) em meio básico de hidróxido de sódio 30% entre as acetofenonas **16a-b** (R = 2,4,5-trimetoxi e R = H) e o *O*-alquil-éster-benzaldeído **52b** sintetizados anteriormente, fornecendo os produtos **45b,d** na forma de um sólidos amarelos claro cujos rendimentos estão na Tabela 7 (BELLO et al., 2011).

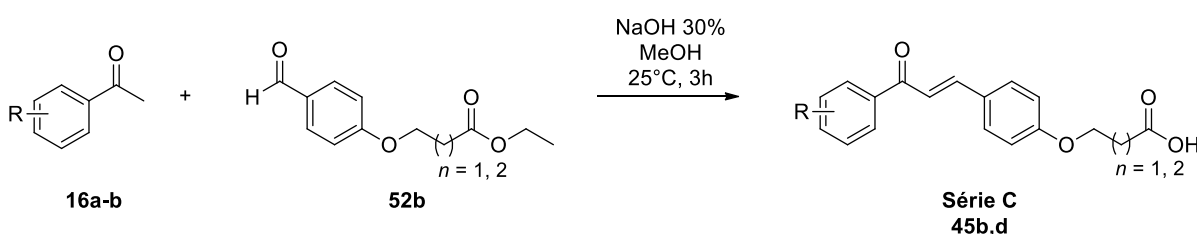


Figura 53: Reação de obtenção das chalconas finais da série C.

Tabela 7: Rendimento da reação de obtenção dos compostos finais da série C.

Composto	R	<i>n</i>	Rendimento (%)
45b	2,4,5-MeO	2	60
45d	H	2	71

O mecanismo para obtenção das chalconas finais da série C passa, primeiramente, pela etapa de condensação de Claisen-Schmidt como descrito na Figura 26 e, em seguida, pela etapa de hidrólise do grupamento éster. O mecanismo proposto (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 210) para a etapa de hidrólise do éster realizada *in situ* inicia-se com o ataque

nucleofílico do íon hidróxido, abundante no meio reacional, ao centro eletrofílico presente no carbono da carboxila do éster **68b,d**, levando à formação do intermediário tetraédrico (*i*). Em seguida, os pares de elétrons regeneram a ligação dupla da carboxila levando a formação do grupamento ácido carboxílico **45b,d** e conseqüente eliminação do íon etóxido **69**. Imediatamente à formação do grupamento ácido carboxílico **45b,d**, o próprio íon etóxido **69** liberado na etapa anterior ou um novo íon hidróxido, abstrai o hidrogênio ácido, formando o carboxilato correspondente (*ii*), mantendo o produto na forma ionizável e, desta forma, solúvel no meio reacional. Por fim, faz-se necessário uma etapa de neutralização durante o processo de finalização da reação para obtenção do produto **45b,d** desejado na forma neutra (Figura 54).

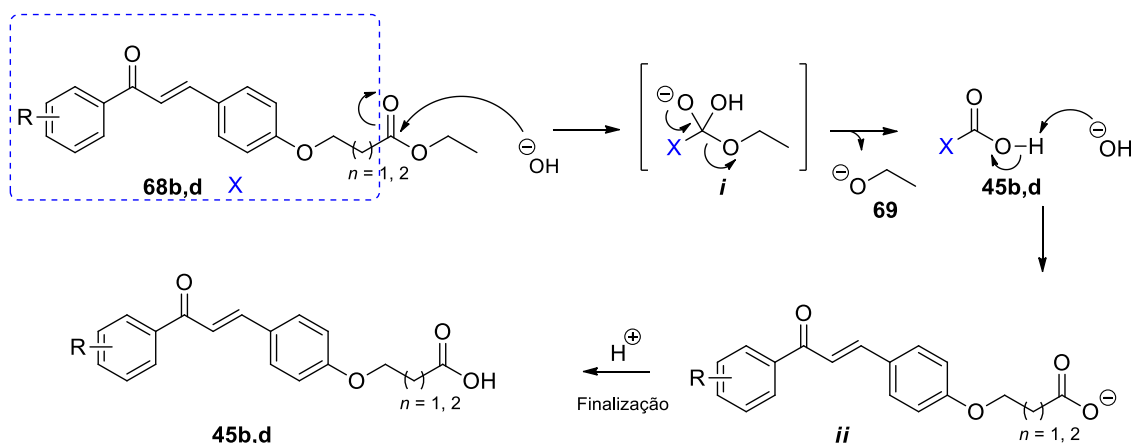


Figura 54: Esquema de intermediários para reação de hidrólise básica para obtenção das chalconas finais da série C (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 210).

Diferentemente do ocorrido na síntese das demais chalconas intermediárias, ao término da reação não houve a precipitação do produto, pois o mesmo se encontrava na forma de carboxilato solúvel no meio reacional devido à hidrólise *in situ* sofrida pelo substrato. Ao final da reação foi realizada neutralização e o pH foi ajustado em aproximadamente 7 com solução de bicarbonato de sódio e, após a neutralização, houve a precipitação das chalconas finais **45b,d**. O sólido obtido foi lavado com solução de MeOH:H₂O (70:30) gelado e, após secagem, se apresentou na forma de sólido colorido com alto grau de pureza, sem necessidade de realizar nenhum processo de purificação posterior antes da realização das análises de RMN ¹H, RMN ¹³C e HPLC/DAD.

3.7.3.1 Caracterização espectroscópica das chalconas finais da série C

Analisando o espectro de RMN ^1H obtido para o composto **45b** observa-se que, em campo baixo, os sinais referentes ao núcleo da chalcona apresentam-se com deslocamento químico muito similar aos já descritos anteriormente e, devido ao espectro ter sido obtido em CDCl_3 não foi possível observar os sinais do hidrogênio ligado ao heteroátomo da carboxila. Já em campo alto (Figura 55) encontram-se os sinais referentes às metoxilas em 3,90, 3,93 e 3,97 ppm com seus deslocamentos químicos característicos. Em 4,07 ppm é possível observar os sinais na forma de tripleto referente aos hidrogênios metilênicos H_{19} com $J = 6,0$ Hz e, em 2,61 ppm com $J = 7,2$ Hz observa-se o tripleto referente aos hidrogênios metilênicos H_{21} (RIOUX et al., 2017). As diferenças nos valores de J comprovam que ambos metilenos não acoplam entre si e os deslocamentos químicos condizem com os observados na literatura (RIOUX et al., 2017) para metilenos vizinhos à oxigênio e carboxila, respectivamente. Em 2,15 ppm encontra-se o sinal referente aos hidrogênios do metileno H_{20} , na forma de um quinteto, indicando realmente ser o CH_2 entre os metilenos descritos anteriormente, entretanto, infelizmente o programa não foi capaz de informar o valor da constante de acoplamento (RIOUX et al., 2017).

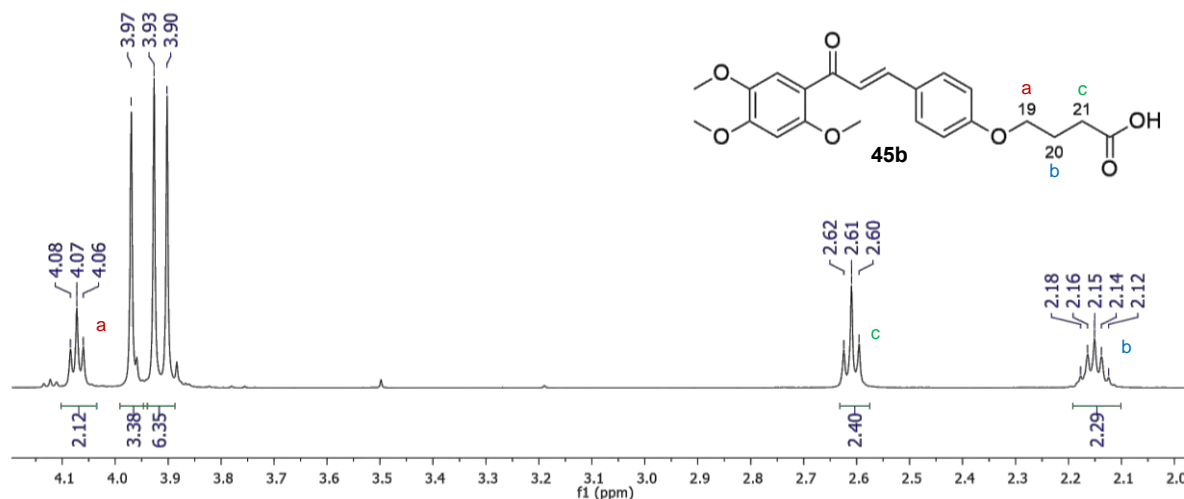


Figura 55: Expansão do espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) obtido para o composto **45b** de 2,0-4,1 ppm.

A análise do espectro de RMN ^{13}C do composto **45b** (Figura 56) corrobora para caracterização da estrutura proposta, ressaltando os sinais observados para os carbonos quaternários em 190,2 ppm referente à carbonila C_1 da enona e em 178,4 ppm referente à carboxila C_{22} do ácido carboxílico da cadeia lateral (RIOUX et al., 2017). Os demais sinais dos

carbonos sp^2 presentes no núcleo da chalcona encontra-se na região entre 97-160 ppm, apresentando valores de deslocamento químico similares aos observados em outras séries. Além disso, na região de campo alto é possível observar os sinais dos metilenos: em 66,7 ppm referente ao C₁₉, em 30,4 ppm referente ao C₂₁ e, em 24,4 ppm referente ao C₂₀, todos apresentando valores condizentes com a literatura (RIOUX et al., 2017) para metilenos vizinhos ao oxigênio, carboxila e outros metilenos, respectivamente.

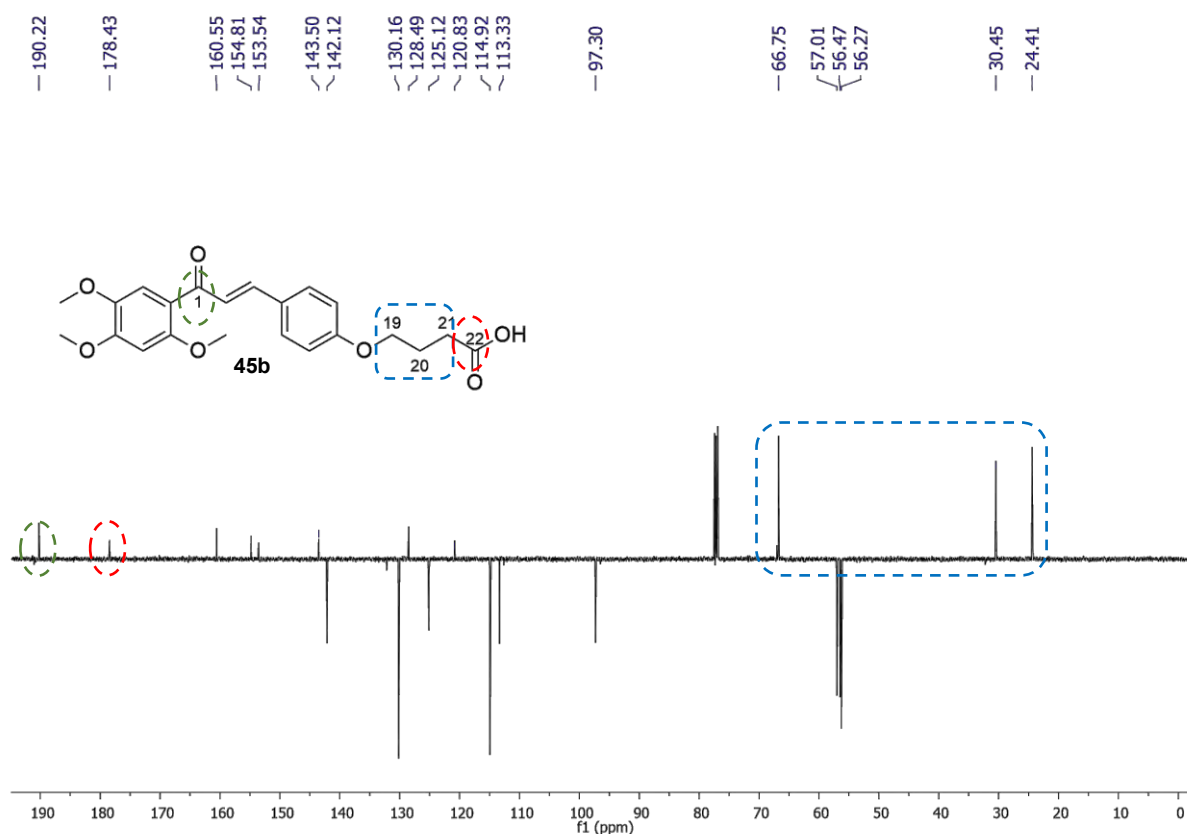
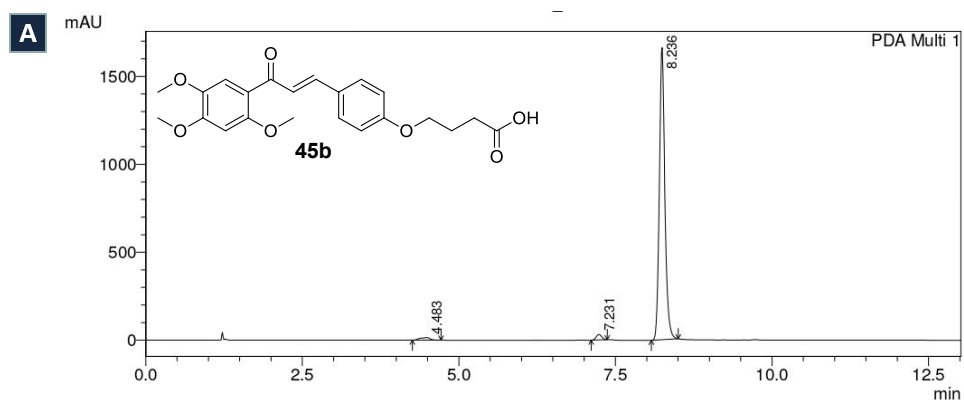


Figura 56: Espectro de RMN ^{13}C ($CDCl_3$, 125 MHz) do composto **45b**.

A pureza dos compostos foi mensurada através da análise de HPLC/DAD em equipamento Shimadzu eluída com mistura de MeOH:H₂O (65:35 e 80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18 e detecção em $\lambda = 320$ nm, mostrando pureza de pelo menos 96,6%. Os cromatogramas estão representados na Figura 57.



PeakTable

Name	Ret. Time	Area	Area %	Height %
RT4.483	4.483	168955	1.602	0.864
RT7.231	7.231	190069	1.803	1.824
LC211	8.236	10185537	96.595	97.312
		10544562	100.000	100.000

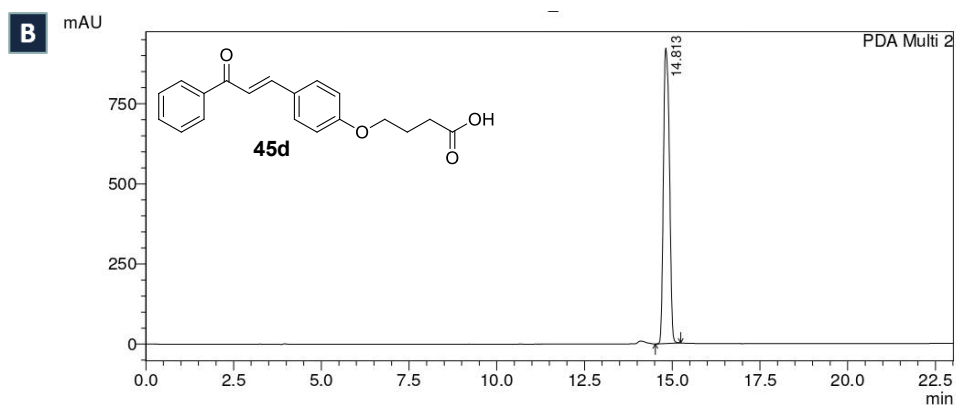


Figura 57: A - Cromatograma de HPLC de **45b** com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluído com MeOH:H₂O (65:35) com 1% de AcOH em coluna C-18. B - Cromatograma de HPLC de **45d** com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluído com MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.

3.7.4 Síntese das chalconas finais da série D

3.7.4.1 Desenvolvimento da rota sintética

Diversas rotas sintéticas foram testadas para obtenção das chalconas da série D. Entretanto, em algum ponto todas elas se mostraram inviáveis. Na Figura 58-A está representada a primeira rota desenvolvida que poderia levar a formação dos produtos desejados em quatro etapas. Partindo do mesmo intermediário utilizado na série A, a primeira reação se dá através da reação de acoplamento cruzado de Buchwald-Hartwig entre **43** e *tert*-butil-carbamato **70**, levando a formação do composto **71**. A presença do grupo BOC em **71** confere uma certa acidez ao hidrogênio ligado ao nitrogênio e essa propriedade foi explorada para realização da reação de alquilação seguinte (KREIN; LOWARY, 2002), visto que não há relatos na literatura¹ de reações de alquilação em derivados anilínicos da chalcona. A reação de alquilação foi realizada entre **71** e 1,2-dibromo-etano **50a** e 1,3-dibromo-propano **50b** utilizando hidreto de sódio como base. Entretanto, houve dificuldade na confirmação da obtenção do produto. Em CCFA, para reação com 1,2-dibromo-etano **50a**, aparentemente não houve formação de produto, pois, no *spot* da reação, só foi observada uma mancha com mesmo R.F. do produto de partida **71**. A não reação com 1,2-dibromo-etano **50a** pode ser resultado do grande impedimento estérico entre ambos os reagentes. Por outro lado, para reação com 1,3-dibromo-etano **50b**, observa-se, em CCFA, uma mancha no *spot* da reação acima do produto de partida, indicando que a reação poderia ter ocorrido, apesar de não ter consumido todo reagente inicial. Após diversas tentativas de isolamento desde produto, os espectros de RMN ¹H indicavam que o produto isolado estava impuro, apresentando sinais duplicados tanto em campo baixo, na região dos sinais referentes aos anéis aromáticos, quanto em campo alto, onde deveriam aparecer os sinais referentes à cadeia alquílica. Após diversas tentativas frustradas de otimização da reação e do processo de isolamento desta etapa da rota sintética, optou-se por descartá-la.

Diante das dificuldades para alquilação obtidas na rota anterior, optou-se pelo planejamento de uma rota sintética (Figura 58-B) que não passasse pela etapa de alquilação. A primeira etapa se dá através da reação de acoplamento cruzado de Buchwald-Hartwig ou Ullmann entre **43** e etanolamina **73a** ou propanolamina **73b**, desta forma, a cadeia carbônica

¹ Até o dia 24/01/2021 a busca na base de dados Sci-Finder pela reação utilizando (*E*)-3-(4-aminofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona como reagente e (*E*)-3-(4-((2-bromoetil)amino)fenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona como produto retorna um total de zero resultados.

espaçadora seria incorporada juntamente com a formação do sistema *N*-arilado, desviando assim da reação de alquilação. Após o tempo reacional observou-se que o produto de partida não tinha sido totalmente consumido, mas foi observado em CCFA uma mancha abaixo do produto de partida, condizente com a polaridade esperada do produto **74a-b** e, corroborando para confirmação da obtenção do produto, sob lâmpada UV $\lambda = 365$ nm a mancha apresentada emissão de fluorescência de intensidade característica dos sistemas de chalconas *N*-ariladas obtidas e caracterizadas previamente. Com indícios da formação do produto desejado, várias tentativas foram realizadas para tentar aumentar o consumo do reagente, embora sem sucesso. Mesmo diante de um consumo baixo de produto de partida, foram realizadas diversas tentativas para o isolamento do produto **74a-b**, todas apresentaram rendimentos muito baixos e o produto fora obtido com baixo grau de pureza, dificultando assim sua completa caracterização. Ambas as rotas representadas na Figura 53 - A e B possuem reação de acoplamento na primeira etapa, o que inviabiliza as tentativas de otimização das etapas subsequentes, pois necessita de uma grande quantidade de produto de alto valor agregado para realização de testes onde não há garantias de resultados satisfatórios.

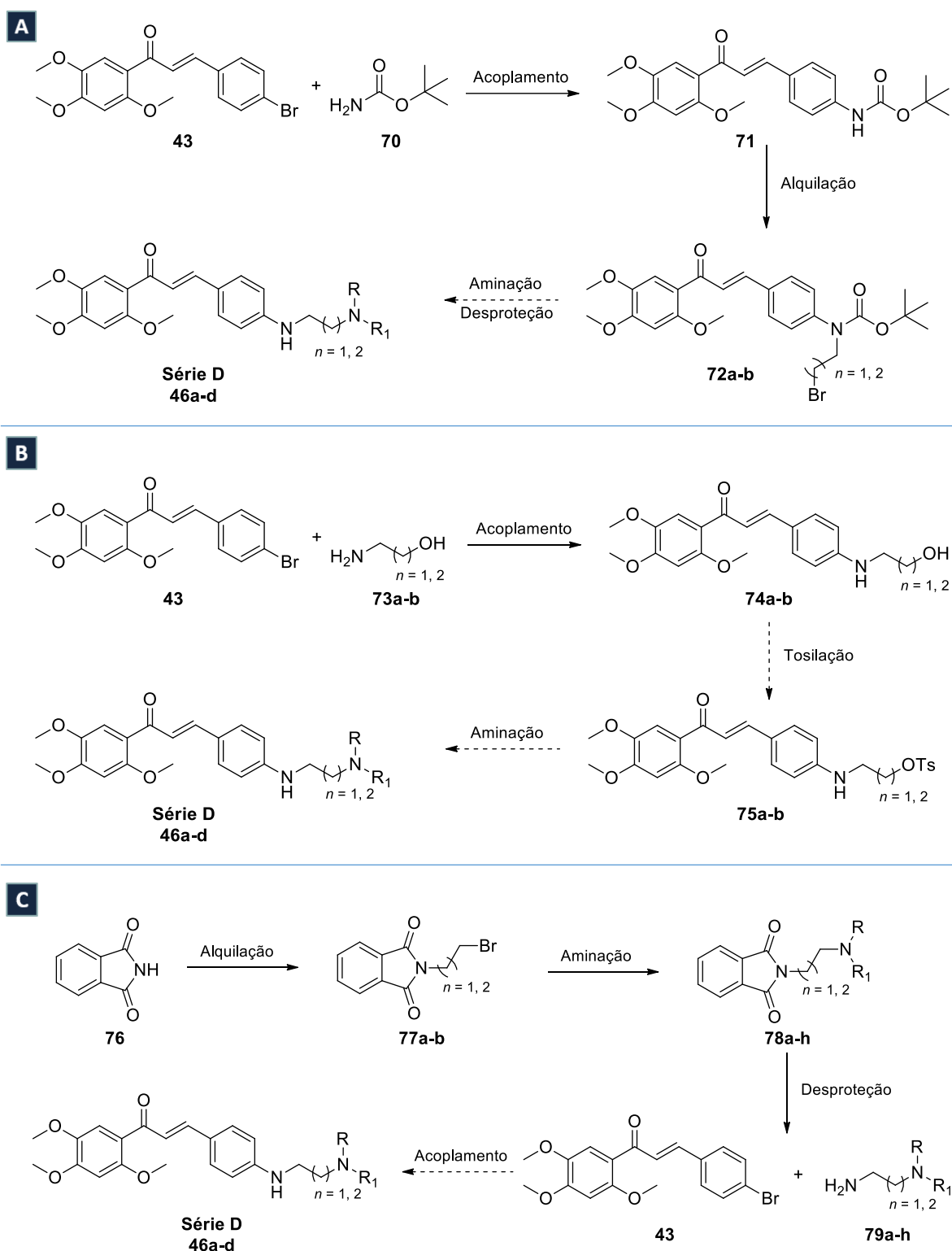


Figura 58: Rotas sintéticas desenvolvidas para obtenção das chalconas da série D.

Acumulando as experiências e resultados obtidos nas duas primeiras rotas sintéticas, planejou-se a rota descrita na Figura 58-C, na qual a reação de acoplamento está localizada na

última etapa. A nova rota sintética se baseia na síntese de Gabriel de aminas monossustituídas (GIBSON; BRADSHAW, 1968) onde, na primeira etapa, a ftalimida **76** é alquilada com 1,2-dibromo-etano **50a** e 1,3-dibromo-propano **50b** seguido da etapa de aminação do produto obtido anteriormente. A etapa de desproteção da ftalimida do composto **78a-h** é muito bem descrita na literatura, entretanto, como o composto **79a-h** não possui cromóforos, não foi possível acompanhar o andamento da reação via CCFA revelada em lâmpada UV. Em pose do produto obtido na etapa anterior realizou-se a última etapa e o acompanhamento da reação foi feito por CCFA. Decorrido o tempo normalmente utilizado para as reações de Buchwald-Hartwig realizadas anteriormente a CCFA mostrava que pouco consumo do produto de partida **43**, mas era possível observar uma mancha próximo a origem com fluorescência em UV $\lambda = 354$ nm característica, apesar da presença de outros subprodutos com R.F. bem próximos sem a mesma tonalidade na fluorescência. Após mais algumas horas, não houve variação perceptível no consumo do reagente. Embora sem êxito, algumas tentativas de isolamento foram realizadas. A grande dificuldade durante o isolamento por coluna de fase normal desses compostos é a presença de um grupamento amino básico na cadeia lateral, capaz de interagir fortemente com a sílica da fase estacionária. Tal cenário é agravado pelos possíveis subprodutos provenientes da adição de aza-Michael **80a-b** (Figura 59) (VINOGRADOV; TUROVA; ZLOTIN, 2019), no qual encontra-se presente o mesmo grupamento amino básico responsáveis pela grande afinidade com a fase estacionária, tornando muito difícil a separação dos compostos.

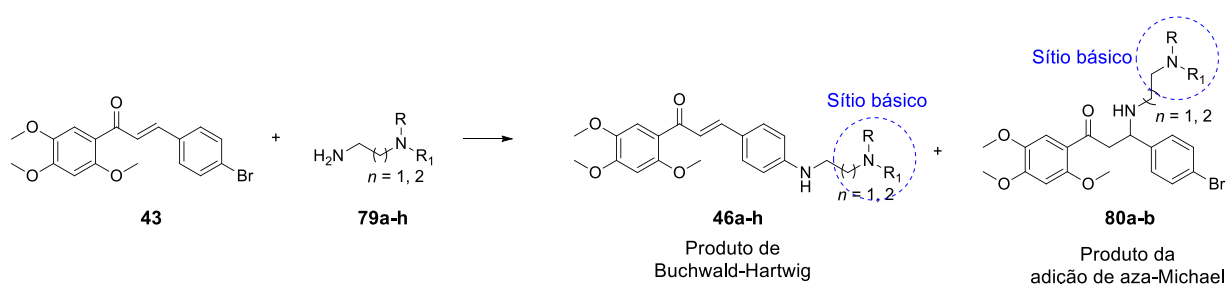


Figura 59: Possíveis produtos formados na etapa final da rota sintética representada na Figura 58-C.

Após uma busca na literatura para rotas sintéticas para obtenção das chalconas da série D identificou-se o trabalho de Morita e colaboradores que descreveram uma via sintética para obtenção de *N*-aril-1,2-etileno-diaminas a partir de derivados anilínicos passando pelo intermediário *N*-aril-oxazolidin-2-ona (MORITA et al., 2007). Lançando mão desta estratégia, elaborou-se a rota sintética descrita na Figura 60.

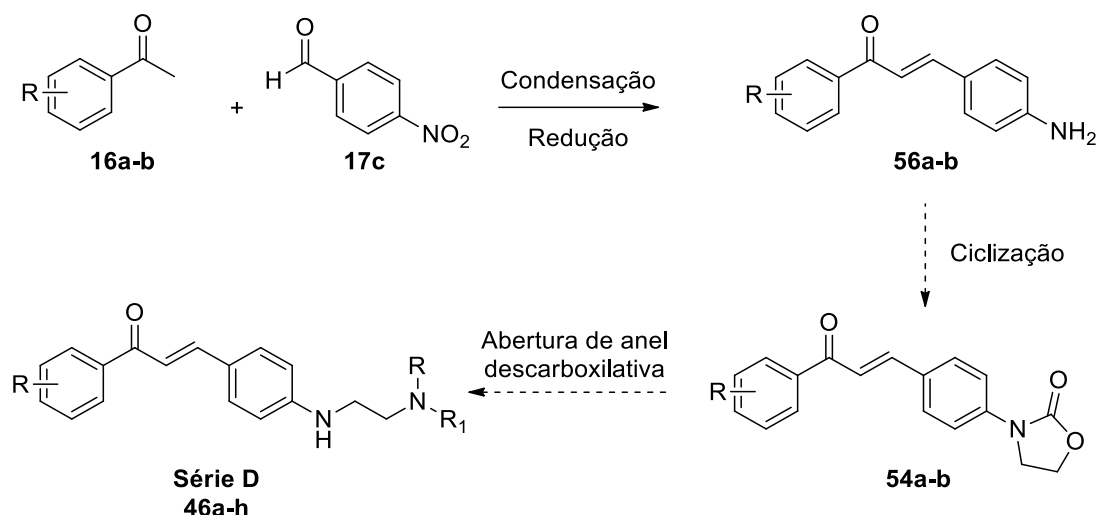


Figura 60: Rota sintética alternativa para obtenção das chalconas da série D.

Esta reação é bastante útil para obtenção de sistemas *N*-aril-1,2-etileno-diaminas, pois consegue contornar a dificuldade de realizar alquilações em análogos da anilina. Na Figura 61 está representado o esquema de intermediários simplificado para etapa crucial desta reação. A utilização do reagente cloroformiato de cloro-etila **55** possibilita a “alquilação” através de duas etapas. Primeiramente ocorre um ataque eletrofílico dos pares de elétrons não ligantes do nitrogênio da amino-chalcona **56a-b** ao centro eletrofílico presente na carboxila do cloroformiato de cloro-etila **55**, realizando, desta forma, uma S_NAc , em detrimento do ataque ao centro eletrofílico presente no carbono sp^3 ligado diretamente ao cloro, que seria uma reação do tipo S_N2 . Após esta primeira etapa há a formação de um intermediário 2-cloro-etil-carbamato (*i*). A acidez do nitrogênio da função carbamato é explorada nesta etapa onde, pela utilização de uma base, ocorre a desprotonação e a formação do ânion correspondente (*ii*). Este ânion, por sua vez, é nucleofílico o suficiente para realizar uma alquilação intramolecular através da reação do tipo S_N2 com o centro eletrofílico presente no carbono sp^3 ligado ao cloro, formando, ao final, a *N*-aril-oxazolidin-2-ona **54a-b** desejada. Por fim a *N*-aril-oxazolidin-2-ona **54a-b** é submetida a condições reacionais favoráveis à abertura de anel descarboxilativa e fornece as *N*-aril-1,2-etileno-diaminas (MORITA et al., 2007).

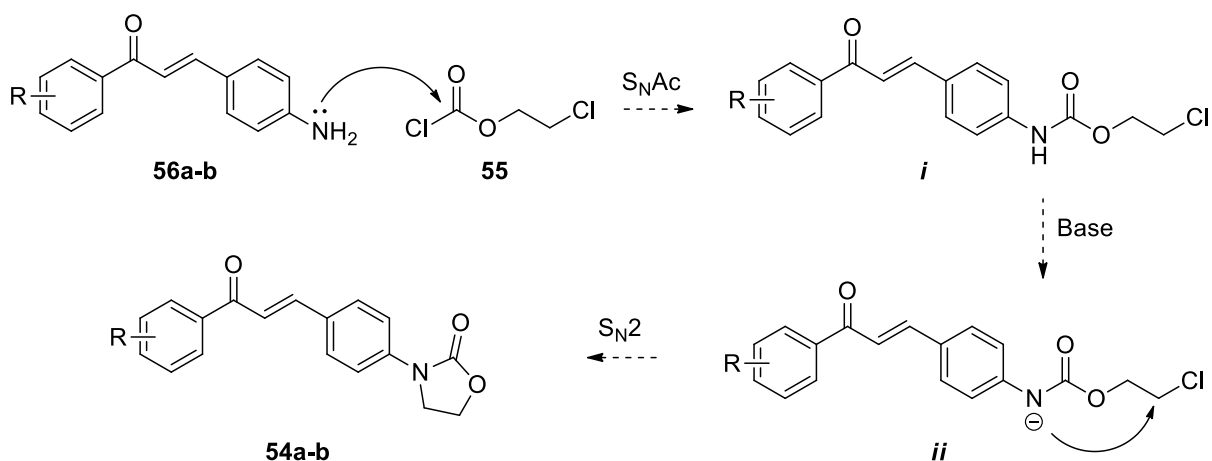


Figura 61: Esquema de intermediários simplificado para obtenção da *N*-aril-oxazolidin-2-ona **54a-b** a partir da amina-chalcona **56a-b**.

Devido a interrupção das atividades imposta pela pandemia de SARS-CoV-2 não foi possível prosseguir com as reações da nova rota sintética para obtenção das chalconas finais da série D. As amina-chalconas **56a-b** foram os intermediários mais avançados obtidos nesta série.

3.7.5 Síntese das chalconas finais da série E

As chalconas finais da série E **59a-d** foram obtidas através da reação tipo S_N2 entre a α -bromo-acetamida-chalcona **60** e diversas aminas secundárias **35** em tetraidrofurano na presença de carbonato de potássio à 60°C durante doze horas (Figura 62) (KIMURA et al., 2011), levando a formação das chalconas finais na forma de sólidos coloridos e rendimento que variaram de 49-57% (Tabela 8).

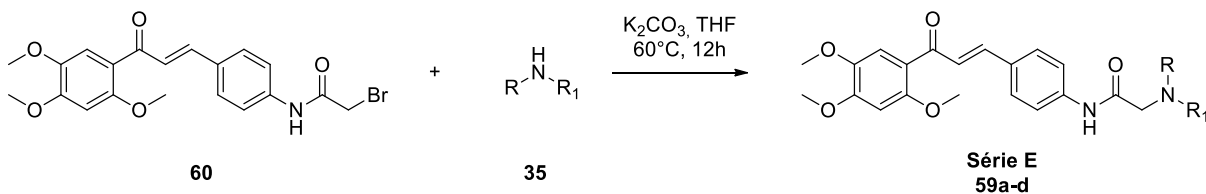


Figura 62: Reação de obtenção das chalconas finais da série E.

Tabela 8: Rendimento da reação de obtenção das chalconas finais da série E.

Composto ^a	RNR ₁	Rendimento ^b (%)
59a	Piperidina	49
59b	Morfolina	57
59c	Pirrolidina	53
59d	Dietilamina	51

^a derivados não caracterizados; ^b bruto

O mecanismo proposto (CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340) (Figura 63) inicia-se pelo ataque nucleofílico dos pares de elétrons não ligantes do nitrogênio da amina secundária **35** ao centro eletrofílico presente no carbono sp³ ligado ao bromo de **60**. A reação passa pelo estado de transição representado em (i) onde é formada a ligação N-C concomitantemente à clivagem da ligação C-Br. Posteriormente ocorre a liberação do ânion brometo e a formação do intermediário catiônico (ii). Por fim, a amina secundária **35** presente em excesso no meio reacional realiza a desprotonação do intermediário (ii) formando, desta forma, as respectivas chalconas finais da série E **59a-d** e liberando, para o meio, o sal de amônio quaternário.

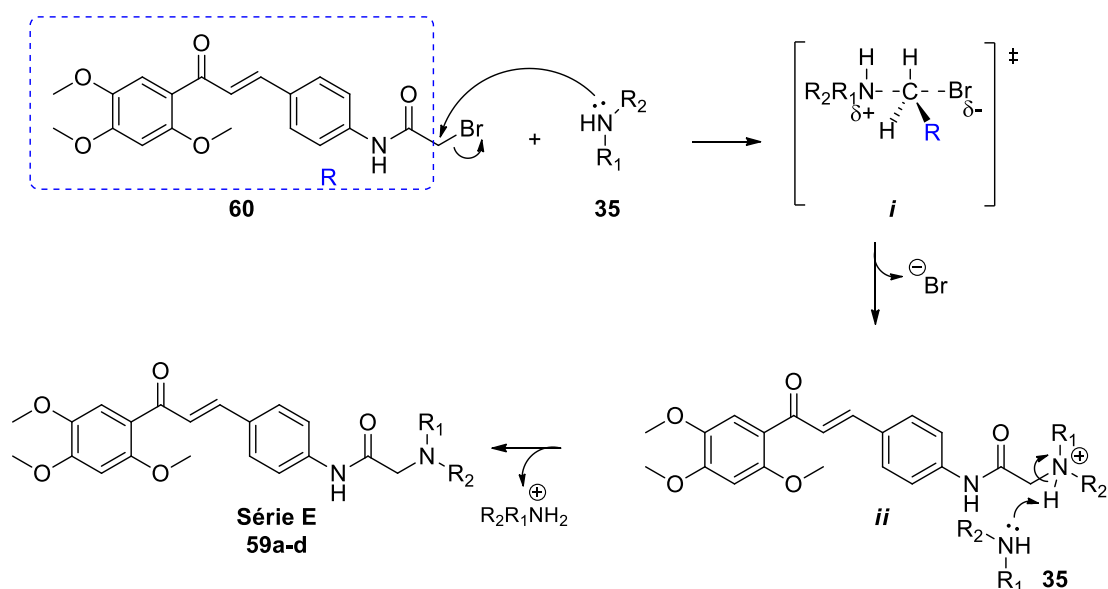


Figura 63: Esquema de intermediários para síntese das chalconas finais da série E (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).

A obtenção do derivado **59e** se deu através da reação do tipo S_NAc (Figura 64) entre a amino-chalcona **56a** e o cloreto de acetila **62** em meio de trietilamina **81** e diclorometano à temperatura ambiente durante uma hora (WANG et al., 2018). Ao término da reação o produto foi obtido na forma de sólido amarelo com rendimento de 78%.

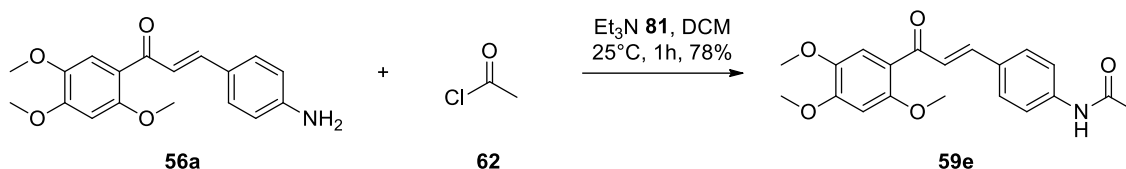


Figura 64: Reação para obtenção da chalcona final **59e** da série E.

O mecanismo para obtenção do composto **59e** ocorre de maneira análoga ao descrito para obtenção das α -bromo-acetamida-chalcona **60** (Figura 35-B). Inicialmente ocorre o ataque nucleofílico dos pares de elétrons não ligantes do nitrogênio da amino-chalcona **56a** ao centro eletrofílico presente no carbono da carboxila do cloreto de acetila **62**, levando a formação do intermediário tetraédrico (*i*). Nesta etapa a trietilamina **81** atua abstraindo o hidrogênio presente no nitrogênio estabilizando a carga positiva e leva a formação do intermediário (*ii*). Os pares de elétrons do oxigênio de (*ii*) reestabelecem a ligação dupla da carboxila formando a chalcona-*N*-acetilada **59e** desejada e, conseqüentemente, a eliminação do íon cloreto (Figura 65).

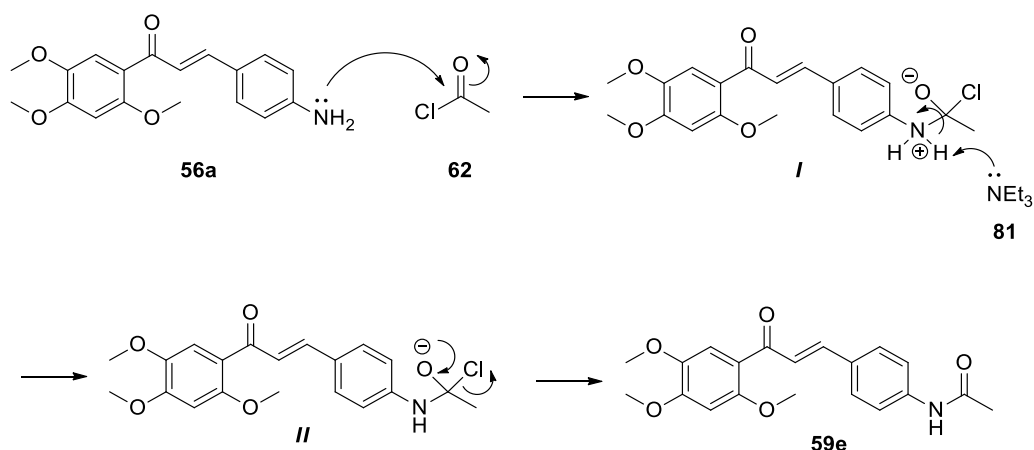


Figura 65: Esquema de intermediários para síntese da chalcona-*N*-acetilada **59e** (Adaptado de CLAYDEN; GREEVES; WARREN, 2012, p. 340).

3.7.5.1 Caracterização espectroscópica da chalcona final da série E

Analisando o espectro de RMN ^1H do composto **59e** (Figura 66) observa-se, em campo alto, o sinal referente aos hidrogênios H_{21} da metila em 2,20 ppm na forma de um simpleto com integração para três hidrogênios (CUI et al., 2014). Os sinais referentes às metoxilas aparecem na região característica, em 3,89, 3,93 e 3,97 ppm, todos na forma de simpletos com integração para três hidrogênios. Observando a região de campo baixo, é possível distinguir somente três sinais: em 6,55 ppm o simpleto com integração para um hidrogênio referente ao H_6 ; em 7,38 ppm encontra-se o simpleto com integração para um hidrogênio referente ao H_3 e, em 7,67 encontra-se o duplete com integração para um hidrogênio e $J = 15,7$ Hz referente ao H_9 . Os demais sinais do núcleo da chalcona, incluindo o hidrogênio ligado ao heteroátomo H_{19} , coalesceram na região de 7,56-7,61 ppm.

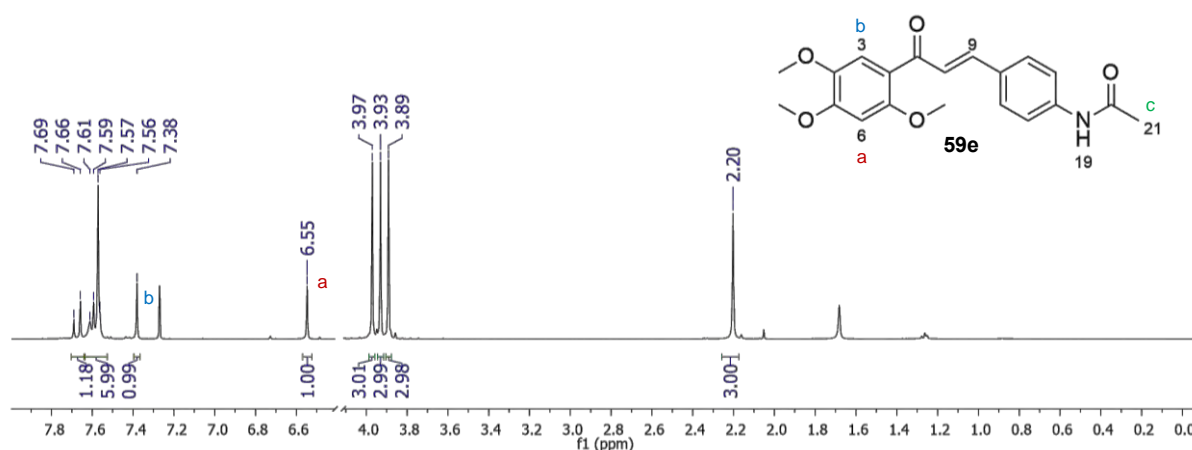


Figura 66: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500MHz) do composto **59e**. A região de 4,1-6,5 ppm foi suprimida.

A pureza dos compostos foi mensurada através da análise de HPLC/DAD em equipamento Shimadzu eluída com mistura de $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18 e detecção em $\lambda = 320$ nm, indicando aproximadamente 98% de pureza. O cromatograma está representado na Figura 67.

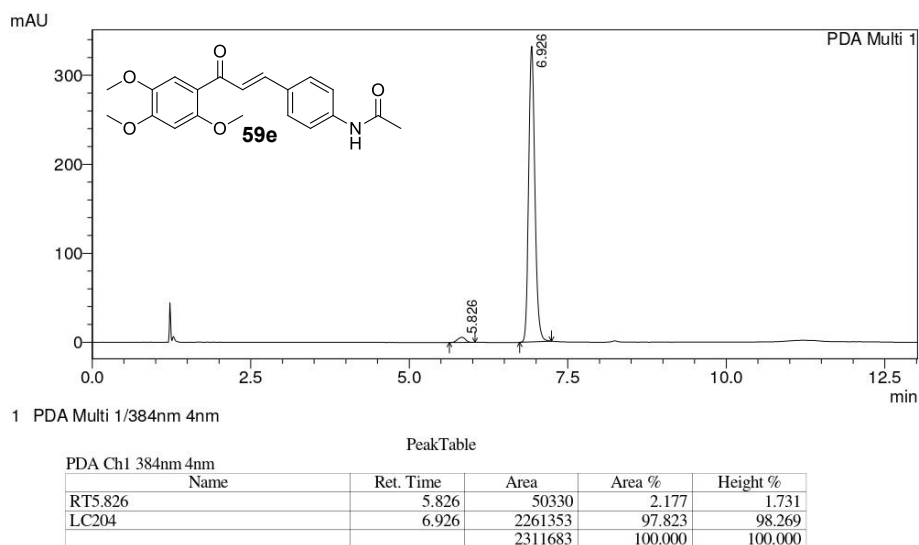


Figura 67: Cromatograma de HPLC de **59e** com detecção em $\lambda = 320$ nm, eluído com MeOH:H₂O (80:20) com 1% de AcOH em coluna C-18.

3.8 Modelagem molecular

Para obter novas informações sobre o modo de interação entre as chalconas das séries A, B, C, D e E, que foram planejadas como possíveis compostos com atividade anti-príon, e o domínio globular da proteína priônica, foram realizados estudos teóricos de *docking* molecular com PrP¹²¹⁻²³¹ (PDB 1AG2).

Para esses estudos de modelagem molecular foi utilizado o programa Autodock versão 4.2.6 com um total de 50 ancoramentos utilizando algoritmo genético Lamarckiano. Primeiramente, visando validar o método utilizado, foi realizado o *docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ e o **GN8** (Figura 78-B) aplicando o método já descrito por Ferreira e colaboradores (FERREIRA et al., 2017) e, após validação, foram realizados os estudos com as chalconas.

Os estudos de modelagem molecular foram realizados considerando que existem dois possíveis estados de protonação da His187, o tautômero neutro His- ϵ e o estado diprotonado His⁺. Estudos mostram que o tautômero His- ϵ é o mais provável em valores neutros de pH, o estado diprotonado His⁺ é predominante em valores de pH < 6,0 (Figura 68) (LI; HONG, 2011). Como os ensaios de atividade anti-príon são realizados em tampão de pH = 7,4, optou-se pela análise do *docking* molecular utilizando o tautômero His- ϵ .

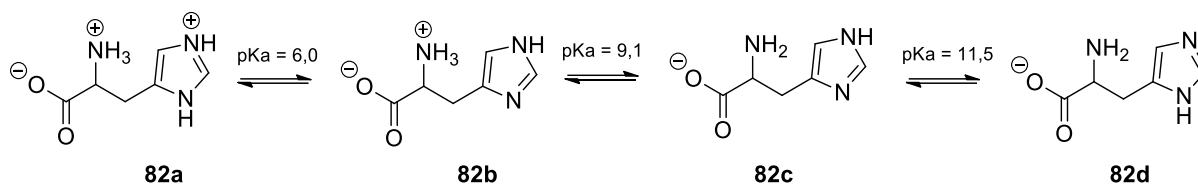


Figura 68: Estados de protonação da histidina (Adaptado de LI; HONG, 2011).

Alguns estudos indicam que moléculas capazes de interagir com os resíduos de Asn159, Gln160, Lys194 e Glu196 podem atuar estabilizando a conformação PrP^C e, desta forma, inibir a formação de PrP^{Sc} (CONCEIÇÃO, 2019; HYEON et al., 2015; ISHIBASHI et al., 2016). Adicionalmente, estudos de mostraram que esta região da PrP^C é pouco estável sendo considerado um “*hot spot*” para conversão conformacional entre a isoforma não infectante para isoforma patogênica (ESPARGARÓ et al., 2015; KUWATA et al., 2002, 2007; MONSELLIER et al., 2008; YAMAMOTO, 2014).

3.8.1 Estudos de *docking* molecular das chalconas da série A

Analisando o perfil de interação (Figura 69) e valores de energia (Tabela 9) entre as chalconas da série A **42a-g** e PrP¹²¹⁻²³¹ obtidos pelo *docking* molecular nota-se que os compostos **42a-c** interagem de forma bem semelhante, realizando interações do tipo ligação hidrogênio entre o oxigênio da carbonila e a cadeia principal dos resíduos de Asn159 e Gln160 com diferenças mínimas nas distâncias. Nestes compostos não foram observadas interações polares da cadeia lateral *N*-arilada, realizando apenas interações apolares com os resíduos de aminoácidos presente na região. Os demais compostos **42d-g** também apresentaram a interação entre a carbonila e a cadeia principal dos resíduos de Asn159 e Gln160. Dentre os compostos com a presença de dois átomos de nitrogênio na cadeia lateral, apenas o **42f** (RNR₁ = piperazina) não realizou interações polares com os resíduos Lys194 e Glu196 como pretendido, enquanto o composto **42g** (RNR₁ = metil-piperazina) realiza uma interação do tipo ligação hidrogênio com o resíduo Lys194 onde o nitrogênio *N*-arilado de **42g** atua como acceptor de ligação hidrogênio e o grupamento amônio da Lys194 atua como doador de ligação hidrogênio. Por outro lado, os compostos **42d-e** foram capazes de interagir com o resíduo de Glu196: **42d** através de uma ligação hidrogênio entre o nitrogênio *N*-arilado da chalcona, que atua como doador de ligação hidrogênio, e o carboxilato da cadeia lateral do Glu194, atuando como acceptor de ligação hidrogênio e **42e** através de uma interação do tipo iônica entre o grupamento

amino ionizado da cadeia lateral da chalcona e o carboxilato presente na cadeia lateral do Glu194.

Analisando os resultados obtidos pelo *docking* molecular das chalconas da série A **42a-g** é possível constatar que a restrição conformacional imposta pelos anéis alifáticos presentes nas cadeias laterais, exceto para **42e**, impede que a estrutura atinja uma conformação favorável para que o grupamento amino ionizável interaja com o resíduo de Glu194. Já **42e** assume uma conformação ideal capaz de realizar a interação com Glu196 como pretendido no planejamento estrutural.

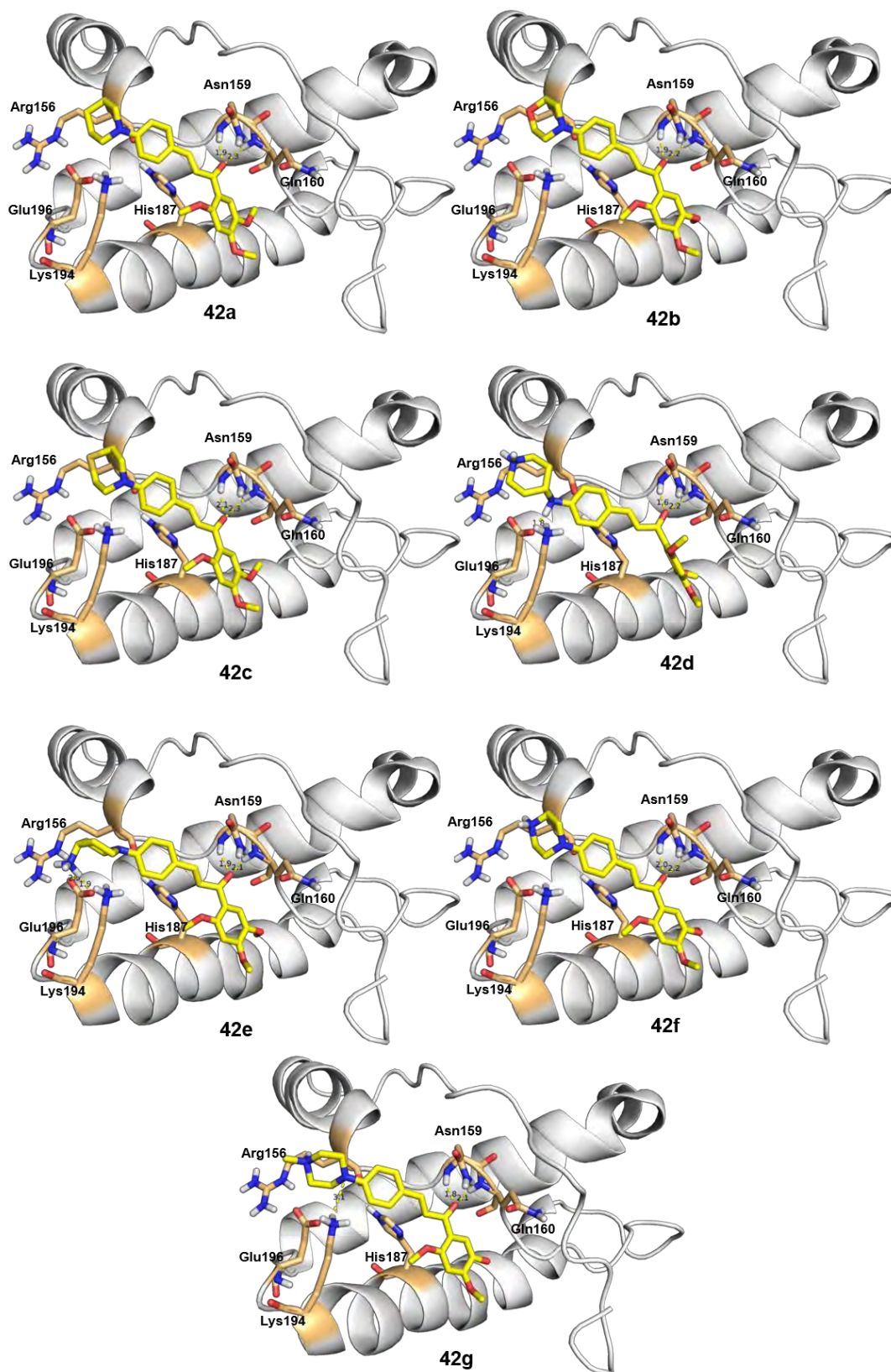


Figura 69: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e as chalconas finais da série A **42a-g** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.

Tabela 9: Valores de energia de ligação obtidos no ancoramento molecular entre as chalconas da série A **42a-g** e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.

Composto	Energia de Ligação ^a (kcal/mol)
J8	-7,08
42a	-7,85
42b	-7,34
42c	-7,29
42d	-7,68
42e	-7,75
42f	-6,94
42g	-7,45

^a valores referentes aos cálculos realizados considerando o tautômero His- ϵ .

Na Figura 70 temos a sobreposição entre o **J8** (em branco) e o derivado **42e** da série A (em amarelo) demonstrando que, como planejado, a inserção de diferentes aminas no esqueleto da chalcona possibilita a interação com o resíduo de Glu196.

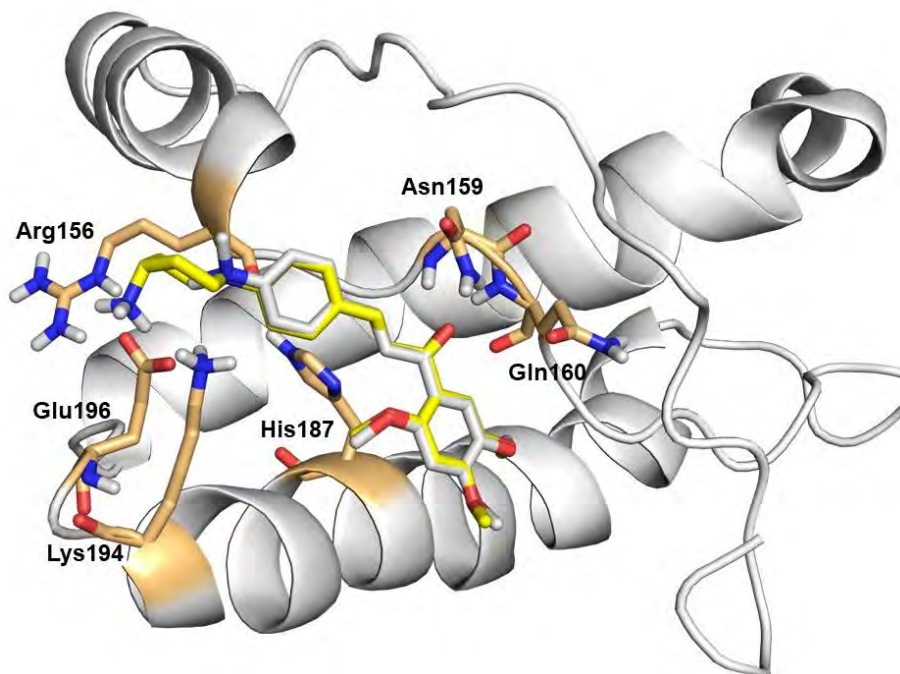


Figura 70: Sobreposição do *docking* molecular entre **J8** (em branco) e **42e** (em amarelo) e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).

3.8.2 Estudos de *docking* molecular das chalconas da série B

Como a série B apresenta maior número de derivados optou-se por representar, nas imagens do *docking* molecular, a sobreposição de quatro derivados em cada imagem divididos em quatro grupos (Figura 71) e suas respectivas energias de ligação estão representadas na Tabela 10.

Na Figura 71-A estão representadas as chalconas **44a-d** cujo R = 2,4,5-trimetoxila e $n = 1$, variando a amina presente na cadeia lateral. Nota-se que o perfil de interação do núcleo da chalcona se mantém semelhante ao obtido para série A e todos os derivados deste primeiro grupo encontram-se praticamente sobrepostos, com diferenças mínimas na região da amina devido aos diferentes substituintes alquila presente. A maior liberdade conformacional da cadeia alifática metilênica possibilitou que os grupamentos amino ionizáveis interagissem com o resíduo de Glu194 através de uma interação iônica, com valores de distância variando de 1,7-2,0 Å (vide Anexo 33-36). Através da comparação dos valores de energia de ligação entre os derivados **42a-g** (Tabela 9) e **44a-p** (Tabela 10) é possível inferir quantitativamente que a liberdade conformacional dos compostos acíclicos da série B se mostrou favorável quando comparado com os derivados cíclicos da série A. O mesmo perfil é observado na Figura 71-B, onde estão representadas as chalconas **44i-l** cujo R = H e $n = 1$, e as interações entre o grupamento amino da cadeia lateral e o resíduo de Glu194 variaram de 1,8-2,1 Å (vide Anexo 40-47).

Na Figura 71-C estão representadas as chalconas **44e-h** cujo R = 2,4,5-trimetoxila e $n = 2$, variando a amina presente na cadeia lateral. O perfil de interação também se mantém o mesmo dos observados nos estudos anteriores, entretanto, a presença de um metileno a mais, comparado com o conjunto representado na Figura 71-A, induz a uma conformação desfavorável. Tal comprimento da cadeia espaçadora implica em uma distância maior entre o grupamento amino ionizável e o resíduo de Glu194 variando de 1,8-3,1 Å, e este efeito desfavorável pode ser mensurado comparando os valores de energia de ligação obtidos para as chalconas com $n = 1$ e $n = 2$ presentes na Tabela 10. Analisando a Figura 71-D, onde estão representados os derivados **44m-p**, e os dados da Tabela 10 nota-se que o comportamento prejudicial da cadeia espaçadora maior é mantido quando se compara ambos os derivados contendo R = H e variando o valor de n . Tais resultados indicam que provavelmente a distância ideal entre os dois heteroátomos da cadeia lateral, nesta série, é de $n = 1$, distância esta que

possibilita a melhor interação entre o grupamento amino ionizável da chalcona com o carboxilato do resíduo de Glu194.

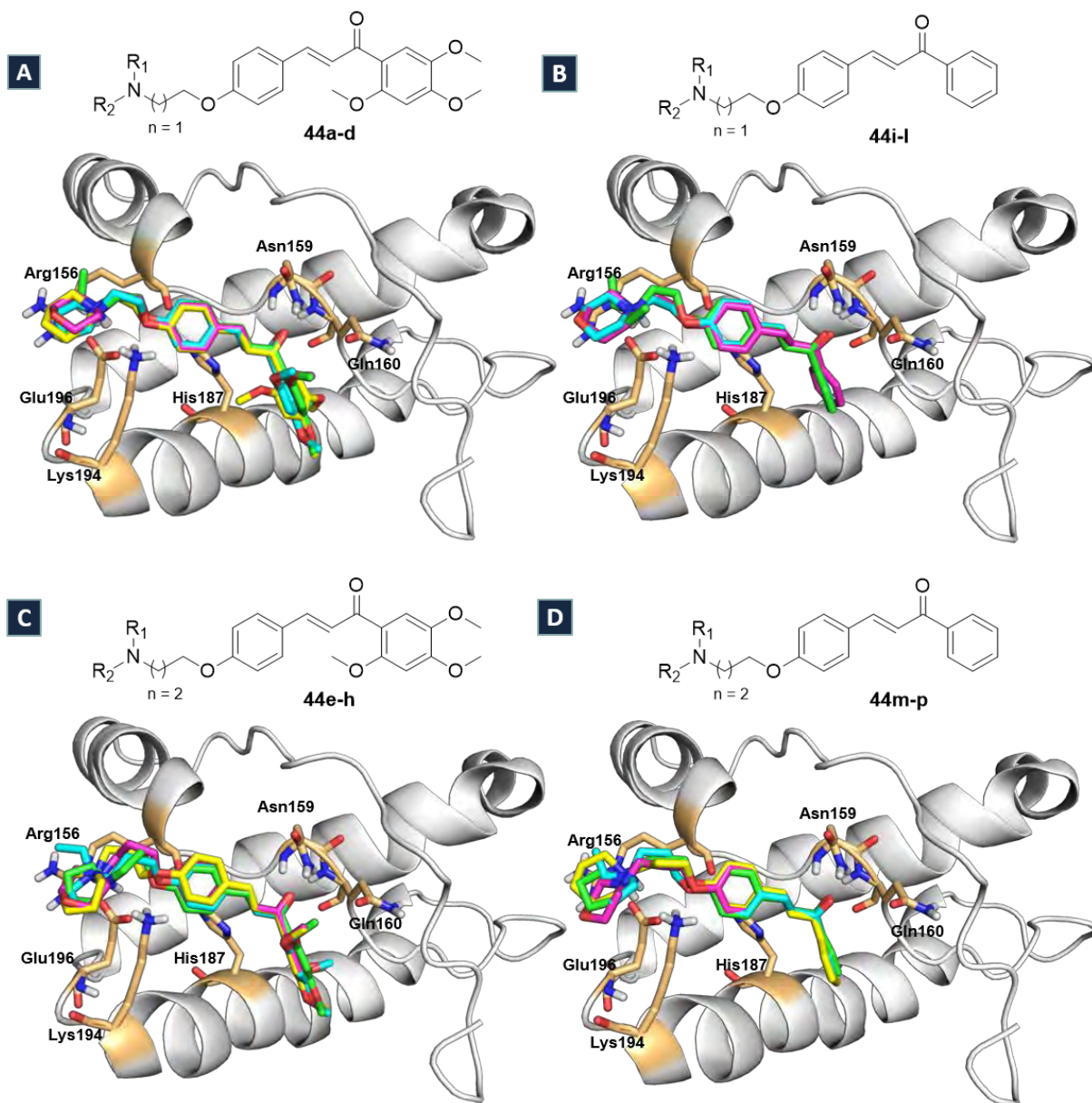


Figura 71: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e as chalconas finais da série B 44a-p utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.

Tabela 10: Valores de energia de ligação obtidos no *docking* molecular entre as chalconas da série B **44a-p** e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.

Composto	R	<i>n</i>	R ₁ NR ₂	Energia de Ligação ^a (kcal/mol)
J8	-	-	-	-7,08
44a	2,4,5-MeO	1	Piperidina	-8,36
44b	2,4,5-MeO	1	Morfolina	-8,15
44c	2,4,5-MeO	1	Pirrolidina	-7,55
44d	2,4,5-MeO	1	Dietilamina	-7,50
44e	2,4,5-MeO	2	Piperidina	-7,63
44f	2,4,5-MeO	2	Morfolina	-7,60
44g	2,4,5-MeO	2	Pirrolidina	-7,48
44h	2,4,5-MeO	2	Dietilamina	-7,07
44i	H	1	Piperidina	-8,36
44j	H	1	Morfolina	-8,25
44k	H	1	Pirrolidina	-7,99
44l	H	1	Dietilamina	-6,92
44m	H	2	Piperidina	-7,65
44n	H	2	Morfolina	-7,40
44o	H	2	Pirrolidina	-8,05
44p	H	2	Dietilamina	-7,35

^a valores referentes aos cálculos realizados considerando o tautômero His-ε.

3.8.3 Estudos de *docking* molecular das chalconas da série C

Analisando os resultados obtidos por *docking* molecular entre as chalconas da série C **45a-d** e PrP¹²¹⁻²³¹ (Figura 72) é possível observar a interação pretendida entre o grupamento aniônico presente na cadeia lateral da chalcona e o resíduo de Lys194. Tal interação iônica está presente nos quatro derivados da série e os valores de energia de ligação (Tabela 11) obtidos não apresentam diferença significativa a ponto de sugerir, como observado na série anterior, qual valor de *n* mais favorável e, por outro lado, sugere que os derivados **45c-d** com R = H interagem de forma mais eficiente quando comparado com os derivados **45a-b** com R = 2,4,5-trimetoxila.

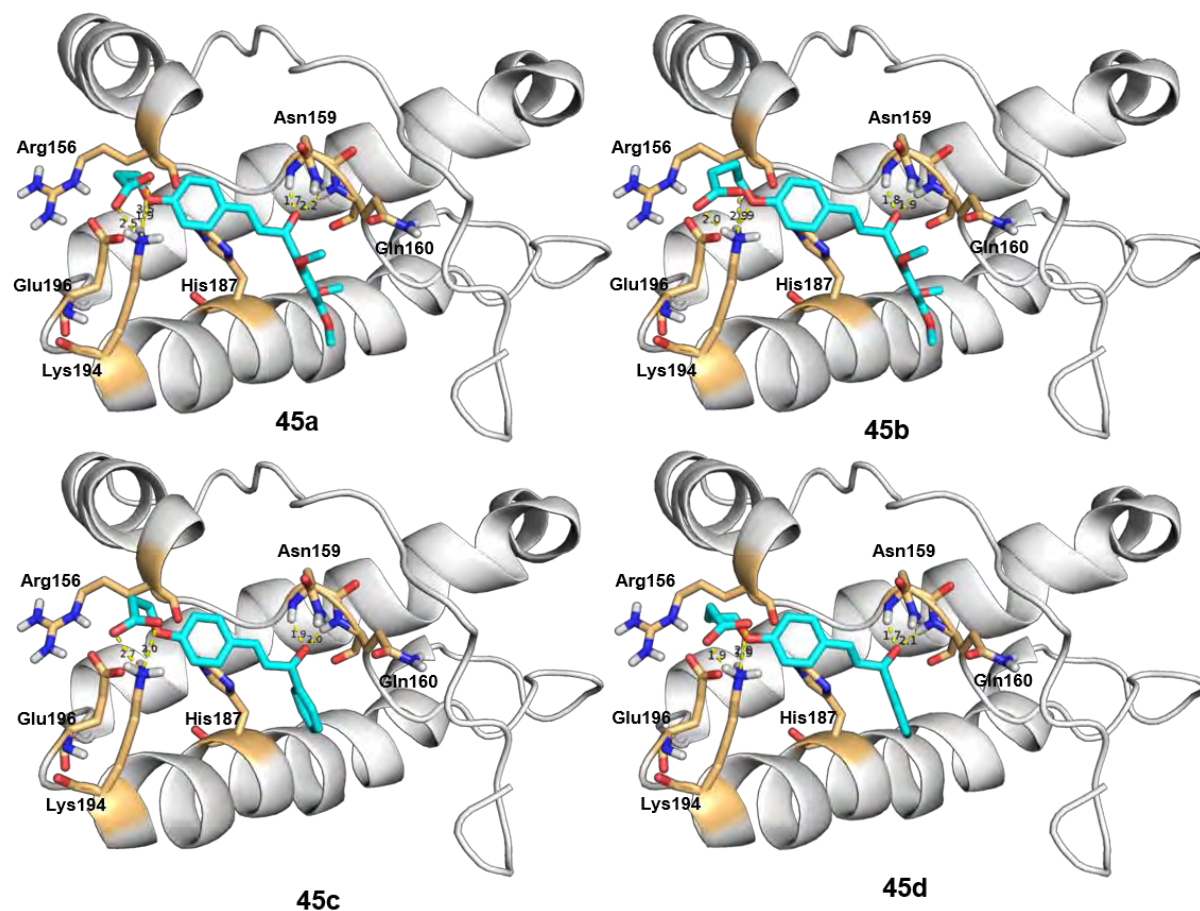


Figura 72: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e as chalconas finais da série C **45a-d** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalconas e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.

Tabela 11: Valores de energia de ligação obtidos no *docking* molecular entre as chalconas da série C **45a-d** e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.

Composto	R	<i>n</i>	Energia de Ligação ^a (kcal/mol)
J8	-	-	-7,08
45a	2,4,5-MeO	1	-7,63
45b	2,4,5-MeO	2	-7,59
45c	H	1	-7,74
45d	H	2	-7,75

^a valores referentes aos cálculos realizados considerando o tautômero His- ϵ

Na Figura 73 encontra-se a sobreposição da chalcona **44a** da série B e a chalcona **45a** da série C. O resultado de modelagem corrobora com o planejamento racional no desenvolvimento das séries e indica que a inserção de um grupamento catiônico leva a uma interação com o resíduo de Glu196, enquanto a presença de um grupamento aniônico a uma interação com o resíduo de Lys194.

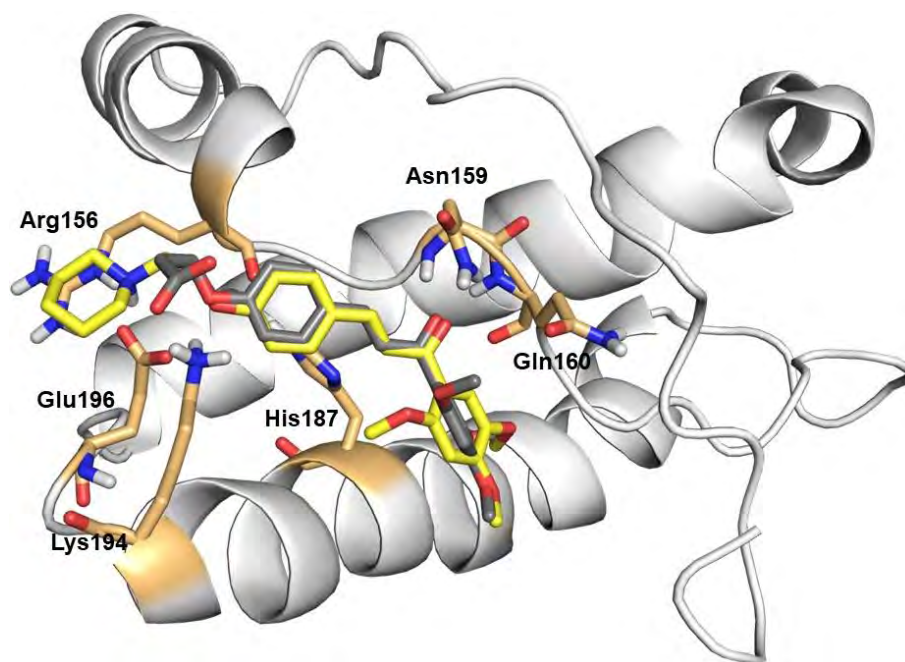


Figura 73: Sobreposição do *docking* molecular entre **44a** da série B (em amarelo) e **45a** da série C (em cinza) e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).

3.8.4 Estudos de *docking* molecular das chalconas da série D

Analisando os resultados obtidos de *docking* molecular entre as chalconas da série D **46a-h** e PrP¹²¹⁻²³¹ (Figura 74) nota-se que o perfil de interação é semelhante aos observados nas séries anteriores. Analisando os dados da Tabela 12 é possível notar que os derivados **46e-h** cujo R = H apresentaram valores de energia de ligação inferiores aos seus análogos **46a-d** possuindo R = 2,4,5-trimetoxila, mantendo a mesma tendência observada para os compostos da série C.

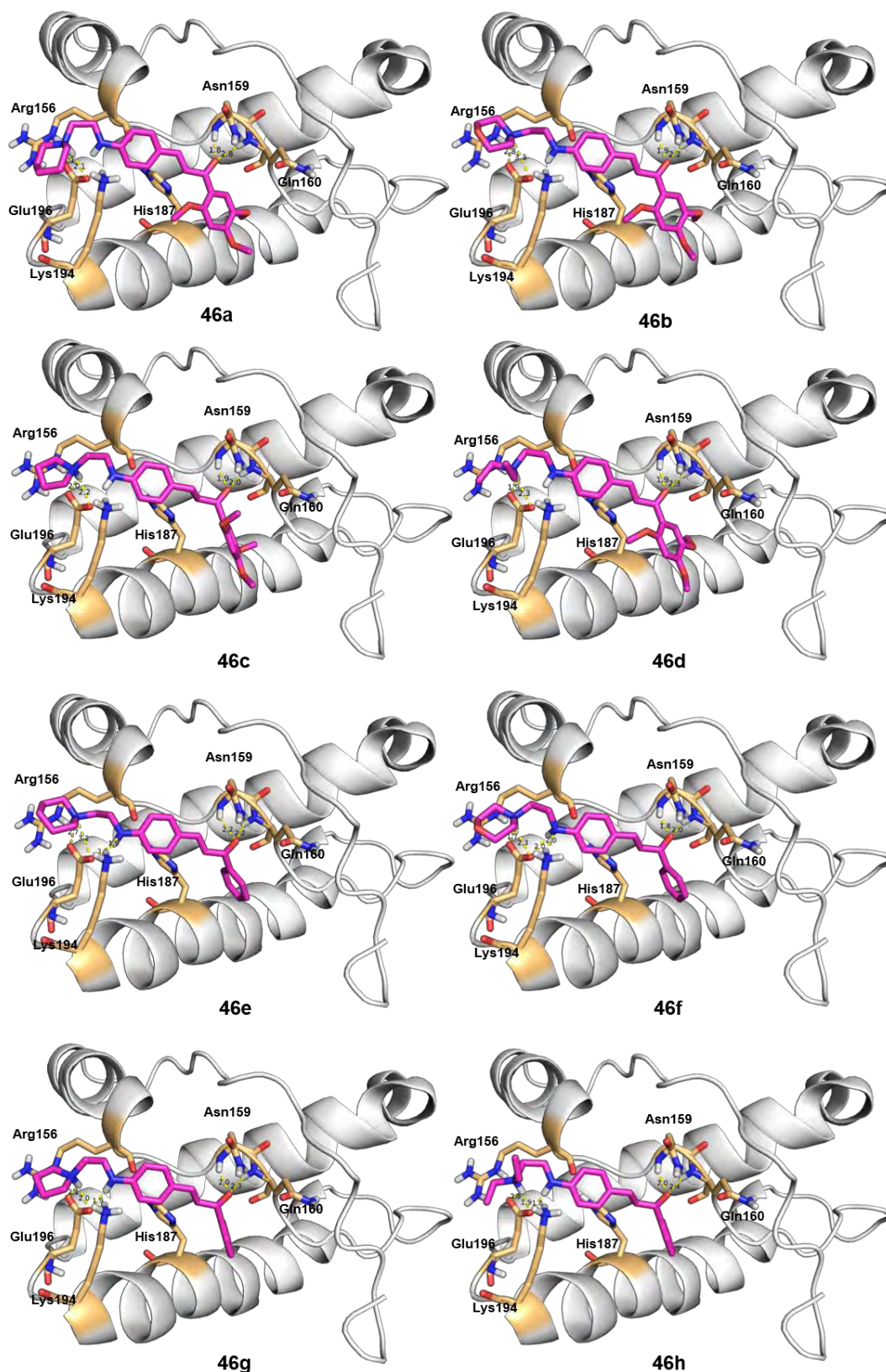


Figura 74: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e as chalconas finais da série D **46a-h** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.

Tabela 12: Valores de energia de ligação obtidos no *docking* molecular entre as chalconas da série D **46a-h** e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.

Composto	R	R ₁ NR ₂	<i>n</i>	Energia de Ligação ^a (kcal/mol)
J8	-	-	-	-7,08
46a	2,4,5-MeO	Piperidina	1	-8,14
46b	2,4,5-MeO	Morfolina	1	-7,95
46c	2,4,5-MeO	Pirrolidina	1	-7,94
46d	2,4,5-MeO	Dietilamina	1	-7,15
46e	H	Piperidina	1	-8,66
46f	H	Morfolina	1	-8,64
46g	H	Pirrolidina	1	-8,49
46h	H	Dietilamina	1	-7,63

^a valores referentes aos cálculos realizados considerando o tautômero His-ε.

Na Figura 75 observa-se que o modo de interação da chalcona **46a** da série D é muito similar com o análogo **44a** da série B, mostrando que a utilização da estratégia de bioisosterismo clássico possivelmente não mudará o modo de interação. Vale ressaltar que, apesar do estudo de *docking* molecular indicar que os derivados isósteros interagirão de forma similar, a alteração das propriedades físico-químicas pela troca do átomo de O por NH poderá alterar o perfil farmacocinético e resultar em valores de atividade bem distintos (BARREIRO; FRAGA, 2014, p. 275).

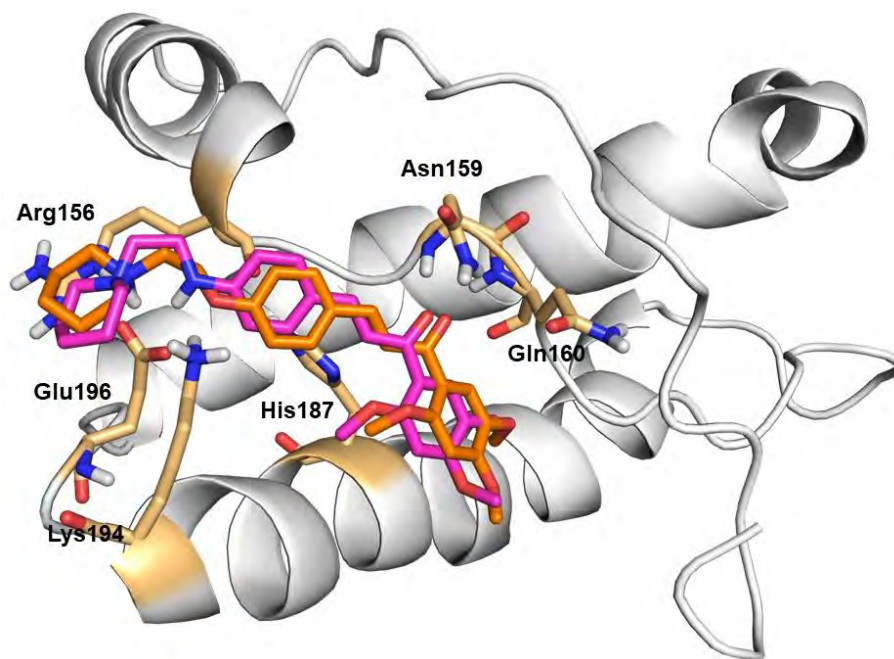


Figura 75: Sobreposição do *docking* molecular entre **44a** da série B (em laranja) e **46a** da série D (em rosa) e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).

Vale ressaltar que os derivados desta série **46e-g** apresentaram os maiores valores de energia de ligação (Tabela 12) sendo -8,66 kcal/mol para **46e**, -8,64 kcal/mol para **46f** e 8,49 kcal/mol para **46g**, e estes valores podem sugerir que estes compostos apresentem atividade biológica superior aos demais. Analisando a imagem através da superfície de Van der Waals (Figura 76) é possível notar uma boa complementariedade entre as chalconas **46e-g** e a superfície da proteína, interagindo com a região A, mais hidrofóbica, e a região B, região mais hidrofílica da proteína onde estão localizados os resíduos de aminoácidos ionizáveis, região denominada como “*hot spot*” crucial para o processo de mudança conformacional entre a isoforma normal e a isoforma infectante (ESPARGARÓ et al., 2015; KUWATA et al., 2002, 2007; MONSELLIER et al., 2008; YAMAMOTO, 2014).

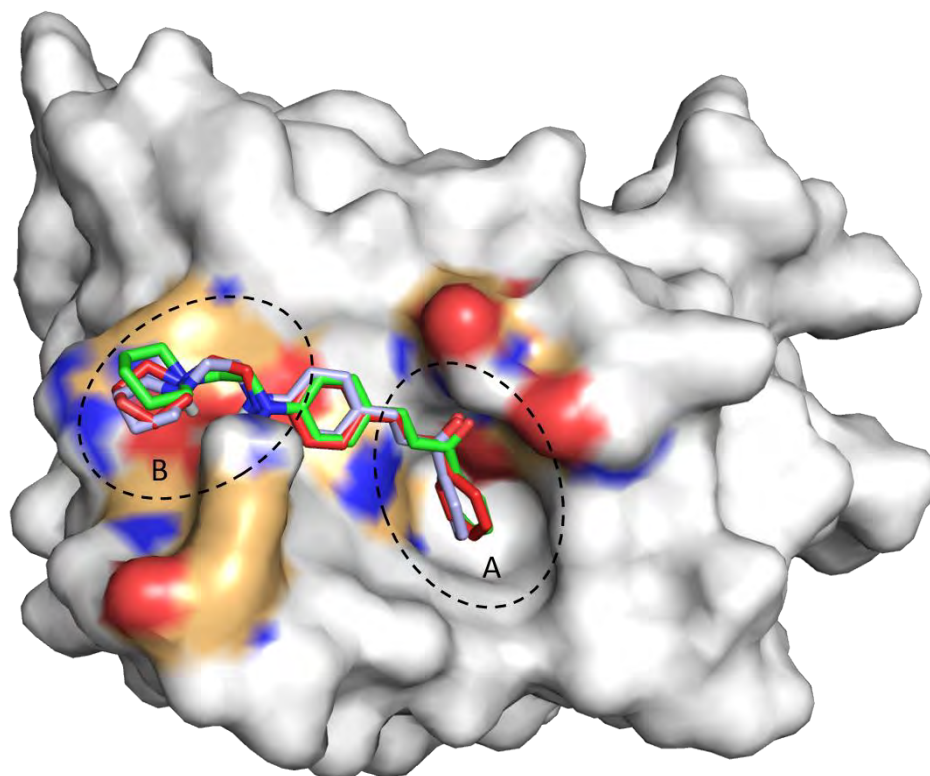


Figura 76: Visualização da superfície de Van der Waals do *docking* molecular entre **46e** (em verde), **46f** (em vermelho) e **46g** (em azul) e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x).

3.8.5 Estudos de *docking* molecular das chalconas da série E

Analisando os resultados obtidos de *docking* molecular entre as chalconas da série E **59a-d** e PrP¹²¹⁻²³¹ (Figura 77) nota-se que a região no núcleo da chalcona se apresenta de uma forma muito semelhante para todos os derivados, entretanto a região da cadeia lateral apresentou conformações distintas. Dentre os quatro derivados destaca-se o **59b** que, devido à conformação estabelecida, conseguiu realizar uma interação do tipo ligação hidrogênio entre o NH da amida e o resíduo de Glu196, interação essa não observada nos demais e pode ser responsável pelo menor valor de energia de ligação (Tabela 13) calculado para este composto (-8,31 kcal/mol).

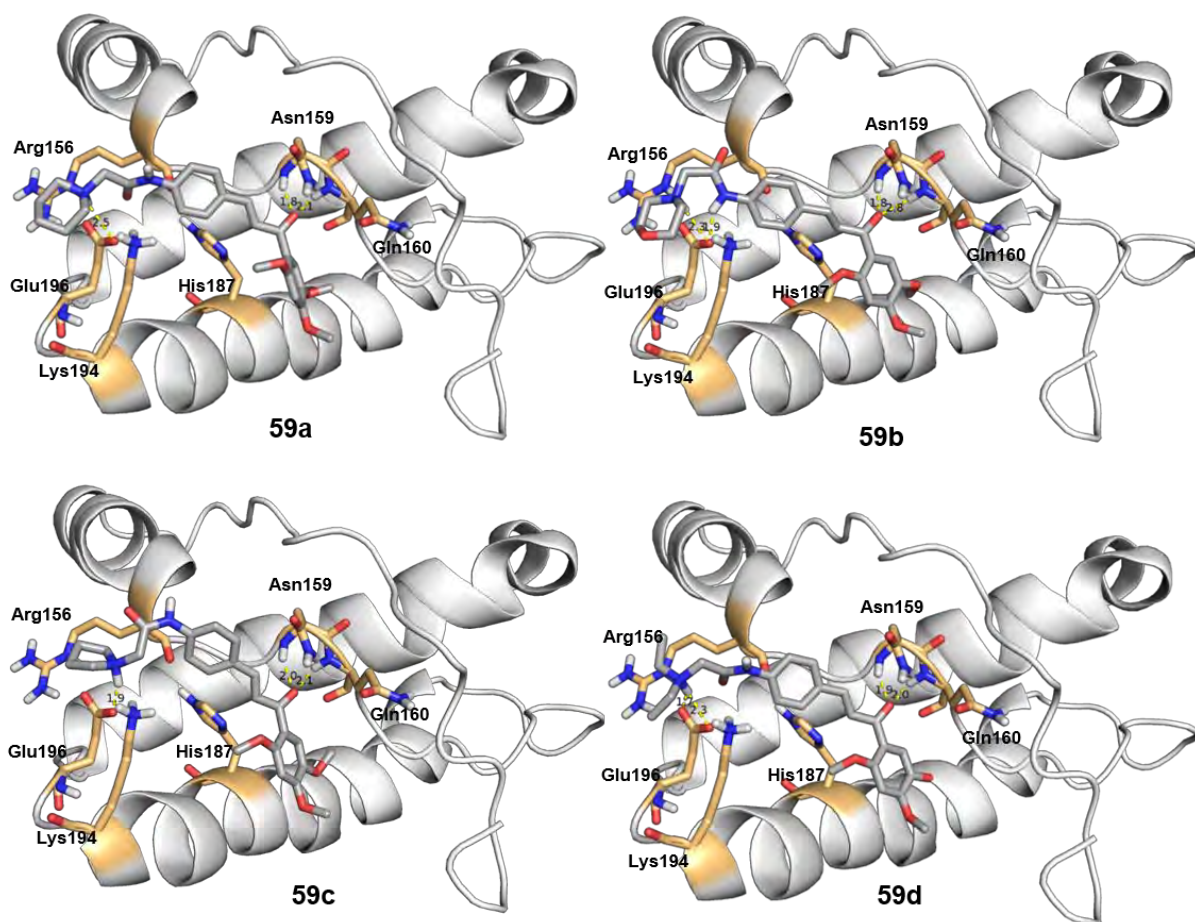


Figura 77: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e as chalconas finais da série E **59a-d** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre as chalconas e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.

Tabela 13: Valores de energia de ligação obtidos no *docking* molecular entre as chalconas da série E **59a-d** e PrP¹²¹⁻²³¹ utilizando software AutoDock (4.2.6) e algoritmo genético Lamarckiano.

Composto	RNR ₁	Energia de Ligação (kcal/mol)
J8	-	-7,08 ^a
GN8	-	-8,83 ^b
59a	Piperidina	-8,21 ^a
59b	Morfolina	-8,31 ^a
59c	Pirrolidina	-7,47 ^a
59d	Dietilamina	-7,68 ^a

^a valores referentes aos cálculos realizados considerando o tautômero His- ϵ ; ^b considerando His⁺.

Na Figura 78-A encontra-se a representação do *docking* molecular da chalcona **59b** da série E (-8,31 kcal/mol), enquanto na Figura 78-B está representado o *docking* molecular do **GN8**, um dos protótipos utilizados para elaboração da série híbrida. Não foi possível realizar uma comparação quantitativa direta dos valores de energia de ligação entre o **GN8** e a chalcona **59b** com a PrP¹²¹⁻²³¹, pois o parâmetro do estado de protonação da His187 adotado era diferente em ambos experimentos (His-ε para **59b** e His⁺ para **GN8**). Entretanto, foi possível fazer uma análise qualitativa do modo de interação da cadeia lateral de **39b** que foi capaz de interagir com o resíduo de Glu196, semelhante ao **GN8**, como desejado durante o planejamento estrutural.

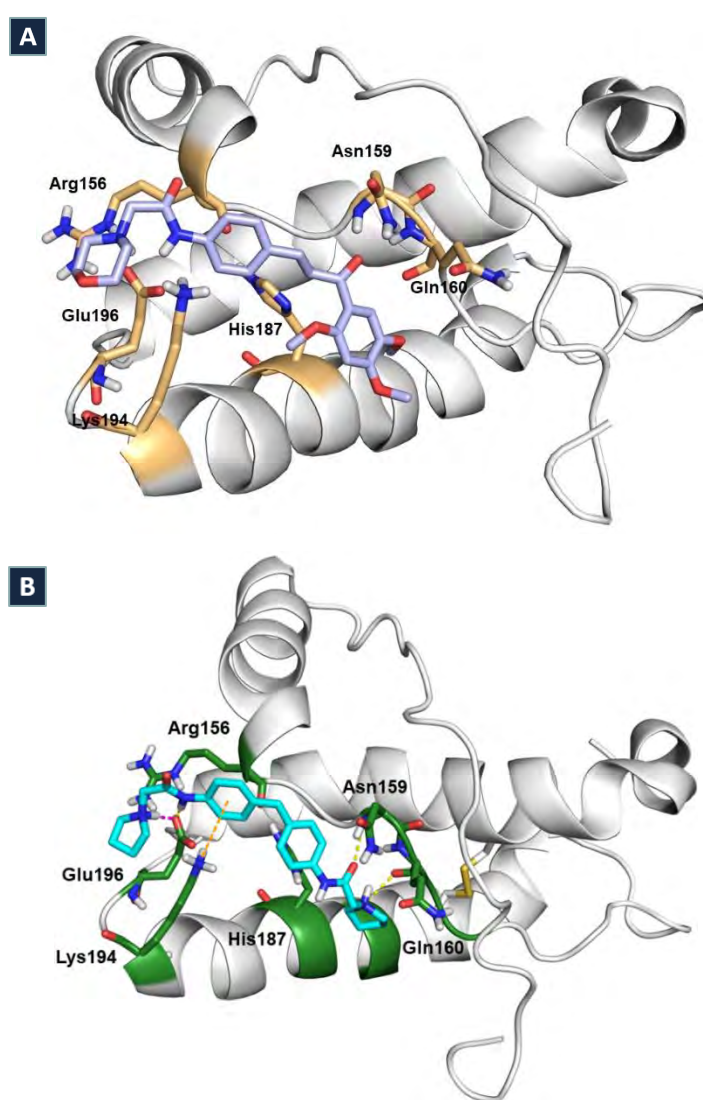


Figura 78: A – *Docking* molecular entre **59c** da série E e PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). B – *Docking* molecular entre **GN8** e PrP¹²¹⁻²³¹ (His⁺) utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x)

3.9 Avaliação biológica das chalconas da série A

Os ensaios de citotoxicidade e avaliação da inibição priônica dos compostos da série A **42a-g** foram realizados em parceria com a Doutora Natália do Carmo Ferreira sob coordenação do Doutor Byron Caughey no *Laboratory of Persistent Viral Diseases, Rocky Mountain Laboratories, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, EUA*.

Nos primeiros ensaios biológicos descritos nesta sessão foram utilizados os derivados **42d-g** em sua forma neutra, obtidos a partir da reação de Buchwald-Hartwig seguido da desproteção com TFA e neutralização. Como relatado anteriormente, indícios de degradação foram observados para estes compostos com o passar do tempo. Entretanto, as análises de HPLC/DAD (Figura 48) demonstraram que, apesar das amostras apresentarem degradação, os derivados possuíam pureza mínima >95%, valor aceitável para realização destes ensaios biológicos. Vale destacar também que as degradações eram observadas com o tempo e os ensaios foram sempre realizados com amostras recentemente preparadas.

O ensaio de viabilidade celular de redução do MTT (Figura 79) foi realizado como descrito por Ferreira e colaboradores (FERREIRA et al., 2014, 2017) utilizando células de neuroblastoma N2a infectadas com a cepa 22L de PrP^{Sc} (adaptada para camundongo) e com cepa RML (*Rocky Mountain Laboratories*) de PrP^{Sc} derivada de ovelhas com *scrapie*. Analisando os ensaios utilizando células N2a infectadas pela cepa 22L nota-se que nenhuma das chalconas reduziu de forma significativa a viabilidade celular na concentração de 10 µM, não apresentando efeitos citotóxicos. Já em células infectadas com a cepa RML apenas a chalcona **42e** se mostrou citotóxica neste experimento. Em repetições posteriores não houve significativa redução da viabilidade celular (resultados não mostrados).

Redução de MTT

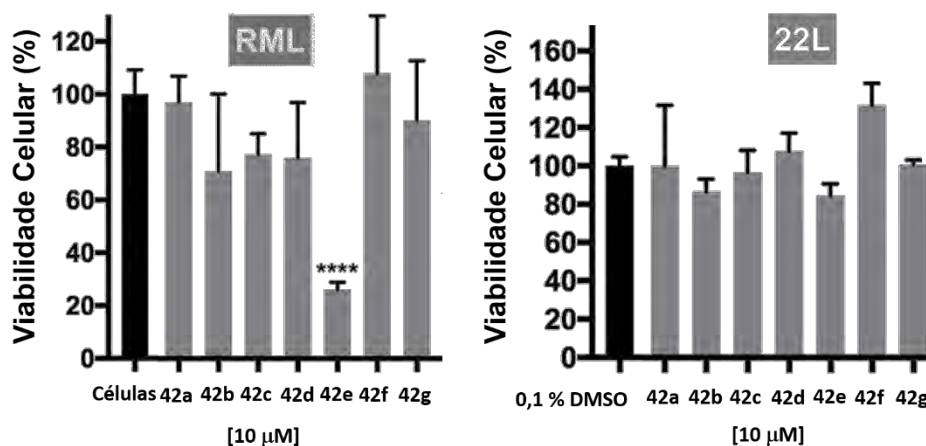


Figura 79: Avaliação da citotoxicidade pela redução de MTT em células de neuroblastoma N2a na presença das chalconas da série A **42a-g** na concentração de 10 µM.

Também foi avaliado o efeito dos compostos na acumulação de PrP^{Res} nas células de ScN2a-RML e ScN2a-22L (Figura 80) seguindo o protocolo descrito por Ferreira e colaboradores (FERREIRA et al., 2014, 2017). Dentre os derivados da série A, as chalconas **42a-c** não foram capazes de inibir significativamente a conversão de PrP^C em PrP^{Sc} na concentração de 10 µM. Por outro lado, todas as chalconas que possuíam dois nitrogênios na cadeia lateral **42d-g** reduziram significativamente os níveis de PrP^{Res} na mesma concentração, sugerindo que o segundo nitrogênio atua de forma crucial para a inibição da conversão (Figura 80-A). Na Figura 75-B encontra-se o comparativo entre a capacidade inibitória do protótipo **J8** e as chalconas **42d-g** em ambas as cepas infectadas (RML e 22L) e é possível observar que as chalconas **42d-g** foram equipotentes em cepa RML e muito mais efetivas que o **J8** quando analisada a cepa 22L, demonstrando assim que o planejamento estrutural foi assertivo e as chalconas desenvolvidas neste trabalho são entidades químicas promissoras para o desenvolvimento de terapias para doença priônica.

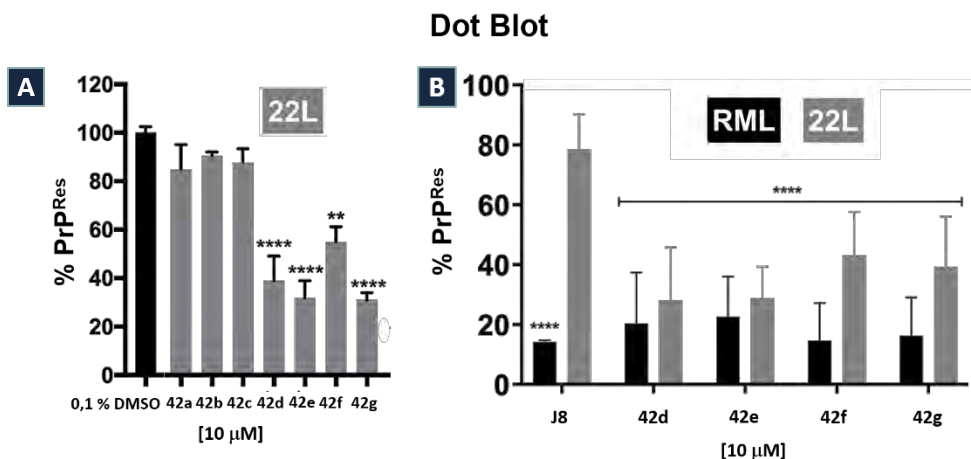


Figura 80: A - Avaliação do conteúdo de PrP^{Res} em células N2a infectadas (cepa 22L) na presença das chalconas da série A **42a-g** na concentração de 10 μ M. B – Comparativo da avaliação do conteúdo de PrP^{Res} em células N2a infectadas com cepas RML e 22L entre o **J8** e **42d-g**.

Analisando os resultados experimentais *in vitro* expostos na Figura 80-A, juntamente com os dados *in silico* de modelagem molecular apresentados na seção 3.8.1, é possível propor um modelo de mapa farmacofórico como o representado nas Figura 81 e 82. Os derivados **42d-g**, todos possuindo um nitrogênio ionizável na cadeia lateral, foram capazes de inibir significativamente a conversão de PrP^C em PrP^{Sc}. Possivelmente a boa capacidade de estabilização da conformação PrP^C dos derivados **42d-g** está associada à interação iônica formada entre o nitrogênio catiônico e o resíduo de Glu196. Por outro lado, a baixa capacidade de inibição da conversão de PrP^C em PrP^{Sc} dos derivados **42a-c** poderia ser explicada pela ausência dessas interações com o resíduo de Glu196.

Na Figura 81 encontra-se um comparativo do mapa 2D de **42a** e **42e** onde é possível observar que a cadeia lateral de **42a** não realiza interação com o resíduo de Glu196, justificando assim a baixa atividade observada nos derivados **42a-c**. Em contra partida, na Figura 81-B observa-se a interação entre o grupo catiônico de **42e** e Glu196, o que pode justificar a melhor atividade dos derivados **42d-g** contendo dois nitrogênios na cadeia lateral.

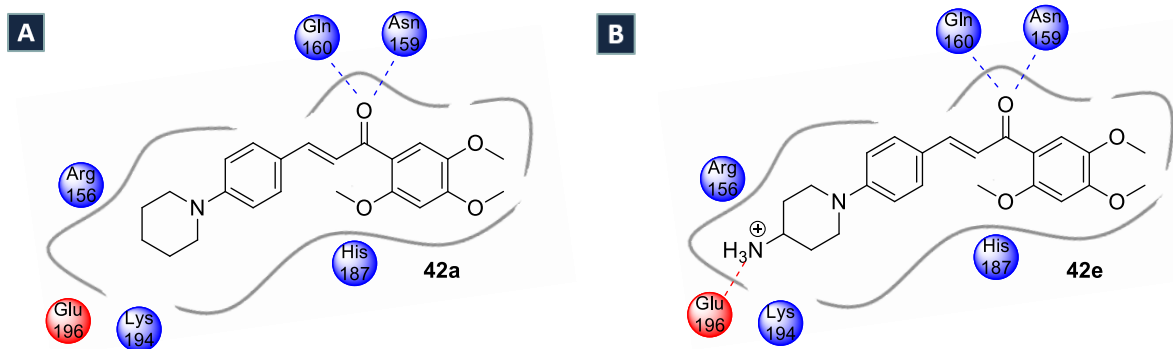


Figura 81: A – Mapa farmacofórico 2D entre **42a** e PrP¹²¹⁻²³¹. B – Mapa farmacofórico 2D entre **42e** e PrP¹²¹⁻²³¹.

Os resultados expostos na Figura 80-B também demonstraram uma sutil diferença de atividade nos derivados **42d-e** e **42f-g** em cada uma das cepas avaliadas (RML e 22L). Os derivados **42d** e **42e** possuem uma maior distância entre o nitrogênio catiônico e o nitrogênio *N*-arilado (3,8 Å e 3,6 Å, respectivamente) quando comparado com os derivados **42f** e **42g** que possuem distância de 2,9 Å entre os dois nitrogênios (Figura 82). Esses resultados podem indicar que uma maior cadeia espaçadora entre os nitrogênios poderia favorecer a inibição da agregação de PrP^{Sc} em cepas 22L, enquanto uma cadeia espaçadora menor poderia favorecer uma maior atividade em cepas RML. As análises dos outros compostos sintetizados poderão ajudar a elucidar essas possíveis diferenças visualizadas entre as cepas.

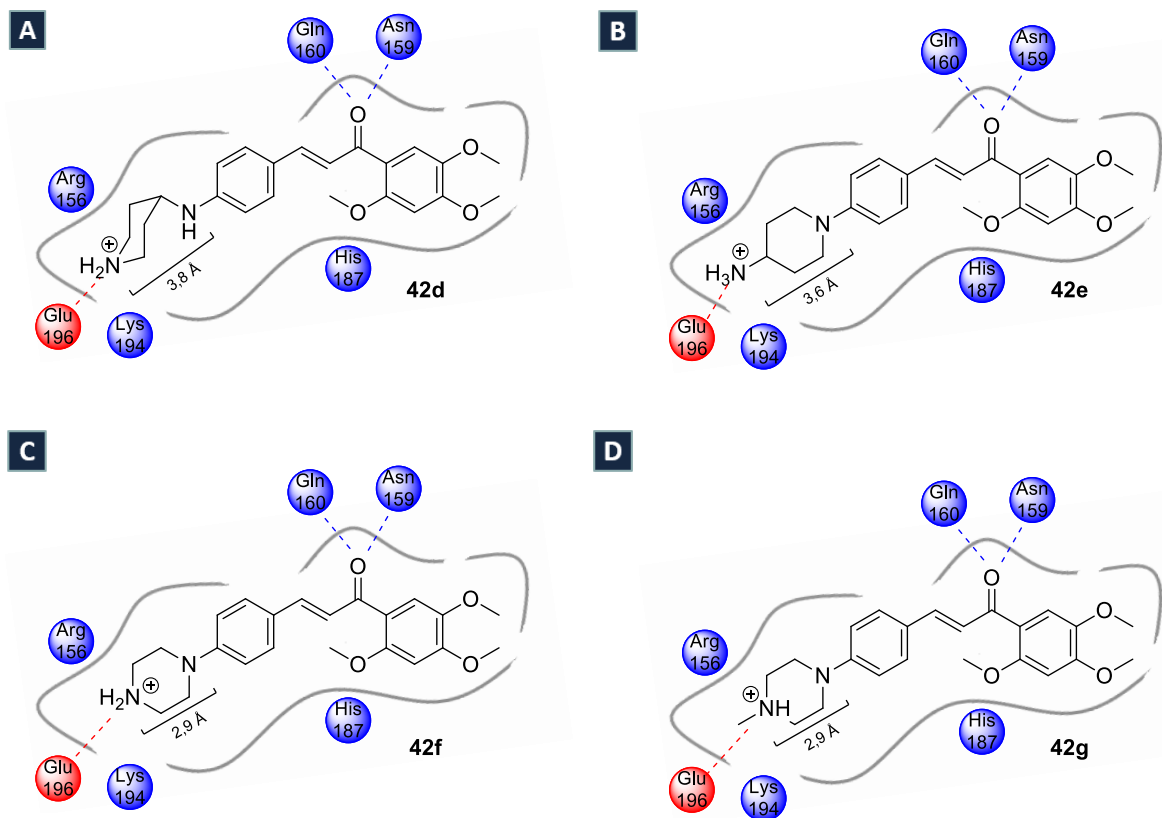


Figura 82: A – Mapa farmacofórico 2D entre **42d** e PrP¹²¹⁻²³¹. B – Mapa farmacofórico 2D entre **42e** e PrP¹²¹⁻²³¹. C – Mapa farmacofórico 2D entre **42f** e PrP¹²¹⁻²³¹. D – Mapa farmacofórico 2D entre **42g** e PrP¹²¹⁻²³¹.

4 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Utilizando uma metodologia sintética que passa pela reação clássica de Claisen-Schmidt e uma reação de acoplamento cruzado catalisada por paládio de Buchwald-Hartwig, consideravelmente mais elaborada, foi possível obter as chalconas finais da série A **42a-g** inéditas, análogas ao **J8**. A etapa chave de *N*-arilação de Buchwald-Hartwig foi bastante estudada durante a elaboração do trabalho e se mostrou eficiente para a síntese, gerando compostos com rendimentos bons. Os contratemplos ocorridos durante o processo de síntese das chalconas da série A **42d-g** foram contornados e os compostos foram obtidos com altos índices de pureza. Do ponto de vista farmacológico, o ótimo perfil de atividade biológica apresentado pelos compostos da série A **42d-g** demonstrou que o planejamento estrutural desta série foi assertivo. Esses resultados corroboram com a hipótese que o grupamento amino ionizável possui um papel importante na atividade anti-príon, sugerindo, junto com os dados de modelagem molecular, que os novos derivados das séries B, D e E (todos possuindo uma amina na cadeia lateral) podem apresentar resultados de atividade biológica promissores.

As otimizações das rotas sintéticas para as outras séries se mostraram eficazes, visto que já foram obtidos alguns compostos finais das séries B, C e E. A série D é a única que ainda não foi possível obter um derivado final devido às restrições impostas pela pandemia de SARS-CoV-2.

As perspectivas para este trabalho incluem a finalização da síntese das séries B, C, D e E, completa caracterização estrutural destes compostos e envio dos produtos para avaliação da sua atividade anti-príon no *Laboratory of Persistent Viral Diseases, Rocky Mountain Laboratories, NIAID/NIH, EUA*.

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Equipamentos

Solventes e reagentes adquiridos comercialmente (Tedia[®], Vetec[®], Sigma-Aldrich[®], Combi-Blocks[®]) foram utilizados sem purificação prévia.

O acompanhamento das reações foi feito através da técnica de cromatografia em camada fina analítica (CCFA), na qual foram utilizadas placas de alumínio Kieselgel 60 (HF-254, Merck[®]) com 0,2 mm de espessura. A visualização das substâncias em CCFA foi realizada em lâmpada ultravioleta ($\lambda = 254$ e 365 nm).

A purificação dos compostos foi realizada a partir da técnica de cromatografias líquida de adsorção em coluna flash, Isolera – Accelerated Chromatographic Isolation – Biotage[®], modelo ISO-4SV (IQ-UFRRJ). Para a confecção da pastilha, utilizou-se sílica gel 70-230 mesh (Merck[®]). E como fase móvel, foram utilizadas as misturas solventes de acordo com as propriedades físico-químicas de cada composto.

A fase orgânica das reações foi seca sob sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente foi evaporado à pressão reduzida em evaporador rotatório IKA[®], modelo digital RV 10, banho HB 10 digital e bomba de vácuo MVP10.

Os espectros de RMN ¹H foram obtidos em aparelhos Bruker[®] Avance-500 e Bruker[®] Avance-400 (IQ-UFRRJ), operando a 500 MHz e 400 MHz, respectivamente. As amostras foram dissolvidas em CDCl₃ ou DMSO-d₆, contendo tetrametilsilano (TMS) como referência interna e colocadas em tubos de 5 mm de diâmetro.

Os espectros de RMN ¹³C (DEPT-Q) foram obtidos operando a 125 MHz e à 100 MHz, em aparelho Bruker[®] Avance-500 e Bruker[®] Avance-400 (IQ-UFRRJ), respectivamente, e as amostras foram dissolvidas em CDCl₃ ou DMSO-d₆, contendo TMS como referência interna.

As áreas dos picos foram obtidas por integração eletrônica no programa MestReNova e sua multiplicidade descrita com: s-simpleto; sl-simpleto largo; d-dupleto; dl-dupleto largo; t-triplete; q-quarteto; quin-quinteto; m-multipleto.

O perfil cromatográfico dos derivados foi obtido por HPLC em um equipamento Prominence (Shimadzu), constituído por duas bombas série LC-20AT, com detector de fotodiodos SPD-M20A e autojeter SIL-10A. O controle e a aquisição dos dados foram feitos através do *software* LCSolution (Shimadzu). As análises foram realizadas em coluna de fase reversa C18 (250 mm x 4,6 mm d.i. x 5 μ m, Betasil-Thermo).

5.2 Síntese dos intermediários

5.2.1 Síntese dos intermediários benzaldeídos-*O*-alquilados

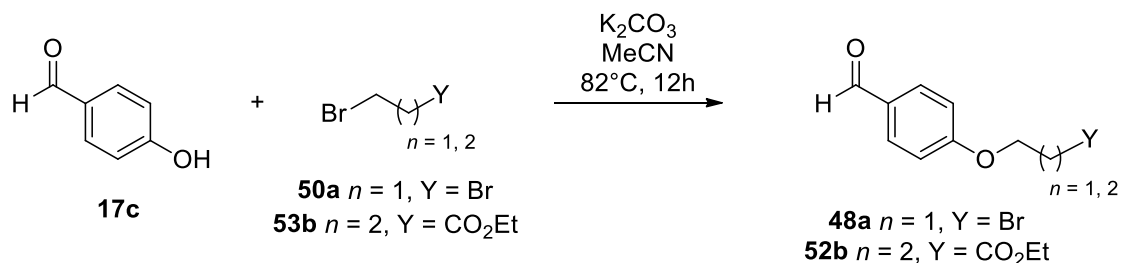


Figura 83: Síntese dos benzaldeídos-*O*-alquilados.

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foi dissolvido 2,45 mmol de 4-hidroxi-benzaldeído **17c** em 20 mL de acetonitrila e, em seguida, adicionou-se 24,5 mmol do respectivo agente alquilante e 4,4 mmol de K_2CO_3 . A reação foi mantida sob agitação em refluxo durante 12h. Ao término da reação foi adicionado 50 mL de água destilada e a mistura foi extraída com éter etílico. Por fim, as fases orgânicas foram combinadas, secadas sob sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório e, posteriormente, purificada em Isolera – Accelerated Chromatographic Isolation utilizando Hex/Act 0-30% como eluente (KONKEN et al., 2018; WANG et al., 2019).

5.2.2 Síntese das chalconas intermediárias das séries A, B, D e E

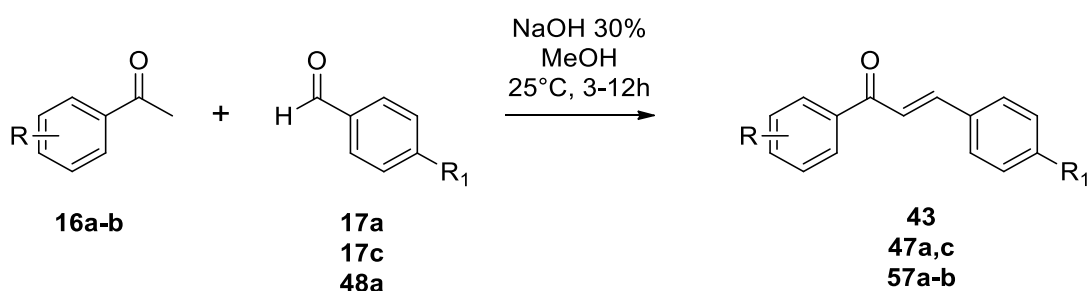
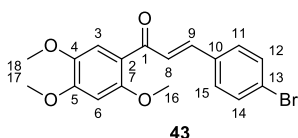


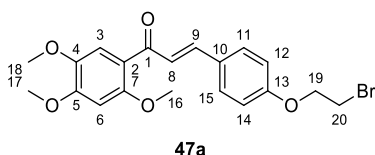
Figura 84: Reação de obtenção das chalconas intermediárias.

Foram transferidos 4,0 mL de solução de hidróxido de sódio 30% para um balão de fundo redondo e o sistema foi colocado em banho de gelo. Paralelamente adicionou-se 1,1 mmol das acetofenonas **16a-b** a um béquer juntamente com 10,0 mL de metanol absoluto. Com

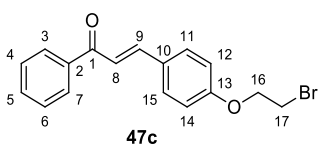
auxílio de uma pipeta Pasteur transferiu-se, gota a gota, a solução metanólica de acetofenona para o balão contendo a solução alcalina em banho de gelo. O sistema ficou sob agitação por 15 minutos. Posteriormente adicionou-se 1,1 mmol dos benzaldeídos intermediários **17a**, **17c** e **48a** ao sistema resfriado com retirada do banho em seguida. O meio reacional foi deixado sob agitação durante 3 horas e o consumo dos reagentes foi acompanhada por CCFA utilizando Hex/Act 30% como eluente. Após total consumo de ambos os reagentes o sistema permaneceu em repouso para decantação do produto sólido seguido de filtração à vácuo (BELLO et al., 2011).



RMN ¹H (400 MHz) DMSO-*d*₆ (δ-ppm): H₁₆ = 3,75 (s, 3H); H₁₇ = 3,90 (s, 3H); H₁₈ = 3,93 (s, 3H); H₆ = 6,80 (s, 1H); H₃ = 7,21 (s, 1H); H₈ = 7,52 (d, 1H, J = 15,8 Hz); H_{9, 11, 12, 14, 15} = 7,62 - 7,70 (m, 5H). **RMN ¹³C (100 MHz) DMSO-*d*₆ (δ-ppm):** C₁₆ = 55,92; C₁₇ = 56,00; C₁₈ = 56,72; C₆ = 97,98; C₃ = 112,69; C₂ = 119,15; C₁₃ = 123,41; C₈ = 127,94; C_{11, 15} = 130,23; C_{12, 14} = 131,98; C₁₀ = 134,31; C₉ = 139,52; C₄ = 142,85; C₇ = 153,89; C₅ = 154,81; C₁ = 188,56. Ponto de fusão = 84-85°C.

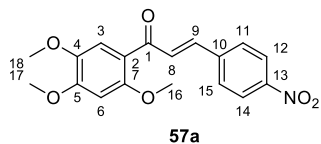


RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₂₀ = 3,66 (t, 2H, J = 6,2 Hz); H₁₆ = 3,90 (s, 3H); H₁₇ = 3,93 (s, 3H); H₁₈ = 3,97 (s, 3H); H₁₉ = 4,34 (t, 2H, J = 6,2 Hz); H₆ = 6,55 (s, 1H); H_{12, 14} = 6,94 (d, 2H, J = 8,6 Hz); H₃ = 7,38 (s, 1H); H₈ = 7,52 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{11, 15} = 7,58 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₉ = 7,68 (d, 1H, J = 15,7 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C₂₀ = 28,94; C₁₆ = 56,29; C₁₇ = 56,49; C₁₈ = 57,03; C₁₉ = 68,01; C₆ = 97,37; C₃ = 113,38; C_{12, 14} = 115,16; C₂ = 120,86; C₈ = 125,54; C₁₀ = 129,14; C_{11, 15} = 130,18; C₉ = 141,74; C₄ = 143,58; C₇ = 153,60; C₅ = 154,84; C₁₃ = 159,79; C₁ = 190,04. Ponto de fusão = 110-112°C

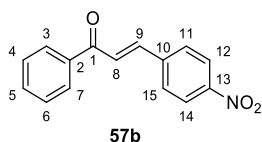


RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₁₇ = 3,67 (t, 2H, J = 6,2 Hz); H₁₆ = 4,35 (t, 2H, J = 6,2 Hz); H_{12, 14} = 6,96 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₈ = 7,44 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{4, 6} = 7,51 (t, 2H, J = 7,6 Hz); H_{3, 5, 7} = 7,58 - 7,63 (m, 3H); H₉ = 7,80 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{11, 15} = 8,02 (d,

2H, $J = 8,7$ Hz). **RMN ^{13}C (125 MHz) CDCl_3 (δ -ppm):** $\text{C}_{17} = 28,89$; $\text{C}_{16} = 68,00$; $\text{C}_{12, 14} = 115,23$; $\text{C}_8 = 120,33$; $\text{C}_{10} = 128,45$; $\text{C}_{11, 15} = 128,57$; $\text{C}_{3, 7} = 128,73$; $\text{C}_{4, 6} = 130,42$; $\text{C}_5 = 132,78$; $\text{C}_2 = 138,56$; $\text{C}_9 = 144,56$; $\text{C}_{13} = 160,23$; $\text{C}_1 = 190,71$. Ponto de fusão = 91-94°C.



RMN ^1H (400 MHz) CDCl_3 (δ -ppm): $\text{H}_{16} = 3,91$ (s, 3H); $\text{H}_{17} = 3,96$ (s, 3H); $\text{H}_{18} = 3,99$ (s, 3H); $\text{H}_6 = 6,55$ (s, 1H); $\text{H}_3 = 7,42$ (s, 1H); $\text{H}_{8, 9, 11, 15} = 7,68 - 7,80$ (m, 4H); $\text{H}_{12, 14} = 8,26$ (d, 2H, $J = 8,8$ Hz). **RMN ^{13}C (100 MHz) CDCl_3 (δ -ppm):** $\text{C}_{16} = 56,33$; $\text{C}_{17} = 56,47$; $\text{C}_{18} = 56,85$; $\text{C}_6 = 96,85$; $\text{C}_3 = 113,19$; $\text{C}_2 = 119,78$; $\text{C}_{12, 14} = 124,27$; $\text{C}_{11, 15} = 128,82$; $\text{C}_8 = 131,21$; $\text{C}_9 = 138,37$; $\text{C}_{10} = 142,14$; $\text{C}_4 = 143,71$; $\text{C}_{13} = 148,29$; $\text{C}_7 = 154,48$; $\text{C}_5 = 155,47$; $\text{C}_1 = 188,87$. Ponto de fusão = 186-189°C.



RMN ^1H (400 MHz) CDCl_3 (δ -ppm): $\text{H}_{4, 6} = 7,55$ (t, 2H); $\text{H}_{5, 8} = 7,62 - 7,67$ (m, 2H); $\text{H}_{3, 7, 9} = 7,79 - 7,85$ (m, 3H); $\text{H}_{11, 15} = 8,05$ (d, 2H, $J = 8,7$ Hz); $\text{H}_{12, 14} = 8,29$ (d, 2H, $J = 8,7$ Hz). **RMN ^{13}C (100 MHz) CDCl_3 (δ -ppm):** $\text{C}_{12, 14} = 124,37$; $\text{C}_8 = 125,85$; $\text{C}_{11, 15} = 128,74$; $\text{C}_{3, 7} = 128,97$; $\text{C}_{4, 6} = 128,08$; $\text{C}_5 = 133,52$; $\text{C}_2 = 137,66$; $\text{C}_{10} = 141,18$; $\text{C}_9 = 141,65$; $\text{C}_{13} = 148,69$; $\text{C}_1 = 189,79$. Ponto de fusão = 161-164°C.

5.2.3 Síntese das amino-chalconas

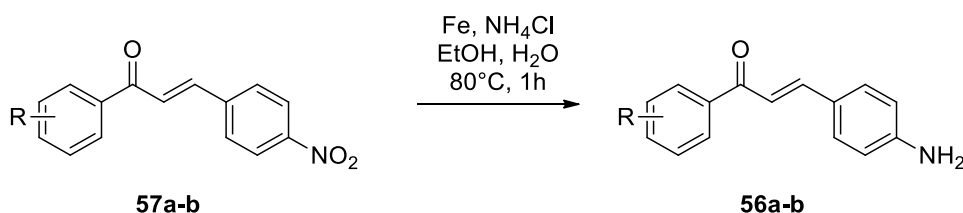
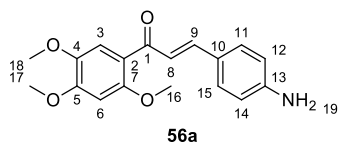


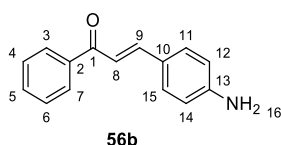
Figura 85: Síntese das amino-chalconas intermediárias.

Em um balão de fundo redondo adicionou-se 1 mmol da nitro-chalcona **57a-b**, 3 mmol de ferro em pó, 0,5 mmol de cloreto de amônio, 3 mL de etanol e 1 mL de água destilada. O sistema foi mantido 80°C por aproximadamente 1 hora. A mistura reacional foi coletada à temperatura ambiente, filtrada em Celite em funil ceterizado e lavada com diclorometano

(FONSÊCA, 2012). Após secagem com sulfato de sódio anidro, evaporou-se o solvente em evaporador rotatório e os produtos foram obtidos na forma de sólidos amarelos com rendimento de 90% para **56a** e 96% para **56b**.



RMN ¹H (400 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₁₆ = 3,90 (s, 3H); H₁₇ = 3,92 (s, 3H); H₁₈ = 3,96 (s, 3H); H₆ = 6,55 (s, 1H); H_{12, 14} = 6,67 (d, 2H, J = 8,5 Hz); H₃ = 7,36 (s, 1H); H_{9, 11, 15} = 7,42 - 7,46 (m, 3H); H₉ = 7,66 (d, 1H, J = 15,7Hz). **RMN ¹³C (100 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C₁₆ = 56,24; C₁₇ = 56,45; C₁₈ = 57,06; C₆ = 97,41; C₃ = 113,28; C_{12, 14} = 114,99; C₂ = 121,20; C₈ = 123,27; C₁₀ = 125,85; C_{11, 15} = 130,40; C₉ = 143,08; C₁₃ = 143,42; C₄ = 148,75; C₇ = 153,18; C₅ = 154,52; C₁ = 190,38. Ponto de fusão = 148-149°C.



RMN ¹H (400 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₁₆ = 4,01 (sl, 2H); H_{12, 14} = 6,69 (d, 2H, J = 8,3 Hz); H_{11, 15} = 8,01 (d, 2H, J = 8,3 Hz). **RMN ¹³C (100 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C_{12, 14} = 114,99; C₈ = 118,04; C₁₀ = 125,20; C_{11, 15} = 128,47; C_{3, 7} = 128,62; C_{4, 6} = 130,65; C₅ = 132,65; C₂ = 138,59; C₉ = 145,66; C₁₃ = 149,29; C₁ = 190,90. Ponto de fusão = 141-142°C.

5.2.4 Síntese da α-bromo-acetamida-chalcona

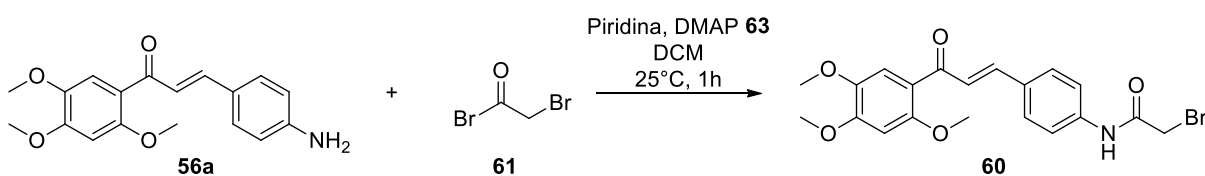


Figura 86: Síntese da α-bromo-acetamida-chalcona.

Em um tubo selado foram adicionados 1 mmol de amino-chalcona **56a**, 2,4 mmol de piridina, 0,01 mmol de DMAP, 10 mL de diclorometano e o sistema foi deixado em banho de gelo. Após atingir 0°C, adicionou-se 2,2 mmol de brometo de bromoetila **61** e o meio reacional foi deixado sob agitação à temperatura ambiente por 1 hora (KIMURA et al., 2011). O

precipitado formado foi filtrado e lavado com diclorometano, fornecendo a α -bromo-acetamida-chalcona **60** na forma de um sólido amarelo claro com rendimento de 49%.

5.3 Síntese dos produtos finais

5.3.1 Síntese das chalconas finais da série A

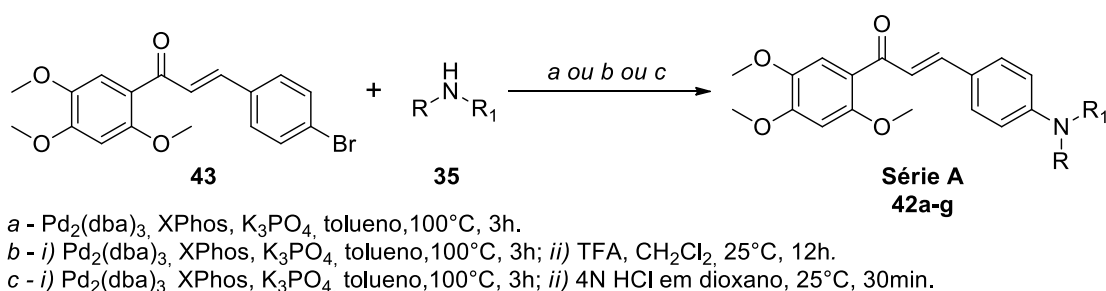


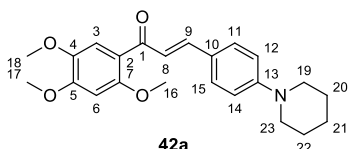
Figura 87: Síntese das amino-chalconas finais da série A.

Em um tubo selado foram adicionados 50 mg de 2,4,5-trimetoxi-4'-bromo-chalcona **43** (0,1325 mmol), 56,27 mg de K₃PO₄ (0,2651 mmol), 6,2 mg de XPhos (0,006 mmol) e 6,3 mg de Pd₂(dba)₃ (0,0132 mmol), em seguida a atmosfera foi trocada por nitrogênio. Paralelamente, 15,91 mmol de diversas aminas **35** (**a-c,g** aminas secundárias livres e **d-f** aminas protegidas com *tert*-butil-carbamato) foram solubilizados em 2,1 mL de tolueno e adicionados, com auxílio de uma seringa, ao tubo selado. Novamente trocou-se a atmosfera e o solvente foi degasado com nitrogênio. A reação foi mantida sob agitação à 100°C por 3 horas. Ao término da reação, adicionou-se 5 mL de acetato de etila e, em seguida, filtrou-se com Celite em funil sinterizado para remoção do paládio. Lavou-se o funil com 30 mL de acetato de etila até o filtrado sair incolor. O solvente foi evaporado em evaporador rotatório e a reação, posteriormente, purificada em Isolera – Accelerated Chromatographic Isolation utilizando Hex/Act de 15-75% como eluente (DE AZEVEDO, 2018).

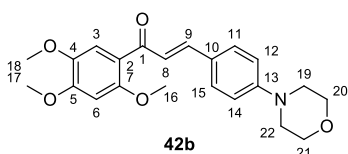
Os produtos provenientes de aminas protegidas **42d-f** foram submetidos às condições (b), onde, na primeira etapa foi realizada a reação de Buchwald-Hartwig (i) como descrito anteriormente seguido da etapa de desproteção (ii). Em um tubo selado, 0,1036 mmol dos compostos protegidos foram solubilizados em 3,5 mL de diclorometano e levados ao banho de gelo. Ao atingir 0°C adicionou-se 308 μ L de ácido trifluoracético (4,144 mmol) gota a gota. O banho de gelo foi retirado, uma agulha foi fixada no septo do tubo para que os subprodutos gasosos fossem liberados, então o sistema permaneceu sob agitação por 15 horas. Ao término

da reação, determinado por CCD, foi adicionado solução de bicarbonato de sódio até pH = 9. Extraiu-se o composto desejado da solução aquosa com diclorometano, as porções orgânicas foram secas com sulfato de sódio e o solvente evaporado em evaporador rotatório.

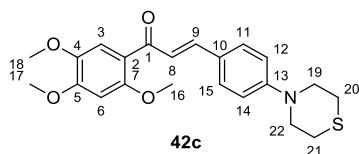
Os produtos que apresentam um nitrogênio básico em sua cadeia lateral **42d-g** foram submetidos às condições (c), onde, na primeira etapa foi realizada a reação de Buchwald-Hartwig (i) como descrito anteriormente seguido da etapa de desproteção/formação de cloridrato (ii). Em um tubo reacional, 0,0805 mmol dos compostos protegidos foram adicionados e, em seguida, transferiu-se 200 μ L de solução 4N de HCl em dioxano. O sistema foi mantido em agitação à temperatura ambiente por 30 minutos (RAIMUNDO et al., 2004). Ao final da reação o excesso da solução de HCl em dioxano foi evaporado em evaporador rotatório, levando a formação dos respectivos cloridratos sólidos.



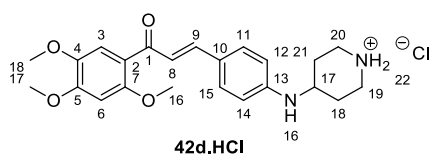
RMN ^1H (500 MHz) CDCl_3 (δ -ppm): $\text{H}_9 = 7,67$ (d, 1H); H_{11} e $15 = 7,51$ (d, 2H); $\text{H}_8 = 7,44$ (d, 1H); $\text{H}_3 = 7,36$ (s, 1H); H_{12} e $14 = 6,88$ (d, 2H); $\text{H}_6 = 6,55$ (s, 1H); $\text{H}_{16} = 3,96$ (s, 3H); $\text{H}_{17} = 3,92$ (s, 3H); $\text{H}_{18} = 3,90$ (s, 3H); H_{19} e $23 = 3,30$ (t, 4H); H_{20} e $22 = 1,69$ (m, 4H); $\text{H}_{21} = 1,64$ (m, 2H). **RMN ^{13}C (125 MHz) CDCl_3 (δ -ppm):** $\text{C}_1 = 190,28$; $\text{C}_5 = 154,36$; $\text{C}_7 = 152,98$; $\text{C}_{13} = 152,94$; $\text{C}_4 = 143,30$; $\text{C}_9 = 142,98$; C_{11} e $15 = 130,02$; $\text{C}_{10} = 125,08$; $\text{C}_8 = 123,12$; $\text{C}_2 = 121,20$; C_{12} e $14 = 114,94$; $\text{C}_3 = 113,17$; $\text{C}_6 = 97,35$; $\text{C}_{16} = 56,97$; $\text{C}_{17} = 56,34$; $\text{C}_{18} = 56,13$; C_{19} e $23 = 49,22$; C_{20} e $22 = 25,49$; $\text{C}_{21} = 24,35$. Ponto de degradação = 117°C .



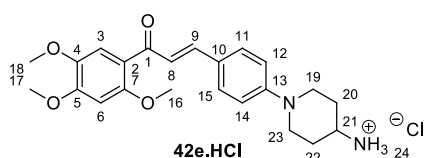
RMN ^1H (500 MHz) CDCl_3 (δ -ppm): $\text{H}_9 = 7,68$ (d, 1H); H_{11} e $15 = 7,55$ (d, 2H); $\text{H}_8 = 7,48$ (d, 1H); $\text{H}_3 = 7,35$ (s, 1H); H_{12} e $14 = 6,89$ (d, 2H); $\text{H}_6 = 6,55$ (s, 1H); $\text{H}_{16} = 3,97$ (s, 3H); $\text{H}_{17} = 3,92$ (s, 3H); $\text{H}_{18} = 3,90$ (s, 3H); H_{20} e $21 = 3,87$ (t, 4H); H_{19} e $22 = 3,26$ (t, 4H). **RMN ^{13}C (125 MHz) CDCl_3 (δ -ppm):** $\text{C}_1 = 190,25$; $\text{C}_5 = 154,61$; $\text{C}_7 = 153,29$; $\text{C}_{13} = 152,52$; $\text{C}_4 = 143,47$; $\text{C}_9 = 142,52$; C_{11} e $15 = 130,03$; $\text{C}_{10} = 126,68$; $\text{C}_8 = 124,12$; $\text{C}_2 = 121,10$; C_{12} e $14 = 114,87$; $\text{C}_3 = 113,29$; $\text{C}_6 = 97,39$; C_{20} e $21 = 66,81$; $\text{C}_{16} = 57,05$; $\text{C}_{17} = 56,46$; $\text{C}_{18} = 56,26$; C_{19} e $22 = 48,29$. Ponto de degradação = 109°C .



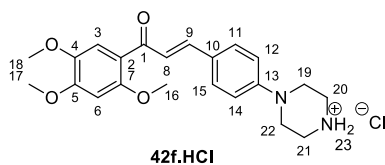
RMN ^1H (500 MHz) CDCl_3 (δ -ppm): $\text{H}_9 = 7,67$ (d, 1H); $\text{H}_{11 \text{ e } 15} = 7,53$ (s, 2H); $\text{H}_8 = 7,46$ (d, 1H); $\text{H}_3 = 7,37$ (s, 1H); $\text{H}_{12 \text{ e } 14} = 6,86$ (d, 2H); $\text{H}_6 = 6,56$ (s, 1H); $\text{H}_{16} = 3,97$ (s, 3H); $\text{H}_{17} = 3,92$ (s, 3H); $\text{H}_{18} = 3,90$ (s, 3H); $\text{H}_{20 \text{ e } 21} = 3,72$ (sl, 4H); $\text{H}_{19 \text{ e } 22} = 2,73$ (sl, 4H). **RMN ^{13}C (125 MHz) CDCl_3 (δ -ppm):** $\text{C}_4 = 142,46$; $\text{C}_{11 \text{ e } 15} = 130,14$; $\text{C}_8 = 123,72$; $\text{C}_{12 \text{ e } 14} = 115,43$; $\text{C}_3 = 113,17$; $\text{C}_6 = 97,30$; $\text{C}_{16} = 56,95$; $\text{C}_{17} = 56,33$; $\text{C}_{18} = 56,13$; $\text{C}_{19 \text{ e } 22} = 50,89$; $\text{C}_{20 \text{ e } 21} = 20,70$. Ponto de degradação = 109°C .



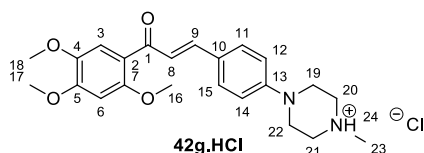
RMN ^1H (500 MHz) $\text{DMSO-}d_6$ (δ -ppm): $\text{H}_{18, 21}$ (axial) = $1,63$ (m, 2H); $\text{H}_{18, 21}$ (equatorial) = $2,04$ (m, 2H); $\text{H}_{19, 20}$ (axial) = $2,99$ (m, 2H); $\text{H}_{19, 20}$ (equatorial), $17 = 3,29$ (m, 3H); $\text{H}_{16} = 3,73$ (s); $\text{H}_{17} = 3,88$ (s, 3H); $\text{H}_{18} = 3,90$ (s, 3H); $\text{H}_{12, 14} = 6,70$ (d, 2H, $J = 8,5$ Hz); $\text{H}_6 = 6,78$ (s, 1H); $\text{H}_3 = 7,17$ (s, 1H); $\text{H}_8 = 7,34$ (d, 1H, $J = 15,6$ Hz); $\text{H}_{9, 11, 15} = 7,45$ - $7,49$ (m, 3H); $\text{H}_{22} = 8,95$ (sl, 2H). **RMN ^{13}C (125 MHz) $\text{DMSO-}d_6$ (δ -ppm):** $\text{C}_{18, 21} = 28,13$; $\text{C}_{19, 20} = 42,00$; $\text{C}_{17} = 46,45$; $\text{C}_{16, 17} = 55,96$; $\text{C}_{18} = 56,70$; $\text{C}_6 = 98,15$; $\text{C}_{12, 14} = 112,84$; $\text{C}_2 = 120,14$; $\text{C}_8 = 121,53$; $\text{C}_{11, 15} = 130,41$; $\text{C}_9 = 142,68$; $\text{C}_{13} = 142,73$; $\text{C}_4 = 153,04$; $\text{C}_7 = 154,05$; $\text{C}_1 = 188,70$. Ponto de fusão = 204 - 206°C .



RMN ^1H (500 MHz) $\text{DMSO-}d_6$ (δ -ppm): $\text{H}_{20, 22}$ (axial) = $1,75$ (m, 2H); $\text{H}_{20, 22}$ (equatorial) = $2,05$ (m, 2H); $\text{H}_{19, 23}$ (axial) = $3,08$ (m, 2H); $\text{H}_{21} = 3,31$ (s, 1H); $\text{H}_{16} = 3,73$ (s, 3H); $\text{H}_{19, 23}$ (equatorial), $17 = 3,89$ (m, 5H); $\text{H}_{18} = 3,91$ (s, 3H); $\text{H}_6 = 6,79$ (s, 1H); $\text{H}_{3, 12, 14} = 7,18$ - $7,23$ (m, 3H); $\text{H}_8 = 7,46$ (d, 1H, $J = 15,7$ Hz); $\text{H}_9 = 7,52$ (d, 1H, $J = 15,7$ Hz); $\text{H}_{11, 15} = 7,64$ (d, 2H, $J = 8,5$ Hz); $\text{H}_{24} = 8,35$ (sl, 3H). **RMN ^{13}C (125 MHz) $\text{DMSO-}d_6$ (δ -ppm):** $\text{C}_{20, 22} = 28,35$; $\text{C}_{21} = 46,91$; $\text{C}_{19, 23} = 47,19$; $\text{C}_{16} = 55,96$; $\text{C}_{17} = 56,00$; $\text{C}_{18} = 56,73$; $\text{C}_6 = 98,11$; $\text{C}_3 = 112,81$; $\text{C}_2 = 119,77$; $\text{C}_{11, 15} = 129,98$; $\text{C}_9 = 141,19$; $\text{C}_{13} = 142,79$; $\text{C}_7 = 153,40$; $\text{C}_5 = 154,36$; $\text{C}_1 = 188,72$. Ponto de fusão = 201 - 203°C .



RMN ¹H (500 MHz) DMSO-*d*₆ (δ-ppm): H_{19, 22} = 3,20 (sl, 4H); H_{20, 21} = 3,51 (t, 4H); H₁₆ = 3,74 (s, 3H); H₁₇ = 3,89 (s, 3H); H₁₈ = 3,91 (s, 3H); H₆ = 6,79 (s, 1H); H_{12, 14} = 7,03 (d, 2H, J = 8,8 Hz); H₃ = 7,18 (s, 1H); H₈ = 7,46 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H₉ = 7,52 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{11, 15} = 7,61 (d, 2H, J = 8,8 Hz); H₂₃ = 9,26 (sl, 2H). **RMN ¹³C (125 MHz) DMSO-*d*₆ (δ-ppm):** C_{19, 22} = 42,33; C_{20, 21} = 44,40; C_{16, 17} = 55,96; C₁₈ = 56,70; C₆ = 98,14; C₃ = 112,85; C_{12, 14} = 115,29; C₈ = 128,84; C_{11, 15} = 129,86; C₉ = 141,46. Ponto de fusão = 120-123°C.



RMN ¹H (500 MHz) DMSO-*d*₆ (δ-ppm): H₂₃ = 2,79 (d, 3H, J = 4,5 Hz); H_{20, 21} (equatorial) = 3,11 (q, 2H); H_{20, 21} (axial) = 3,22 (t, 2H); H_{19, 22} (equatorial) = 3,47 (d, 2H); H_{19, 22} (axial) = 3,98 (d, 2H); H₁₆ = 3,74 (s, 3H); H₁₇ = 3,89 (s, 3H); H₁₈ = 3,91 (s, 3H); H₆ = 6,79 (s, 1H); H_{12, 14} = 7,04 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₃ = 7,18 (s, 1H); H₈ = 7,44 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H₉ = 7,52 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{11, 15} = 7,62 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₂₄ = 11,17 (sl, 1H). **RMN ¹³C (125 MHz) DMSO-*d*₆ (δ-ppm):** C₂₃ = 41,90; C_{19, 22} = 44,46; C_{20, 21} = 51,75; C₁₆ = 55,96; C₁₇ = 55,98; C₁₈ = 56,71; C₆ = 98,13; C₃ = 112,84; C_{12, 14} = 115,32; C₂ = 119,84; C₈ = 123,88; C₁₀ = 125,89; C_{11, 15} = 129,89; C₉ = 141,46; C₁₃ = 142,78; C₄ = 150,82; C₇ = 153,33; C₅ = 154,29; C₁ = 188,78. Ponto de fusão = 140-142°C.

5.3.2 Síntese das chalconas finais da série B

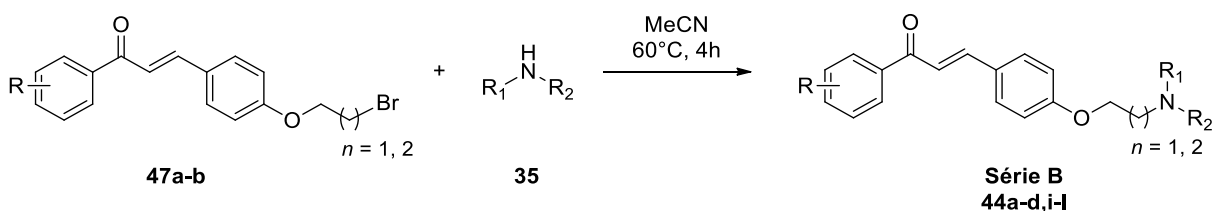
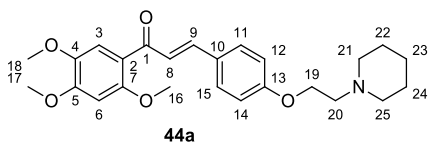


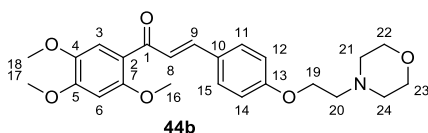
Figura 88: Síntese das chalconas finais da série B.

Em um tubo selado foram adicionados 1 mmol da chalcona-*O*-alquilada **47a-b** e solubilizado em 6 mL de acetonitrila e, em seguida, adicionou-se 3 mmol das diversas aminas

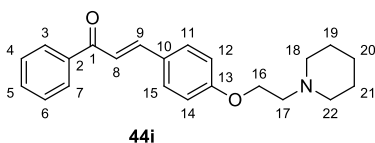
35. O meio reacional foi deixado em agitação a 60°C durante 4 horas. Ao término da reação o solvente foi evaporado em evaporador rotatório juntamente com o excesso de amina. O sólido obtido após a evaporação foi solubilizado em acetato de etila e lavado 3 vezes com água destilada. A fase orgânica foi seca sob sulfato de sódio e evaporado novamente, fornecendo as respectivas chalconas finais da série B **44a-d,i-l** na forma de sólidos coloridos cujos rendimentos variaram de 62-77% (SANTOS et al., 2019).



RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₂₃ = 1,46 (m, 2H); H_{22, 24} = 1,83 (sl, 4H); H_{21, 25} = 2,54 (sl, 4H); H₂₀ = 2,81 (t, 2H, J = 5,9 Hz); H₁₆ = 3,90 (s, 3H); H₁₇ = 3,93 (s, 3H); H₁₈ = 3,97 (s, 3H); H₁₉ = 4,17 (t, 2H, J = 5,9 Hz); H₆ = 6,55 (s, 1H); H_{12, 14} = 6,93 (d, 2H, J = 8,6 Hz); H₃ = 7,38 (s, 1H); H₈ = 7,52 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{11, 15} = 7,56 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₉ = 7,68 (d, 1H, J = 15,7 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C₂₃ = 24,21; C_{22, 24} = 25,94; C_{21, 25} = 56,17; C₁₆ = 56,27; C₁₇ = 56,47; C₁₈ = 57,02; C₂₀ = 57,90; C₁₉ = 66,11; C₆ = 97,33; C₃ = 113,32; C_{12, 14} = 115,05; C₂ = 120,91; C₈ = 125,09; C₁₀ = 128,42; C_{11, 15} = 130,13; C₉ = 142,09; C₄ = 143,50; C₇ = 153,48; C₅ = 154,76; C₁₃ = 160,58; C₁ = 190,15. Ponto de fusão = 67-69°C.

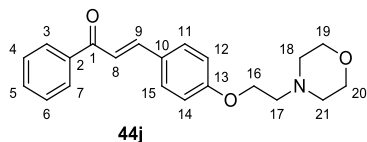


RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H_{21, 24} = 2,59 (t, 4H); H₂₀ = 2,83 (t, 2H, J = 5,7 Hz); H_{22, 23} = 3,75 (t, 4H); H₁₆ = 3,90 (s, 3H); H₁₇ = 3,93 (s, 3H); H₁₈ = 3,97 (s, 3H); H₁₉ = 4,16 (t, 2H, J = 5,7 Hz); H₆ = 6,55 (s, 1H); H_{12, 14} = 6,93 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₃ = 7,38 (s, 1H); H₈ = 7,52 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{11, 15} = 7,56 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₉ = 7,70 (d, 1H, J = 15,7 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C_{21, 24} = 54,23; C₁₆ = 56,27; C₁₇ = 56,47; C₁₈ = 57,02; C₂₀ = 57,67; C₁₉ = 66,05; C_{22, 23} = 67,05; C₆ = 97,32; C₃ = 113,32; C_{12, 14} = 115,03; C₂ = 120,88; C₈ = 125,18; C₁₀ = 128,46; C_{11, 15} = 130,13; C₉ = 141,98; C₄ = 143,52; C₇ = 153,51; C₅ = 154,78; C₁₃ = 160,47; C₁ = 190,10.



RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₂₀ = 1,46 (m, 2H); H_{19, 21} = 1,62 (quin, 4H); H_{18, 22} = 2,52 (sl, 4H); H₁₇ = 2,80 (t, 2H, J = 6,0 Hz); H₁₆ = 4,16 (t, 2H, J = 6,0 Hz); H_{12, 14} =

6,94 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₈ = 7,42 (d, 1H, J = 15,6 Hz); H_{4,6} = 7,51 (t, 2H, J = 7,5 Hz); H_{3,5,7} = 7,56 – 7,61 (m, 3H); H₉ = 7,78 (d, 1H, J = 15,6 Hz); H_{11,15} = 8,02 (d, 2H, J = 8,7 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C₂₀ = 24,27; C_{19,21} = 26,04; C_{18,22} = 56,21; C₁₇ = 57,91; C₁₆ = 66,27; C_{12,14} = 115,14; C₈ = 119,86; C₁₀ = 127,73; C_{11,15} = 128,54; C_{3,7} = 128,68; C_{4,6} = 130,34; C₅ = 132,68; C₂ = 138,63; C₉ = 144,86; C₁₃ = 161,09; C₁ = 190,72. Ponto de fusão = 88-91°C.



RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H_{18,21} = 2,60 (t, 4H); H₁₇ = 2,84 (t, 2H, J = 5,7 Hz); H_{19,20} = 3,75 (t, 4H); H₁₆ = 4,17 (t, 2H, J = 5,7 Hz); H_{12,14} = 6,95 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₈ = 7,42 (d, 1H, J = 15,6 Hz); H_{4,6} = 7,51 (t, 2H, J = 7,6 Hz); H_{3,5,7} = 7,57 – 7,62 (m, 3H); H₉ = 7,79 (d, 1H, J = 15,6 Hz); H_{11,15} = 8,02 (d, 2H, J = 8,7 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C_{18,21} = 54,24; C₁₇ = 57,64; C₁₆ = 66,09; C_{18,21} = 67,03; C_{12,14} = 115,14; C₈ = 120,03; C₁₀ = 127,94; C_{11,15} = 128,56; C_{3,7} = 128,71; C_{4,6} = 130,37; C₅ = 132,73; C₂ = 138,62; C₉ = 144,76; C₁₃ = 160,92; C₁ = 190,73. Ponto de fusão = 104-107°C.

5.3.3 Síntese das chalconas finais da série C

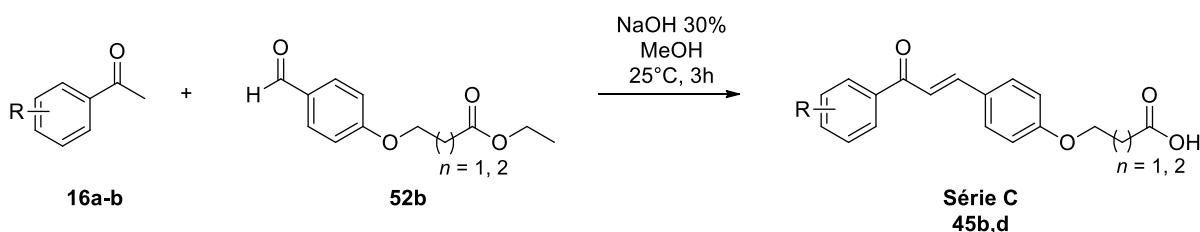
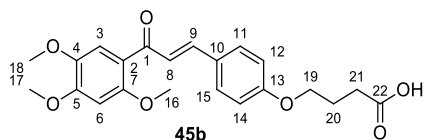


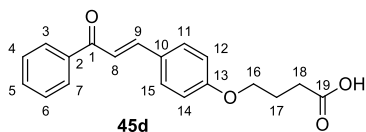
Figura 89: Síntese das chalconas finais da série C.

Foram transferidos 4,0 mL de solução de hidróxido de sódio 30% para um balão de fundo redondo e o sistema foi colocado em banho de gelo. Paralelamente adicionou-se 1 mmol da acetofenona **16a-b** a um béquer juntamente com 10,0 mL de metanol absoluto. Com auxílio de uma pipeta Pasteur transferiu-se, gota a gota, a solução metanólica de acetofenona para o balão contendo a solução alcalina em banho de gelo. O sistema ficou sob agitação por 15 minutos. Posteriormente adicionou-se 1 mmol do benzaldeído-*O*-alquil-ester **52b** ao sistema resfriado com retirada do banho em seguida. O meio reacional foi deixado sob agitação durante

3 horas e o consumo dos reagentes foi acompanhada por CCFA utilizando Hex/Act 30% como eluente. Após total consumo de ambos os reagentes ajustou-se o pH para 7 e o sistema permaneceu em repouso para decantação do produto sólido seguido de filtração à vácuo (BELLO et al., 2011).



RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₂₀ = 2,15 (quin, 2H); H₂₁ = 2,61 (t, 2H, J = 7,2 Hz); H₁₆ = 3,90 (s, 3H); H₁₇ = 3,93 (s, 3H); H₁₈ = 3,97 (s, 3H); H₁₉ = 4,07 (t, 2H, J = 6,0 Hz); H₆ = 6,55 (s, 1H); H_{12, 14} = 6,90 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₃ = 7,38 (s, 1H); H₈ = 7,52 (d, 1H, J = 15,7 Hz); H_{11, 15} = 7,56 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₉ = 7,70 (d, 1H, J = 15,7 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C₂₀ = 24,41; C₂₁ = 30,45; C₁₆ = 56,27; C₁₇ = 56,47; C₁₈ = 57,01; C₁₉ = 66,75; C₆ = 97,30; C₃ = 113,33; C_{12, 14} = 114,92; C₂ = 120,83; C₈ = 125,12; C₁₀ = 128,49; C_{11, 15} = 130,16; C₉ = 142,12,98; C₄ = 143,50; C₇ = 153,54; C₅ = 154,81; C₁₃ = 160,55; C₂₂ = 178,43; C₁ = 190,22. Ponto de fusão = 163-166°C.



RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ (δ-ppm): H₁₇ = 2,16 (quin, 2H); H₁₈ = 2,61 (t, 2H, J = 7,2 Hz); H₁₆ = 4,08 (t, 2H, J = 6,0 Hz); H_{12, 14} = 6,93 (d, 2H, J = 8,7 Hz); H₈ = 7,42 (d, 1H, J = 15,6 Hz); H_{4, 6} = 7,50 (t, 2H, J = 7,6 Hz); H_{3, 5, 7} = 7,57 – 7,61 (m, 3H); H₉ = 7,79 (d, 1H, J = 15,6 Hz); H_{11, 15} = 8,02 (d, 2H, J = 8,7 Hz). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ (δ-ppm):** C₁₇ = 24,39; C₁₈ = 30,48; C₁₆ = 66,81; C_{12, 14} = 115,03; C₈ = 119,95; C₁₀ = 127,85; C_{11, 15} = 128,57; C_{3, 7} = 128,71; C_{4, 6} = 130,40; C₅ = 132,75; C₂ = 138,59; C₉ = 144,93; C₁₃ = 161,01; C₁₉ = 178,49; C₁ = 190,89. Ponto de fusão = 129-131°C.

5.3.4 Síntese das chalconas finais da série E

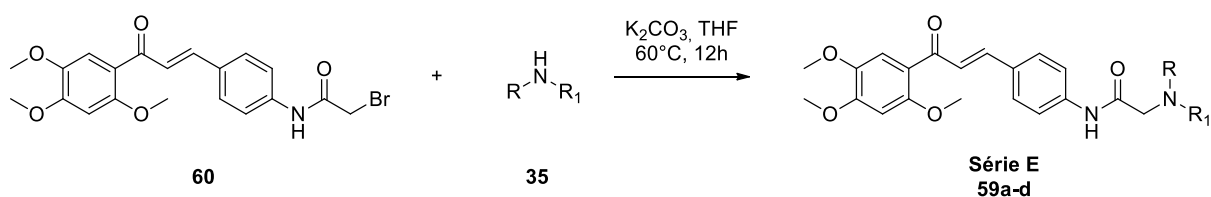


Figura 90: Síntese das chalconas finais da série E.

Em um tubo selado solubilizou-se 1 mmol da chalcona **60**, 4 mmol de K₂CO₃ em 16 mL de THF e, em seguida, adicionou-se 3 mmol das diversas aminas **35**. O meio reacional foi deixado em agitação por 12 horas à 60°C. Ao termina na reação, adicionou-se água destilada ao sistema e foi realizada uma extração com diclorometano. As porções orgânicas foram secas sob sulfato de sódio, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório e, por fim, purificado em Isolera – Accelerated Chromatographic Isolation utilizando Hex/Act 50-75% como eluente (KIMURA et al., 2011).

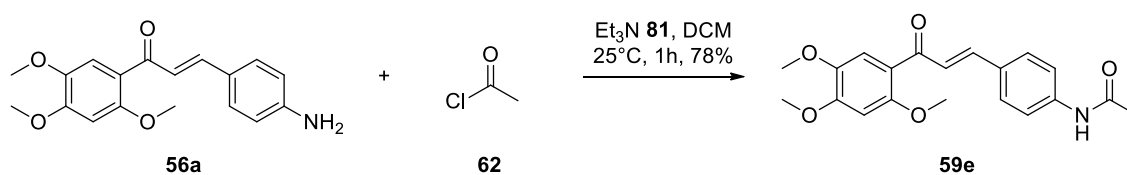
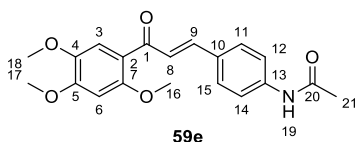


Figura 91: Síntese da *N*-acetil-chalcona.

Em um tubo selado submerso em banho de gelo, adicionou-se 1 mmol da amino-chalcona **56a**, 2 mL de diclorometano, 1,2 mmol de trietilamina e, por fim, 1,1 mmol de cloreto de acetila **62**. O meio reacional foi mantido sob agitação em temperatura ambiente por 1 hora. Ao término da reação, adicionou-se água destilada e extraiu-se com diclorometano. A fase orgânica foi seca sob sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado em evaporador rotatório e, por fim, purificado em Isolera – Accelerated Chromatographic Isolation utilizando Hex/Act 0-30% como eluente (WANG et al., 2018).



RMN ^1H (500 MHz) CDCl_3 (δ -ppm): $\text{H}_{21} = 2,20$ (s, 3H); $\text{H}_{16} = 3,89$ (s, 3H); $\text{H}_{17} = 3,93$ (s, 3H); $\text{H}_{18} = 3,97$ (s, 3H); $\text{H}_6 = 6,55$ (s, 1H); $\text{H}_3 = 7,38$ (s, 1H); $\text{H}_{8, 11, 12, 14, 15, 19} = 7,56 - 7,61$ (m, 6H); $\text{H}_9 = 7,68$ (d, 1H, $J = 15,7\text{Hz}$). **RMN ^{13}C (125 MHz) CDCl_3 (δ -ppm):** $\text{C}_{21} = 24,84$; $\text{C}_{16} = 56,27$; $\text{C}_{17} = 56,44$; $\text{C}_{18} = 56,92$; $\text{C}_6 = 97,14$; $\text{C}_3 = 113,24$; $\text{C}_{12, 14} = 119,83$; $\text{C}_2 = 120,56$; $\text{C}_8 = 126,30$; $\text{C}_{11, 15} = 129,37$; $\text{C}_{10} = 131,48$; $\text{C}_{13} = 139,72$; $\text{C}_9 = 141,52$; $\text{C}_4 = 143,48$; $\text{C}_7 = 153,71$; $\text{C}_5 = 154,96$; $\text{C}_{20} = 168,58$; $\text{C}_1 = 190,05$.

5.4 Modelagem molecular

As estruturas tridimensionais dos compostos investigados foram desenhadas e sua energia minimizada utilizando o software Avogadro (1.2.0) com campo de força “MMFF94” e algoritmo “Conjugate Gradients”. Os compostos foram então ancorados no domínio globular da PrP¹²¹⁻²³¹ (PDB ID 1AG2) usando o software AutoDock (4.2.6) com espaço de busca delimitado em 64x58x54 pontos com espaçamento padrão de 0,375 Å centrado nas coordenadas $x = 4,913$, $y = 7,305$ e $z = 2,540$. Um total de 50 ancoramentos foram simulados com algoritmo genético Lamarckiano (LGA) usando parâmetros padrões. A conformação que apresentou menor energia livre de Gibbs de ligação foi escolhida para análise posterior utilizando o software PyMOL (1.7.x).

5.5 Avaliação biológica

Os ensaios de viabilidade celular e atividade anti-príon dos compostos da série A apresentados na seção 3.9 foram realizados em parceria com a Doutora Natália do Carmo Ferreira sob coordenação do Doutor Byron Caughey no *Laboratory of Persistent Viral Diseases, Rocky Mountain Laboratories, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, EUA* utilizando as metodologias descritas previamente por Ferreira e colaboradores (FERREIRA et al., 2014, 2017).

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADNAN, D. et al. Simple and solvent free practical procedure for chalcones: An expeditious, mild and greener approach. **Current Research in Green and Sustainable Chemistry**, v. 3, p. 100041, jun. 2020.
- ÅHMAN, J.; BUCHWALD, S. L. An Improved Method for the Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Triflates. **Tetrahedron Letters**, v. 38, n. 36, p. 6363–6366, 8 set. 1997.
- ÁLVAREZ, M. et al. Synthesis of Chalcone Using LDH/Graphene Nanocatalysts of Different Compositions. **ChemEngineering**, v. 3, n. 1, p. 29, 9 mar. 2019.
- AMBADI THODY, S.; MATHEW, M. K.; UDGAONKAR, J. B. Mechanism of aggregation and membrane interactions of mammalian prion protein. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1860, n. 9, p. 1927–1935, set. 2018.
- ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. (EDS.). **Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications**. Boca Raton, FL: CRC, Taylor & Francis, 2006.
- ANDERSON, K. W.; BUCHWALD, S. L. General Catalysts for the Suzuki–Miyaura and Sonogashira Coupling Reactions of Aryl Chlorides and for the Coupling of Challenging Substrate Combinations in Water. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 38, p. 6173–6177, 2005.
- ANFINSEN, C. B. et al. The Kinetics of Formation of Native Ribonuclease During Oxidation of the Reduced Polypeptide Chain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 47, n. 9, p. 1309–1314, 1 set. 1961.
- ANFINSEN, C. B. Principles that Govern the Folding of Protein Chains. **Science**, v. 181, n. 4096, p. 223–230, 20 jul. 1973.
- ANTONIOLLI, G. et al. Chalcones acting as inhibitors of cholinesterases, β -secretase and β amyloid aggregation and other targets for Alzheimer's disease: a critical review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 27, 20 out. 2020.
- APONTE, J. C. et al. In vitro and in vivo anti-Leishmania activity of polysubstituted synthetic chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, n. 1, p. 100–103, 1 jan. 2010.
- ASHWORTH, I. W.; COX, B. G.; MEYRICK, B. Kinetics and Mechanism of *N*-Boc Cleavage: Evidence of a Second-Order Dependence upon Acid Concentration. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 75, n. 23, p. 8117–8125, 3 dez. 2010.
- BARLUENGA, J. et al. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling between Vinyl Halides and tert-Butyl Carbazate: First General Synthesis of the Unusual *N*-Boc-*N*-alkenylhydrazines. **Organic Letters**, v. 9, n. 2, p. 275–278, 1 jan. 2007.
- BARRECA, M. L. et al. Pharmacological Agents Targeting the Cellular Prion Protein. **Pathogens**, v. 7, n. 1, 7 mar. 2018.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. 3ª Edição ed. [s.l.] Artmed, 2014.

BELLO, M. L. et al. Trimethoxy-chalcone derivatives inhibit growth of *Leishmania braziliensis*: Synthesis, biological evaluation, molecular modeling and structure–activity relationship (SAR). **Bioorg. Med. Chem.**, p. 7, 2011.

BIANCO, A. et al. A new synthesis of flavonoids via Heck reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 44, n. 51, p. 9107–9109, 15 dez. 2003.

BIRKHOLZ (NÉE GENSOW), M.-N.; FREIXA, Z.; VAN LEEUWEN, P. W. N. M. Bite angle effects of diphosphines in C–C and C–X bond forming cross coupling reactions. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 4, p. 1099, 2009.

BOLTON, D. C.; MCKINLEY, M. P.; PRUSINER, S. B. Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. **Science**, v. 218, n. 4579, p. 1309–1311, 24 dez. 1982.

BUITRAGO SANTANILLA, A. et al. P₂ Et Phosphazene: A Mild, Functional Group Tolerant Base for Soluble, Room Temperature Pd-Catalyzed C–N, C–O, and C–C Cross-Coupling Reactions. **Organic Letters**, v. 17, n. 13, p. 3370–3373, 2 jul. 2015.

BURCHELL, J. T.; PANEGYRES, P. K. Prion diseases: immunotargets and therapy. **ImmunoTargets and Therapy**, v. 5, p. 57–68, 16 jun. 2016.

BUSKES, M. J.; BLANCO, M.-J. Impact of Cross-Coupling Reactions in Drug Discovery and Development. **Molecules**, v. 25, n. 15, p. 3493, 31 jul. 2020.

CHANG, K.-L. **The Complete Mechanism of Chalcone Formation**. [s.l.] UC San Diego, 2015.

CHEN, M. et al. The Novel Oxygenated Chalcone, 2,4-Dimethoxy-4'-Butoxychalcone, Exhibits Potent Activity against Human Malaria Parasite *Plasmodium falciparum* In Vitro and Rodent Parasites *Plasmodium berghei* and *Plasmodium yoelii* In Vivo. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 176, n. 5, p. 1327–1333, 1 nov. 1997.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. G. **Organic chemistry**. 2nd ed ed. Oxford ; New York: Oxford University Press, 2012.

COHEN, F. E.; PRUSINER, S. B. Pathologic Conformations of Prion Proteins. **Annual Review of Biochemistry**, v. 67, n. 1, p. 793–819, 1998.

CONCEIÇÃO, R. A. D. Planejamento estrutural, síntese e avaliação in silico e in vitro de derivados 2,4,5-trimetoxibenzamídicos candidatos a fármacos antiprion. p. 156, 2019.

COSTA, A. et al. Apoptotic effect of synthetic 2',4',5'-trimethoxychalcones in human K562 and Jurkat leukemia cells. **Medicinal Chemistry Research**, v. 23, n. 10, p. 4301–4319, out. 2014.

CUI, J.-F. et al. Silver-Catalyzed Transformation of Propargylic Amine N-Oxides to Enones and Acyloxy Ketones via Isoxazolinium Intermediates. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 356, n. 14–15, p. 2965–2973, 2014.

DAMON, D. B. et al. Asymmetric Synthesis of the Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibitor Torcetrapib. **Organic Process Research & Development**, v. 10, n. 3, p. 472–480, 1 maio 2006.

DAS, S. et al. Brønsted Acidic Ionic Liquids Catalysed Sequential Michael-Like Addition of Indole with Chalcones via Claisen-Schmidt Condensation. **ChemistrySelect**, v. 5, n. 10, p. 3041–3047, 13 mar. 2020.

DE AZEVEDO, L. L. PLANEJAMENTO, ESTUDOS DE DERIVATIZAÇÃO E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE N-METIL-N-ACILIDRAZONAS PLANEJADAS COMO INIBIDORAS DA ENZIMA PDE4. p. 264, 2018.

DE SOUZA, G. A. et al. Discovery of novel dual-active 3-(4-(dimethylamino)phenyl)-7-aminoalcoxy-coumarin as potent and selective acetylcholinesterase inhibitor and antioxidant. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 34, n. 1, p. 631–637, 1 jan. 2019.

DENNIS, J. M. et al. Breaking the Base Barrier: An Electron-Deficient Palladium Catalyst Enables the Use of a Common Soluble Base in C–N Coupling. **Journal of the American Chemical Society**, v. 140, n. 13, p. 4721–4725, 4 abr. 2018.

EDDARIR, S. et al. An efficient synthesis of chalcones based on the Suzuki reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 44, n. 28, p. 5359–5363, 7 jul. 2003.

ERTMER, A. et al. The Tyrosine Kinase Inhibitor STI571 Induces Cellular Clearance of PrPSc in Prion-infected Cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 40, p. 41918–41927, 1 out. 2004.

ESPARGARÓ, A. et al. Predicting the aggregation propensity of prion sequences. **Virus Research**, v. 207, p. 127–135, set. 2015.

FAROOQ, S.; NGAINI, Z. Recent Synthetic Methodologies for Chalcone Synthesis (2013–2018). **Current Organocatalysis**, v. 6, n. 3, p. 184–192, 5 set. 2019.

FERREIRA, N. C. et al. Anti-Prion Activity of a Panel of Aromatic Chemical Compounds: In Vitro and In Silico Approaches. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e84531, 6 jan. 2014.

FERREIRA, N. C. et al. A Promising Antiprion Trimethoxychalcone Binds to the Globular Domain of the Cellular Prion Protein and Changes Its Cellular Location. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 2, p. e01441-17, /aac/62/2/e01441-17.atom, 13 nov. 2017.

FEY, N.; ORPEN, A. G.; HARVEY, J. N. Building ligand knowledge bases for organometallic chemistry: Computational description of phosphorus(III)-donor ligands and the metal–phosphorus bond. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 5–6, p. 704–722, mar. 2009.

FLECKENSTEIN, C. A.; PLENIO, H. Sterically demanding trialkylphosphines for palladium-catalyzed cross coupling reactions—alternatives to PtBu₃. **Chem. Soc. Rev.**, v. 39, n. 2, p. 694–711, 2010.

FONSÊCA, P. DA S. Síntese e caracterização de chalconas e dichalconas contendo unidades 1,2,3-triazólicas. 13 jul. 2012.

FORS, B. P. et al. A Highly Active Catalyst for Pd-Catalyzed Amination Reactions: Cross-Coupling Reactions Using Aryl Mesylates and the Highly Selective Monoarylation of Primary Amines Using Aryl Chlorides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 41, p. 13552–13554, 15 out. 2008.

FORS, B. P.; DAVIS, N. R.; BUCHWALD, S. L. An Efficient Process for Pd-Catalyzed C–N Cross-Coupling Reactions of Aryl Iodides: Insight Into Controlling Factors. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 16, p. 5766–5768, 29 abr. 2009.

FOSSO, M. Y. et al. Effects of structural modifications on the metal binding, anti-amyloid activity, and cholinesterase inhibitory activity of chalcones. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 13, n. 36, p. 9418–9426, 2 set. 2015.

GAN, X. et al. Synthesis and antiviral evaluation of novel 1,3,4-oxadiazole/thiadiazole-chalcone conjugates. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 18, p. 4298–4301, set. 2017.

GIBSON, M. S.; BRADSHAW, R. W. The Gabriel Synthesis of Primary Amines. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 7, n. 12, p. 919–930, 1968.

GOMES, M. N. et al. Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. **Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry**, v. 22, n. 8, 25 jul. 2017.

GUERRA, S. C. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. p. 28, 2018.

HARTL, F. U.; BRACHER, A.; HAYER-HARTL, M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. **Nature**, v. 475, n. 7356, p. 324–332, jul. 2011.

HARTL, F. U.; HAYER-HARTL, M. Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 16, n. 6, p. 574–581, jun. 2009.

HECK, R. F.; NOLLEY, J. P. Palladium-catalyzed vinylic hydrogen substitution reactions with aryl, benzyl, and styryl halides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 37, n. 14, p. 2320–2322, 1 jul. 1972.

HUANG, X. et al. Expanding Pd-Catalyzed C–N Bond-Forming Processes: The First Amidation of Aryl Sulfonates, Aqueous Amination, and Complementarity with Cu-Catalyzed Reactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 22, p. 6653–6655, 1 jun. 2003.

HYEON, J. W. et al. Discovery of Novel Anti-prion Compounds Using In Silico and In Vitro Approaches. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 14944, 9 out. 2015.

ISHIBASHI, D. et al. Structure-Based Drug Discovery for Prion Disease Using a Novel Binding Simulation. **EBioMedicine**, v. 9, p. 238–249, 8 jun. 2016.

JUARISTI, E.; DANIEL REYNA, J. Use of hexamethylphosphoramide (HMPA) in the alkylation of aromatic amines. **Tetrahedron Letters**, v. 25, n. 33, p. 3521–3524, jan. 1984.

KAMER, P. C. J.; VAN LEEUWEN, P. W. N. M.; REEK, J. N. H. Wide Bite Angle Diphosphines: Xantphos Ligands in Transition Metal Complexes and Catalysis. **Accounts of Chemical Research**, v. 34, n. 11, p. 895–904, 1 nov. 2001.

KAYE, S. et al. The Use of Catalytic Amounts of CuCl and Other Improvements in the Benzyne Route to Biphenyl-Based Phosphine Ligands. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 343, n. 8, p. 789–794, 2001.

KIMURA, T. et al. Synthesis of GN8 derivatives and evaluation of their antiprion activity in TSE-infected cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, n. 5, p. 1502–1507, 1 mar. 2011.

KONKEN, C. P. et al. Development of symmetric O-BODIPYs with different optical properties as building blocks for the synthesis of ligands for multimodal imaging. **Dyes and Pigments**, v. 158, p. 88–96, nov. 2018.

KORMOS, C. M. et al. Effect of the 3- and 4-Methyl Groups on the Opioid Receptor Properties of N-Substituted *trans* -3,4-Dimethyl-4-(3-hydroxyphenyl)piperidines. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, n. 7, p. 3140–3147, 10 abr. 2014.

KORTH, C. et al. Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 17, p. 9836–9841, 14 ago. 2001.

KOSUGI, M.; KAMEYAMA, M.; MIGITA, T. Palladium-catalyzed aromatic amination of aryl bromides with *n,n*-di-ethylamino-tributyltin. **Chemistry Letters**, v. 12, n. 6, p. 927–928, 5 jun. 1983.

KOZŁOWSKA, J. et al. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Aminochalcones as Potential Anticancer and Antimicrobial Agents. **Molecules**, v. 24, n. 22, p. 4129, jan. 2019.

KREIN, D. M.; LOWARY, T. L. A Convenient Synthesis of 2-(Alkylamino)pyridines. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 67, n. 14, p. 4965–4967, 1 jul. 2002.

KUMAR, A. et al. Solvent free synthesis of chalcones over graphene oxide-supported MnO₂ catalysts synthesized via combustion route. **Materials Chemistry and Physics**, v. 259, p. 124019, fev. 2021.

KUWATA, K. et al. Locally Disordered Conformer of the Hamster Prion Protein: A Crucial Intermediate to PrP^{Sc}? **Biochemistry**, v. 41, n. 41, p. 12277–12283, 1 out. 2002.

KUWATA, K. et al. Hot spots in prion protein for pathogenic conversion. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 29, p. 11921–11926, 17 jul. 2007.

LAURINDO, E. E.; BARROS FILHO, I. R. DE. Encefalopatia espongiforme bovina atípica: uma revisão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, n. 0, 2017.

LEE, B. K.; BISCOE, M. R.; BUCHWALD, S. L. Simple, Efficient Protocols for the Pd-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Aryl Chlorides and Dimethylamine. **Tetrahedron letters**, v. 50, n. 26, p. 3672–3674, 1 jul. 2009.

LEE, J. et al. Prion Diseases as Transmissible Zoonotic Diseases. **Osong Public Health and Research Perspectives**, v. 4, n. 1, p. 57–66, fev. 2013.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 6th ed ed. New York: W.H. Freeman, 2013.

LEI, T. et al. General and Efficient Intermolecular [2+2] Photodimerization of Chalcones and Cinnamic Acid Derivatives in Solution through Visible-Light Catalysis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 56, n. 48, p. 15407–15410, 2017.

LEITÃO, E. P. T. Chalcones: Retrospective Synthetic Approaches and Mechanistic Aspects of a Privileged Scaffold. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, p. 2843–2858, 21 jul. 2020.

LI, S.; HONG, M. Protonation, Tautomerization, and Rotameric Structure of Histidine: A Comprehensive Study by Magic-Angle-Spinning Solid-State NMR. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 5, p. 1534–1544, 9 fev. 2011.

LIBERSKI, P. P. Historical overview of prion diseases: a view from afar. **Folia Neuropathologica**, v. 50, n. 1, p. 1–12, 2012.

LITTKE, A. F.; FU, G. C. Palladium-Catalyzed Coupling Reactions of Aryl Chlorides. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 41, n. 22, p. 4176–4211, 2002.

LIU, Y. et al. Structurally Diverse Cytotoxic Dimeric Chalcones from *Oxytropis chiliophylla*. **Journal of Natural Products**, v. 81, n. 2, p. 307–315, 23 fev. 2018.

MAITI, D. et al. Palladium-catalyzed coupling of functionalized primary and secondary amines with aryl and heteroaryl halides: two ligands suffice in most cases. **Chemical Science**, v. 2, n. 1, p. 57–68, 6 dez. 2010.

MALLUCCI, G. R. et al. Targeting Cellular Prion Protein Reverses Early Cognitive Deficits and Neurophysiological Dysfunction in Prion-Infected Mice. **Neuron**, v. 53, n. 3, p. 325–335, fev. 2007.

MEYERS, C. et al. Study of a New Rate Increasing “Base Effect” in the Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Iodides. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 69, n. 18, p. 6010–6017, 1 set. 2004.

MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Stereoselective synthesis of arylated (E)-alkenes by the reaction of alk-1-enylboranes with aryl halides in the presence of palladium catalyst. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 19, p. 866–867, 1 jan. 1979.

MONSELLIER, E. et al. Aggregation Propensity of the Human Proteome. **PLoS Computational Biology**, v. 4, n. 10, p. e1000199, 17 out. 2008.

MORENO, J. A. et al. Sustained translational repression by eIF2 α -P mediates prion neurodegeneration. **Nature**, v. 485, n. 7399, p. 507–511, maio 2012.

MORITA, Y. et al. Short and Practical Synthesis of N',N'-Disubstituted N-Aryl-1,2-Ethylene-diamines by a Decarboxylative Ring-Opening Reaction under Nucleophilic Conditions. **Synthesis**, v. 2007, n. 16, p. 2517–2523, ago. 2007.

NAGARAPU, L. et al. Synthesis and antimicrobial activity of novel analogs of trifenagrel. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 195–200, 1 mar. 2009.

NIELSEN, S. F. et al. Antibacterial chalcones—bioisosteric replacement of the 4'-hydroxy group. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 11, p. 3047–3054, 1 jun. 2004.

NILSSON, J. W. et al. Solid-Phase Synthesis of Libraries Generated from a 4-Phenyl-2-carboxy-piperazine Scaffold. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 3, n. 6, p. 546–553, 1 nov. 2001.

OSMANIYE, D. et al. Synthesis and Anticandidal Activity of New Imidazole-Chalcones. **Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry**, v. 23, n. 4, 4 abr. 2018.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. [s.l.] CENGAGE, 2010.

POLO, E. Ultrasound-assisted synthesis of novel chalcone, heterochalcone and bis-chalcone derivatives and the evaluation of their antioxidant properties and as acetylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, p. 11, 2019.

POONDRA, R. R.; TURNER, N. J. Microwave-Assisted Sequential Amide Bond Formation and Intramolecular Amidation: A Rapid Entry to Functionalized Oxindoles. **Organic Letters**, v. 7, n. 5, p. 863–866, 1 mar. 2005.

PRUSINER, S. B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. **Science**, v. 216, n. 4542, p. 136–144, 9 abr. 1982.

PRUSINER, S. B. Neurodegenerative Diseases and Prions. **New England Journal of Medicine**, v. 344, n. 20, p. 1516–1526, 17 maio 2001.

RAIMUNDO, B. C. et al. Integrating Fragment Assembly and Biophysical Methods in the Chemical Advancement of Small-Molecule Antagonists of IL-2: An Approach for Inhibiting Protein–Protein Interactions. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 3111–3130, 1 jun. 2004.

RAMIREZ, F.; DERSHOWITZ, S. Phosphinemethylenes. I. II. Triphenylphosphineacylmethylenes. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41–45, 1 jan. 1957.

RAMMOHAN, A. et al. Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 18, n. 2, p. 433–458, mar. 2020.

REDDY, M. V. B. et al. Inhibitory effects of Mannich bases of heterocyclic chalcones on NO production by activated RAW 264.7 macrophages and superoxide anion generation and elastase release by activated human neutrophils. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 8, p. 2751–2756, 15 abr. 2011.

RIOUX, B. et al. Design and multi-step synthesis of chalcone-polyamine conjugates as potent antiproliferative agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 18, p. 4354–4357, set. 2017.

ROMANELLI, G. et al. Synthesis of chalcones catalyzed by aminopropylated silica sol–gel under solvent-free conditions. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 340, n. 1–2, p. 24–32, abr. 2011.

RUIZ-CASTILLO, P.; BUCHWALD, S. L. Applications of Palladium-Catalyzed C–N Cross-Coupling Reactions. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 19, p. 12564–12649, 12 out. 2016.

SALEHI, B. et al. Pharmacological Properties of Chalcones: A Review of Preclinical Including Molecular Mechanisms and Clinical Evidence. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 18 jan. 2021.

SALOMÉ, C. et al. Buchwald–Hartwig reactions in water using surfactants. **Tetrahedron**, v. 70, n. 21, p. 3413–3421, maio 2014.

SALVADOR, M. R. A. Doença de Creutzfeldt-Jakob. p. 59, 2014.

SANTOS, S. N. et al. Regioselective microwave synthesis and derivatization of 1,5-diaryl-3-amino-1,2,4-triazoles and a study of their cholinesterase inhibition properties. **RSC Advances**, v. 9, n. 35, p. 20356–20369, 2019.

SHANKARAI AH, N. et al. Synthesis of different heterocycles-linked chalcone conjugates as cytotoxic agents and tubulin polymerization inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 17, p. 4805–4816, set. 2017.

SHARMA, S. et al. Metal-Free Transfer Hydrogenation of Nitroarenes in Water with Vasicine: Revelation of Organocatalytic Facet of an Abundant Alkaloid. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 79, n. 19, p. 9433–9439, 3 out. 2014.

SHEKHAR, S.; HARTWIG, J. F. Effects of Bases and Halides on the Amination of Chloroarenes Catalyzed by Pd(*P t Bu*₃)₂. **Organometallics**, v. 26, n. 2, p. 340–351, jan. 2007.

SIM, V. L. **Prion Disease: Chemotherapeutic Strategies**. Disponível em: <<https://www.eurekaselect.com/96465/article>>. Acesso em: 26 out. 2020.

SPRINGOB, K. et al. Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins. **Natural Product Reports**, v. 20, n. 3, p. 288–303, 13 jun. 2003.

SURRY, D. S.; BUCHWALD, S. L. Dialkylbiaryl phosphines in Pd-catalyzed amination: a user's guide. **Chem. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 27–50, 2011.

TANWANI, L.; FURMAN, C.; RITCHIE, C. Diagnostic Challenges in Creutzfeldt-Jakob Disease: Case Report. **Southern Medical Journal**, v. 96, n. 8, p. 832–835, ago. 2003.

TOMORI, H.; FOX, J. M.; BUCHWALD, S. L. An Improved Synthesis of Functionalized Biphenyl-Based Phosphine Ligands. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 65, n. 17, p. 5334–5341, 1 ago. 2000.

TRÖSTER, A. et al. Enantioselective Intermolecular [2 + 2] Photocycloaddition Reactions of 2(1H)-Quinolones Induced by Visible Light Irradiation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 25, p. 7808–7811, 29 jun. 2016.

VINOGRADOV, M. G.; TUROVA, O. V.; ZLOTIN, S. G. Recent advances in the asymmetric synthesis of pharmacology-relevant nitrogen heterocycles *via* stereoselective aza-Michael reactions. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 17, n. 15, p. 3670–3708, 2019.

VOET, D.; VOET, J. **Bioquímica**. 4^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

WAGNER, P. et al. t-BuXPhos: a highly efficient ligand for Buchwald–Hartwig coupling in water. **Green Chemistry**, v. 16, n. 9, p. 4170–4178, 19 ago. 2014.

WANG, G. et al. A Strategy To Prepare Peptide Heterodimers in the Solid Phase with an Acid-Labile Linker. **Organic Letters**, v. 21, n. 18, p. 7351–7355, 20 set. 2019.

WANG, J. et al. Selective cleavage of the N-propargyl group from sulfonamides and amides under ruthenium catalysis. **Tetrahedron Letters**, v. 59, n. 20, p. 1902–1905, 16 maio 2018.

WANG, Z. (ED.). **Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents**. 1ª edição ed. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience, 2009.

WIDENHOEFER, R. A.; BUCHWALD, S. L. Halide and Amine Influence in the Equilibrium Formation of Palladium Tris(o-tolyl)phosphine Mono(amine) Complexes from Palladium Aryl Halide Dimers. **Organometallics**, v. 15, n. 12, p. 2755–2763, 11 jun. 1996.

WOLFE, J. P.; WAGAW, S.; BUCHWALD, S. L. An Improved Catalyst System for Aromatic Carbon–Nitrogen Bond Formation: The Possible Involvement of Bis(Phosphine) Palladium Complexes as Key Intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 30, p. 7215–7216, 1 jan. 1996.

WU, J.-H. et al. Anti-AIDS agents 54. A potent anti-HIV chalcone and flavonoids from genus *Desmos*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, n. 10, p. 1813–1815, 19 maio 2003.

XU, C.; CHEN, G.; HUANG, X. Chalcones by the Wittig Reaction of a Stable Ylide with Aldehydes Under Microwave Irradiation. **Organic Preparations and Procedures International**, v. 27, n. 5, p. 559–561, 1 out. 1995.

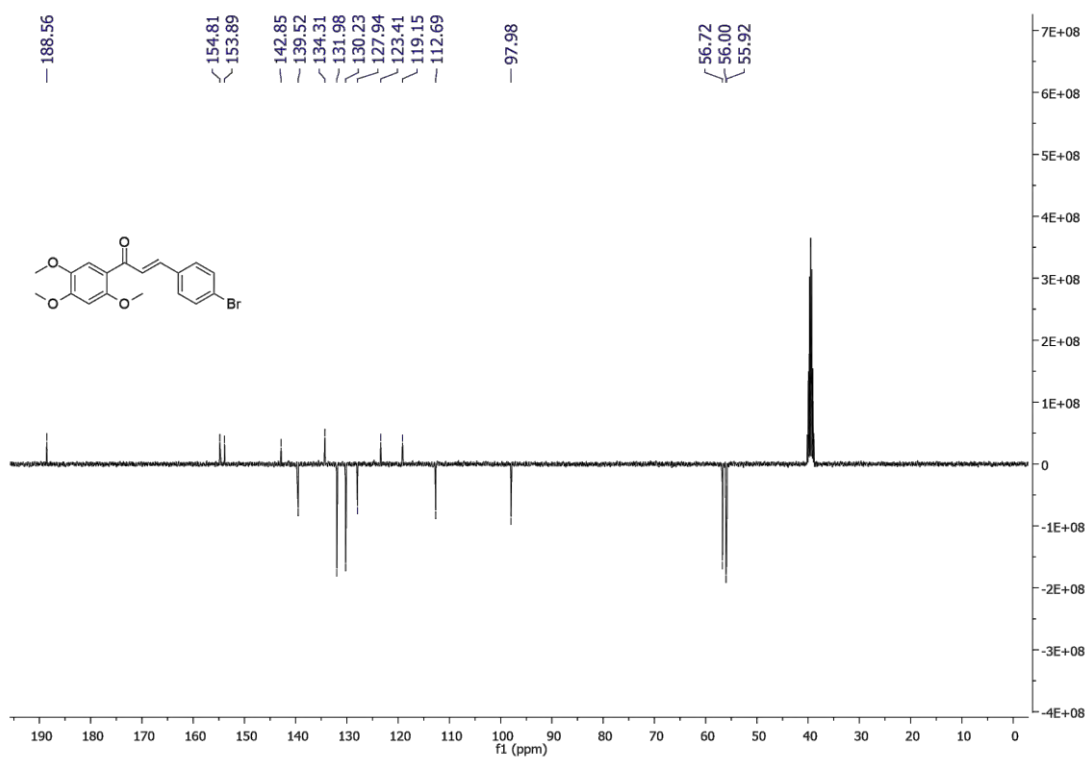
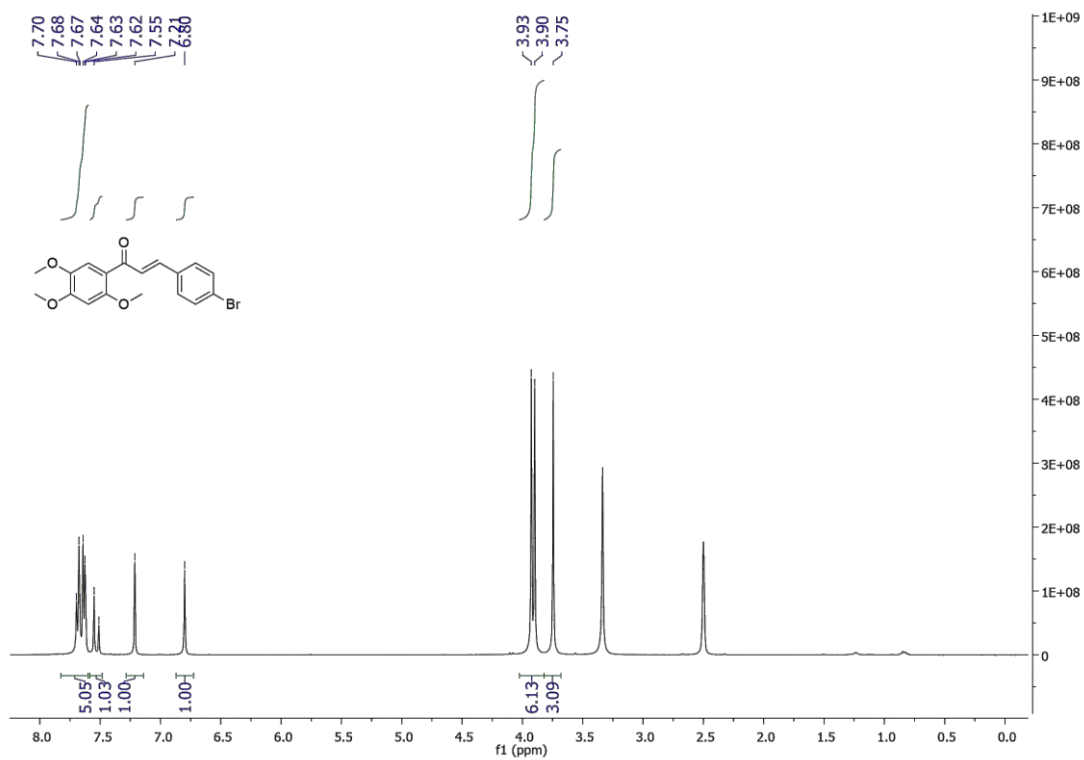
YAMAMOTO, N. Hot Spot of Structural Ambivalence in Prion Protein Revealed by Secondary Structure Principal Component Analysis. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 33, p. 9826–9833, 21 ago. 2014.

ZHANG, X. et al. Multi-targetable chalcone analogs to treat deadly Alzheimer's disease: Current view and upcoming advice. **Bioorganic Chemistry**, v. 80, p. 86–93, 1 out. 2018.

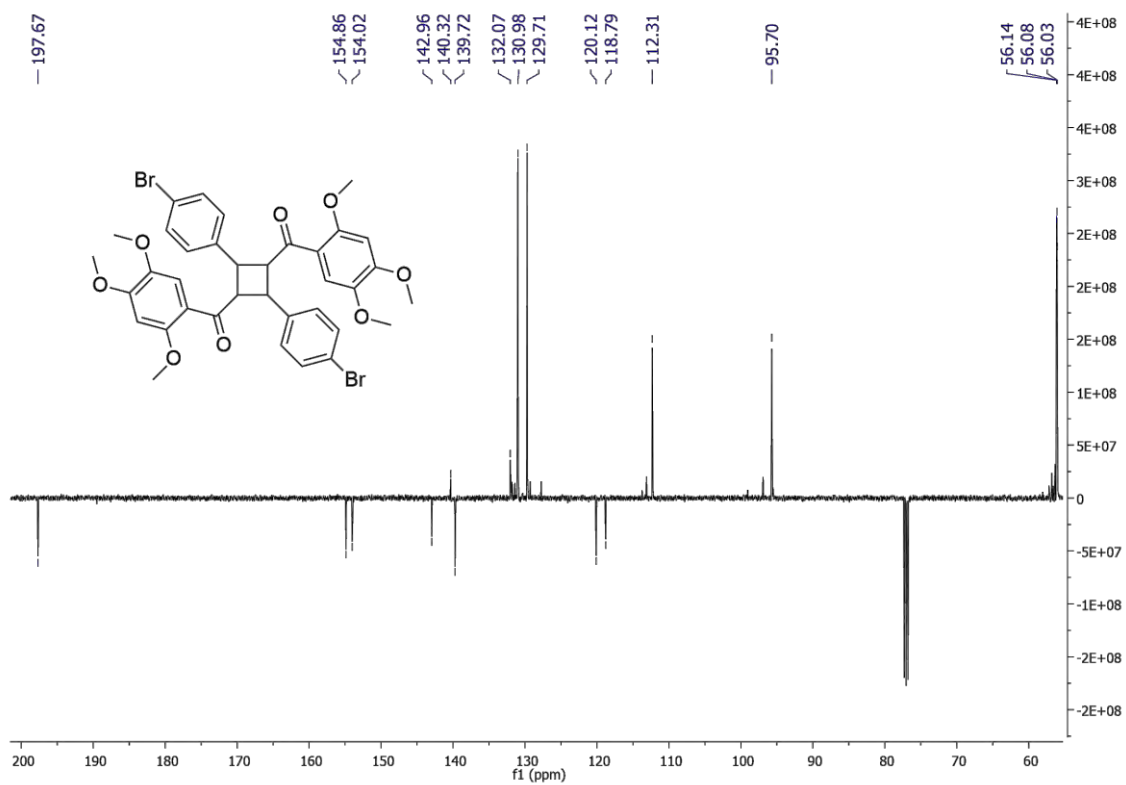
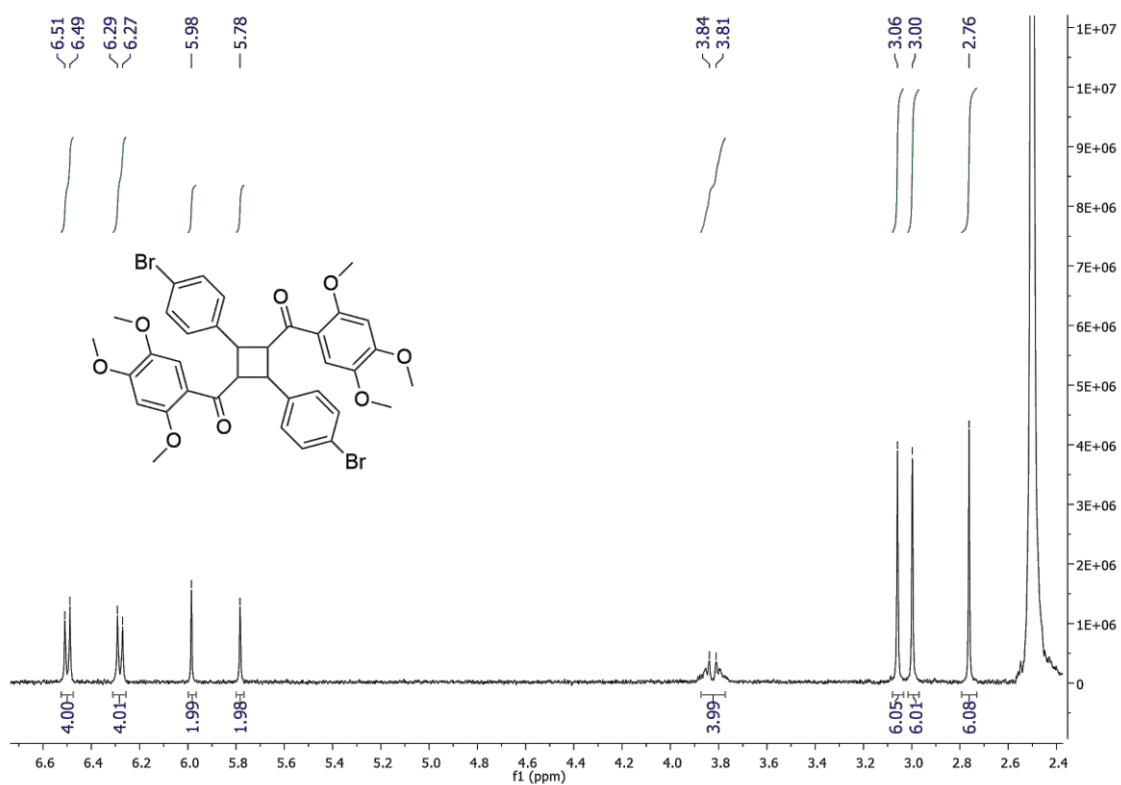
ZHUANG, C. et al. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. **Chem. Rev.**, p. 49, 2017.

7 ANEXOS

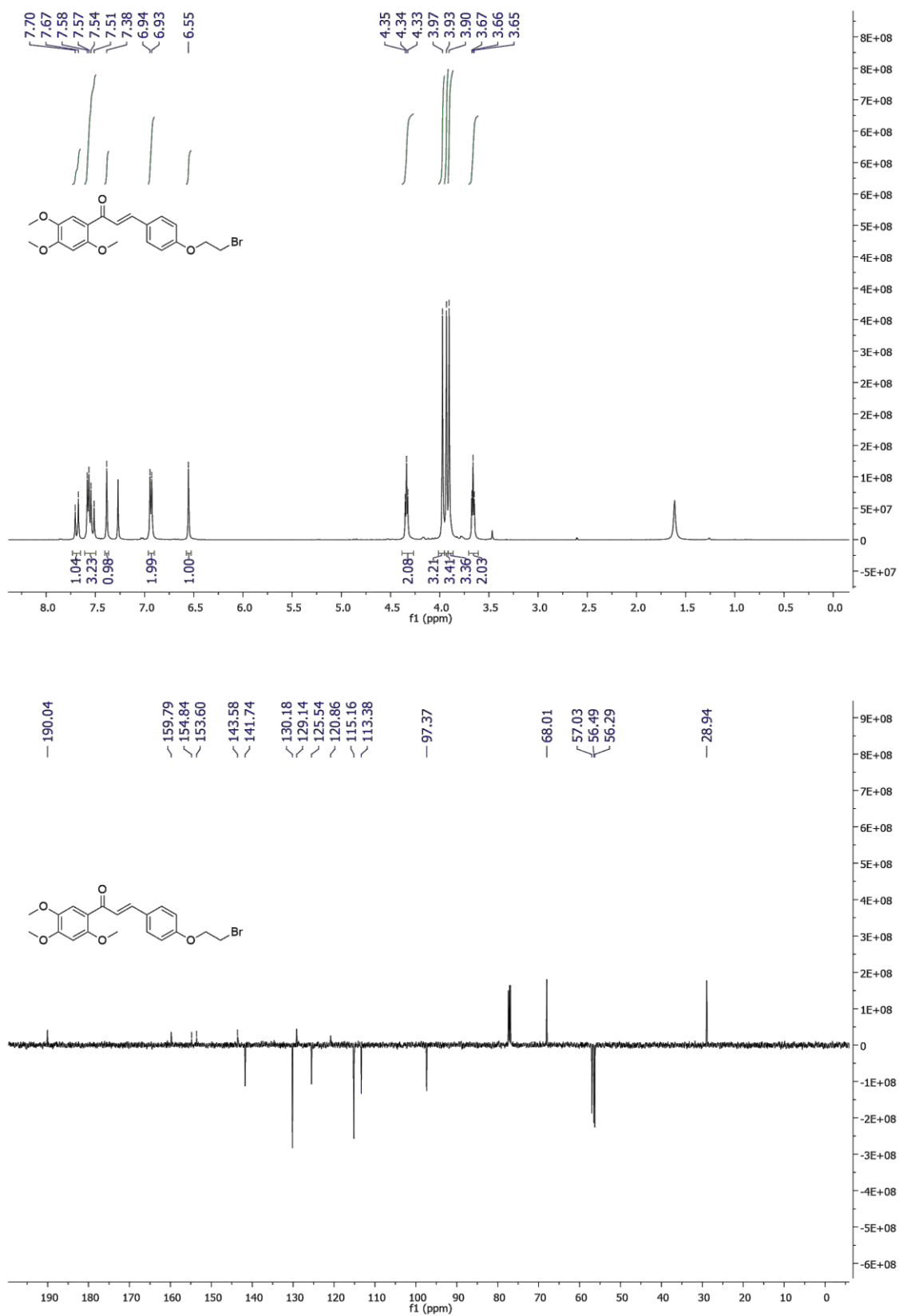
Anexo 1: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto **43** em DMSO- d_6 .



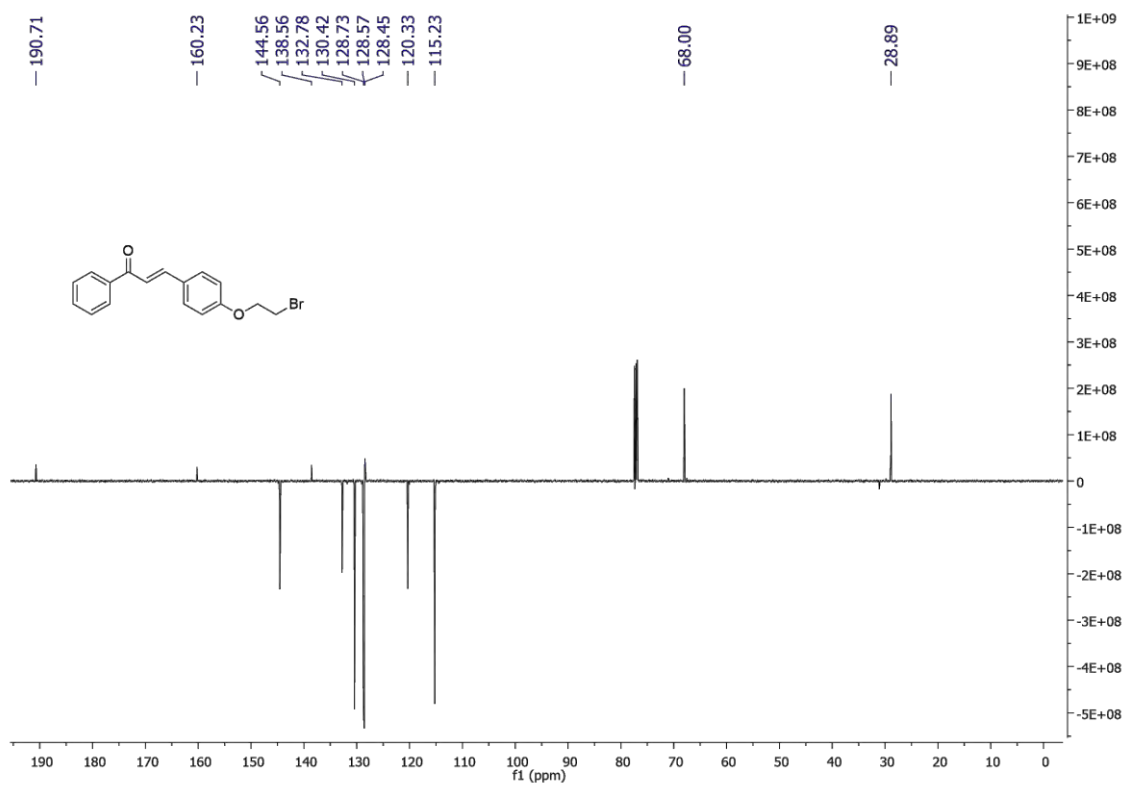
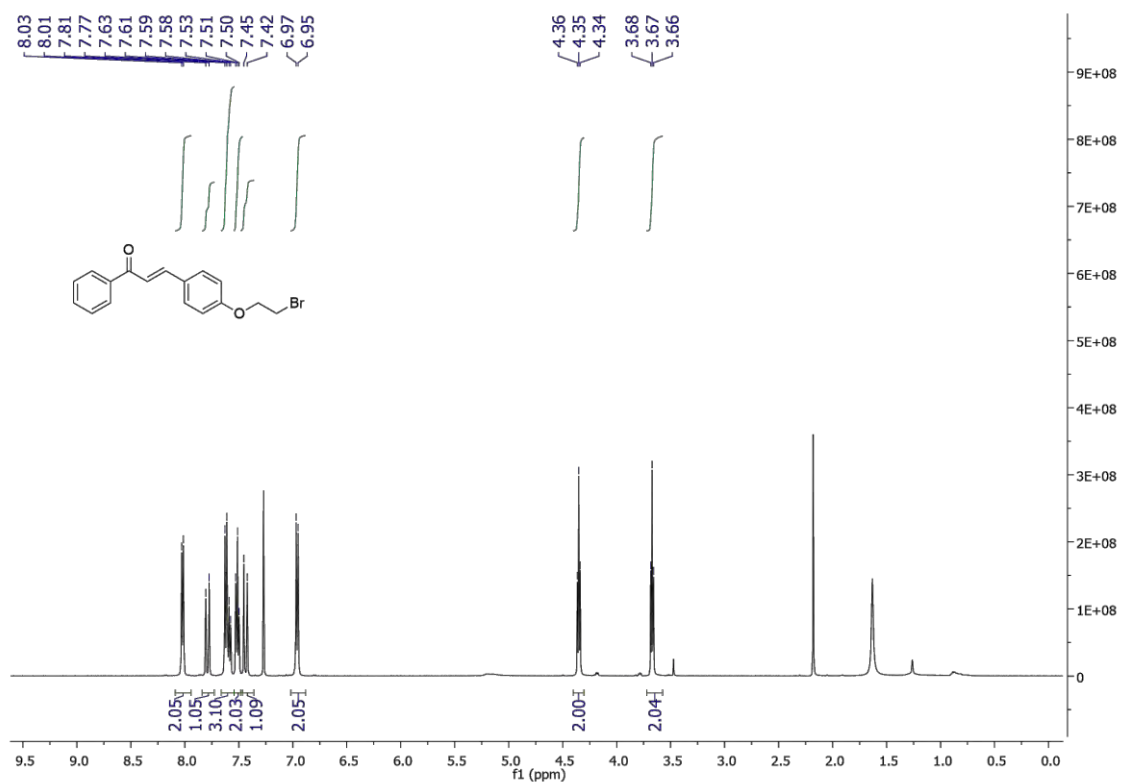
Anexo 2: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto **67** em DMSO- d_6 .



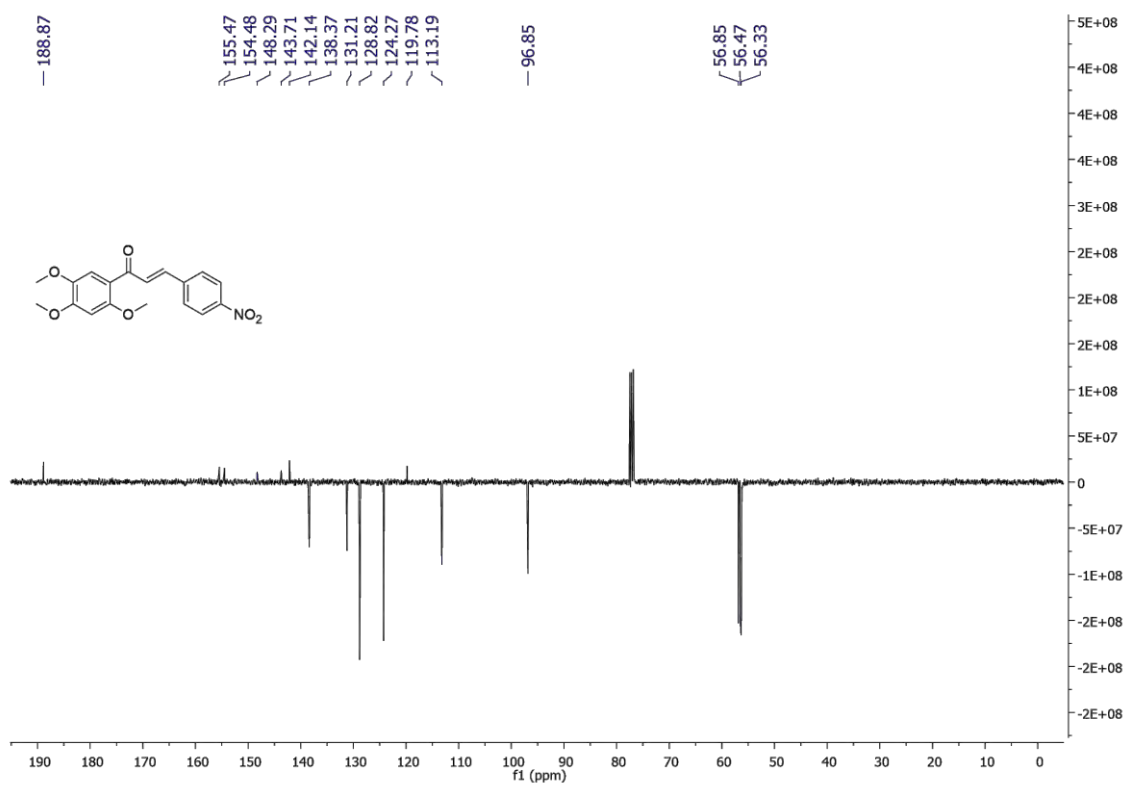
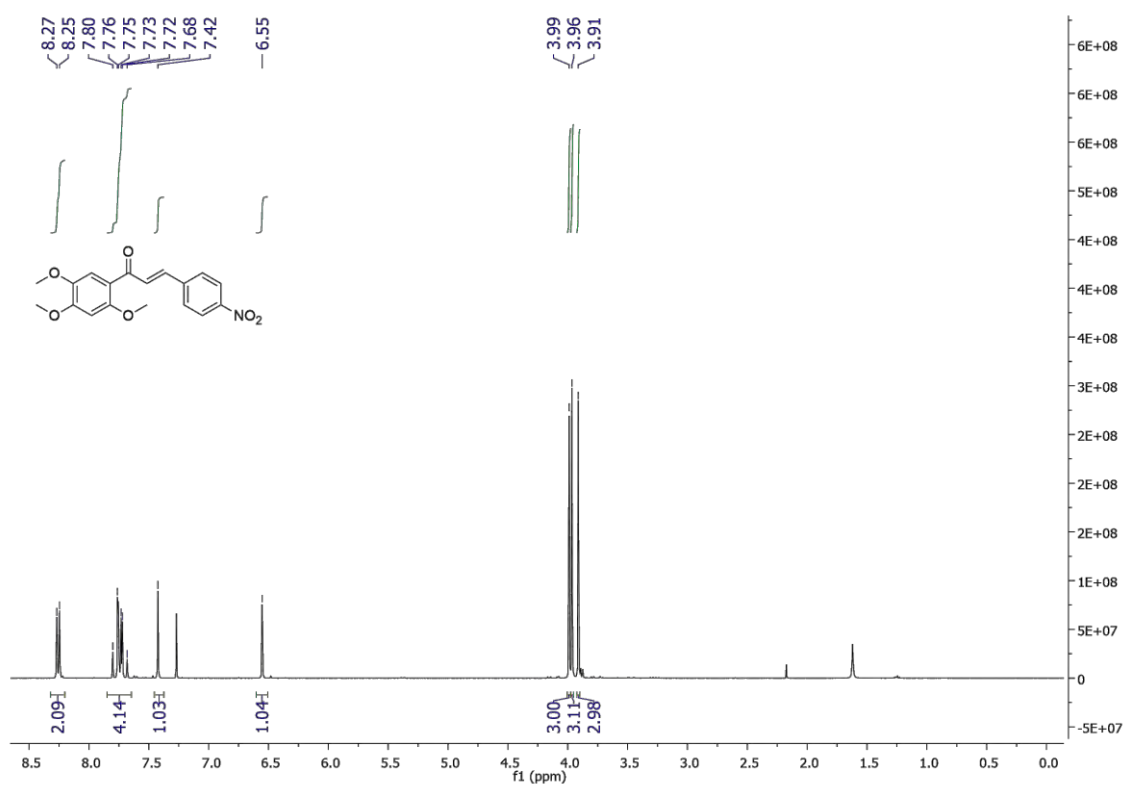
Anexo 3: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **47a** em CDCl_3 . MHz.



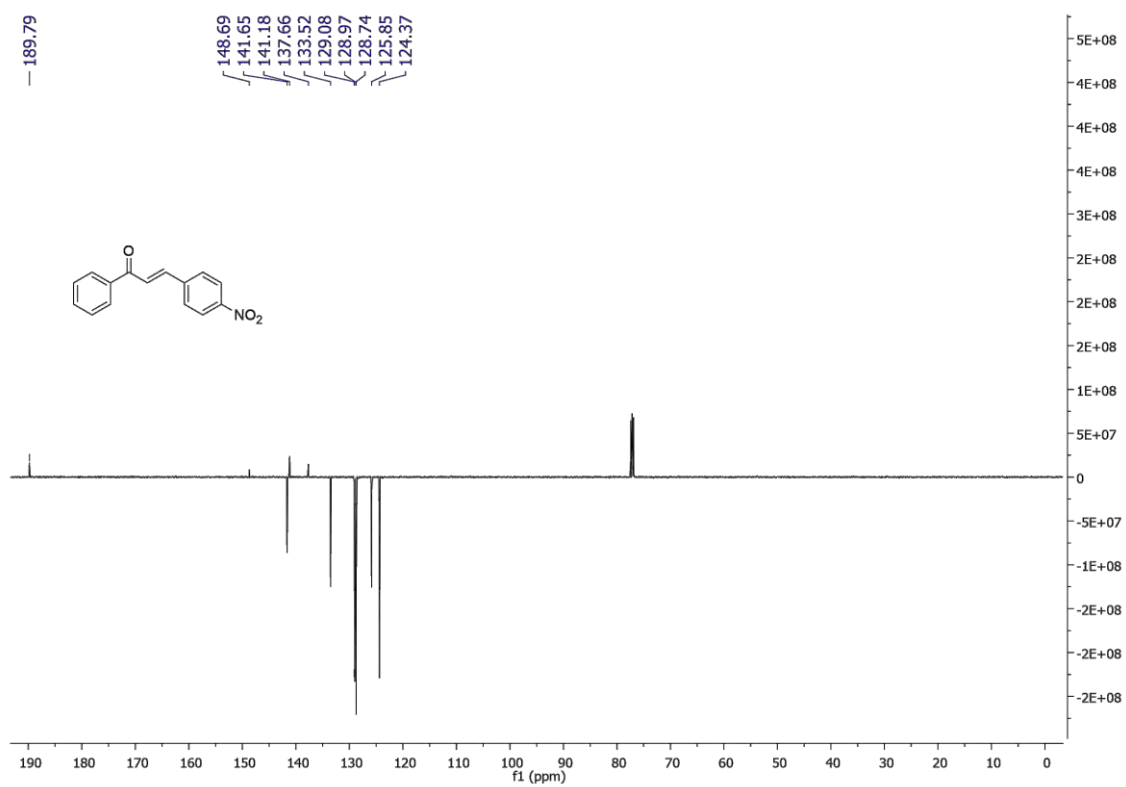
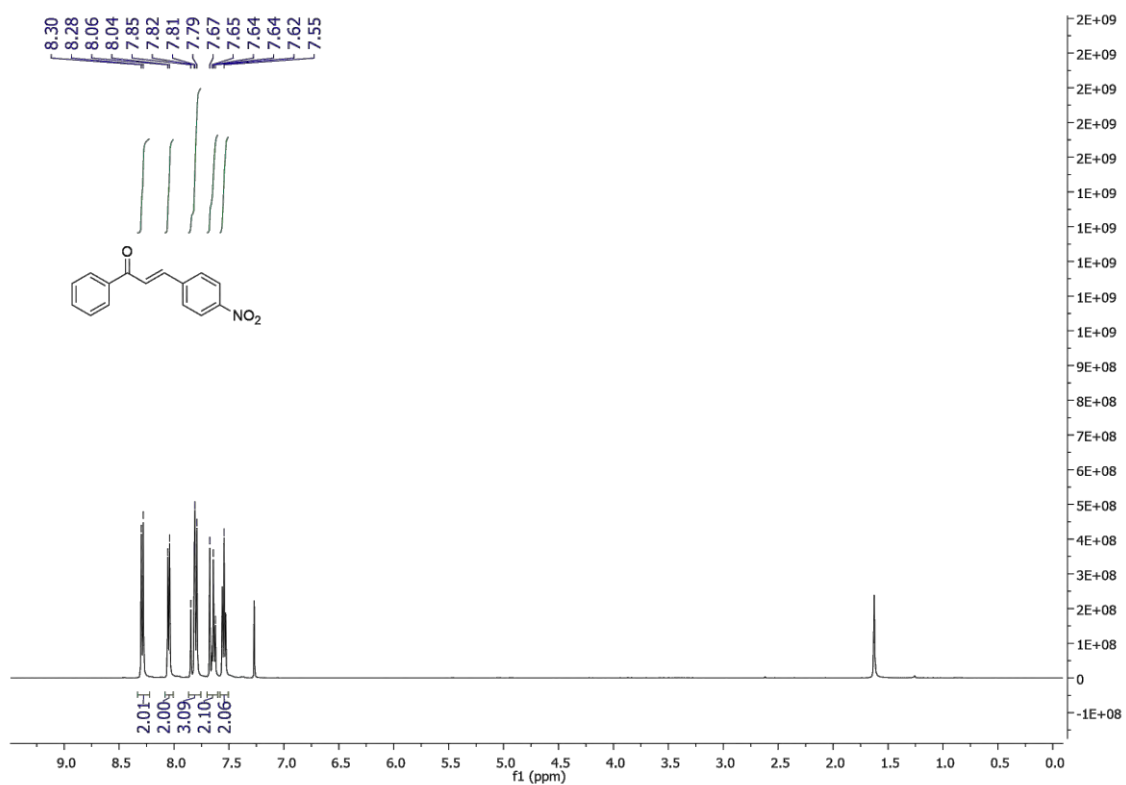
Anexo 4: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **47c** em CDCl_3 .



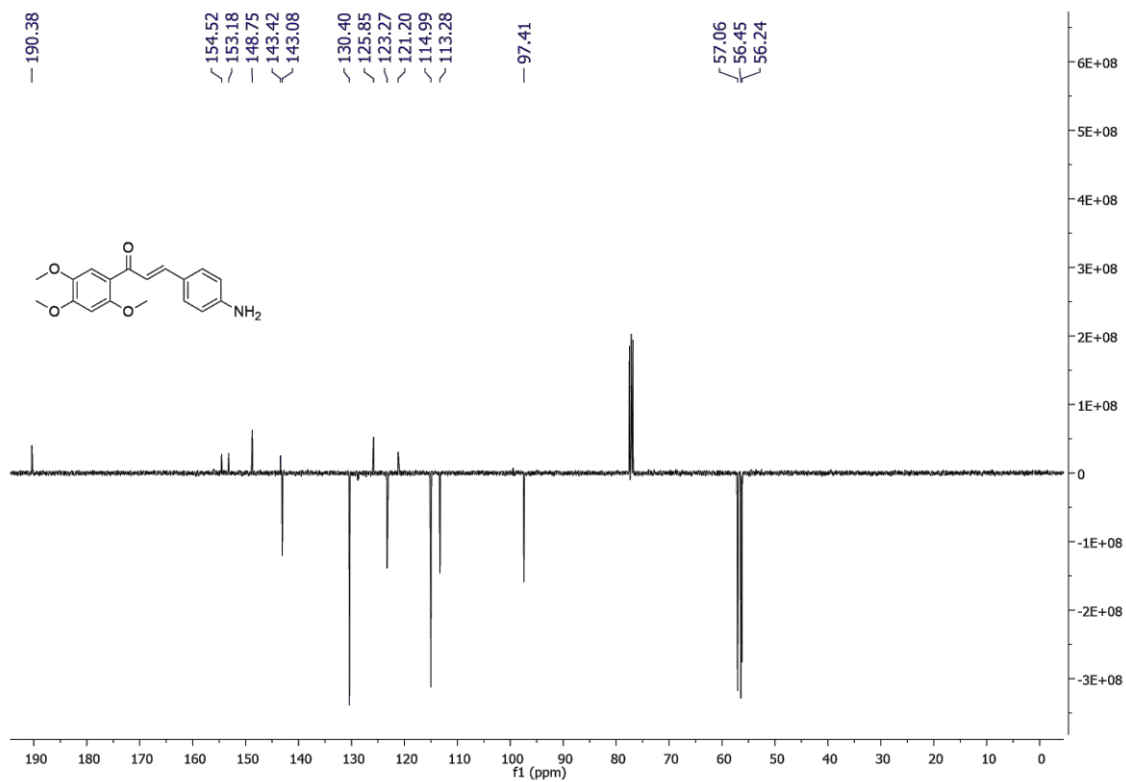
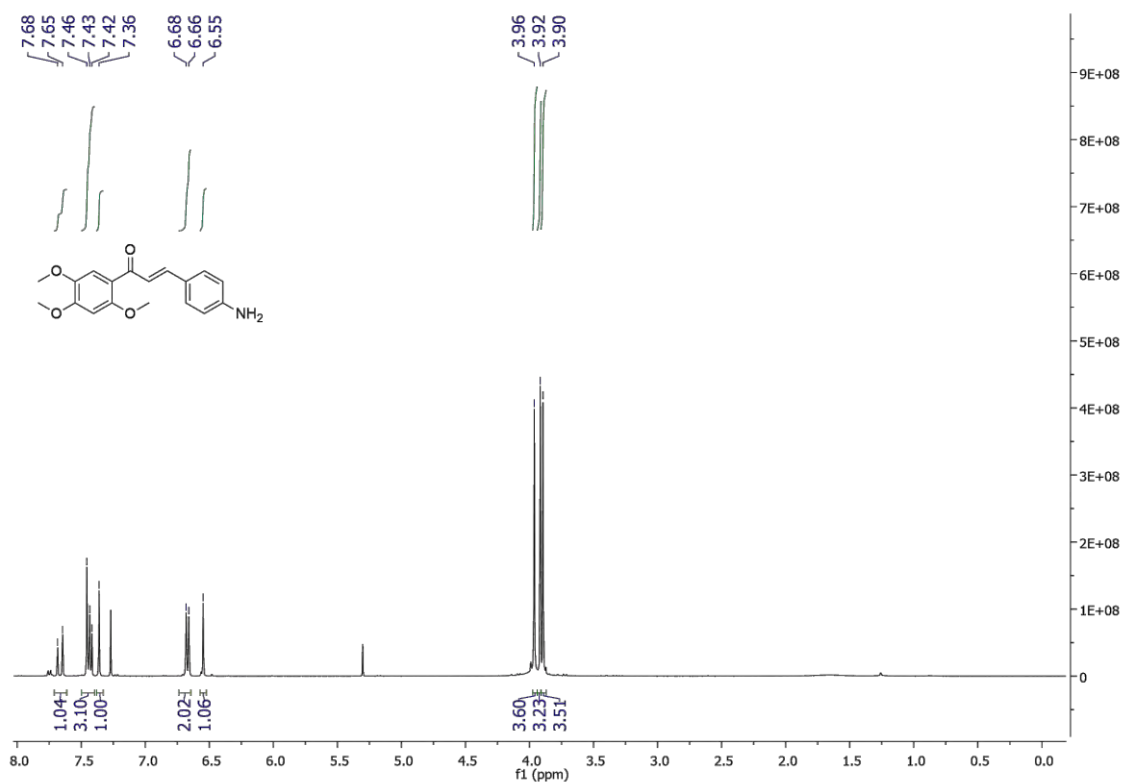
Anexo 5: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto **57a** em CDCl_3 .



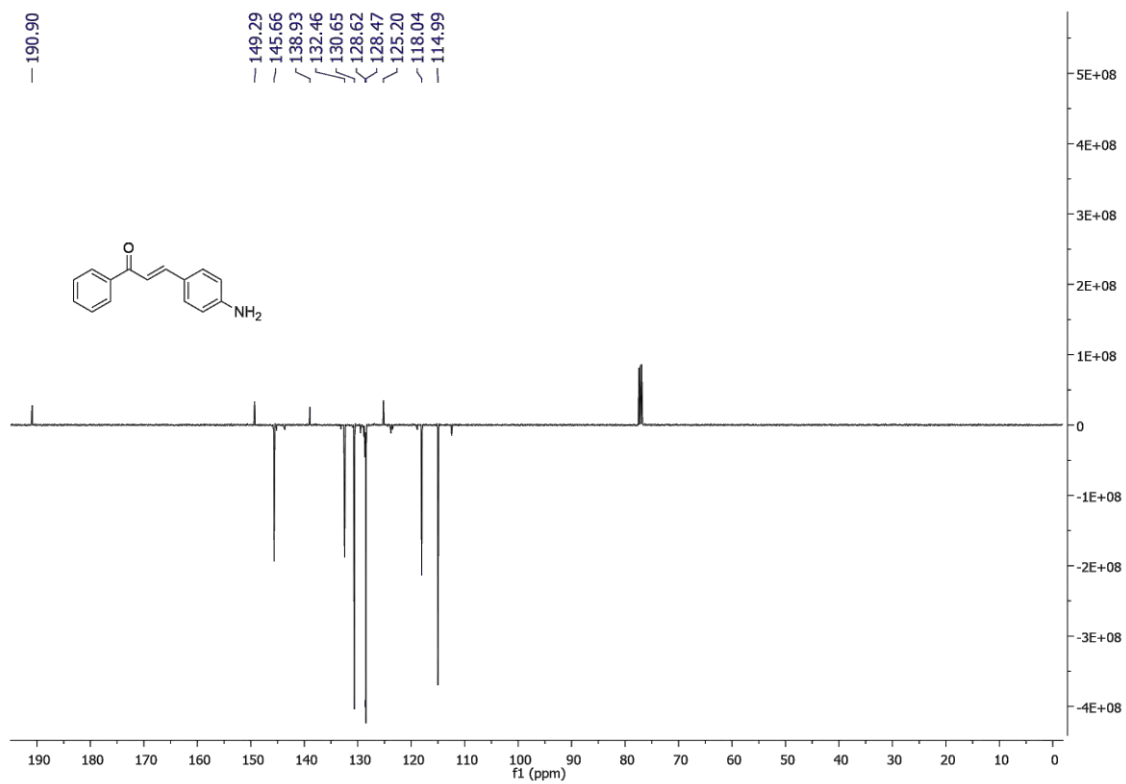
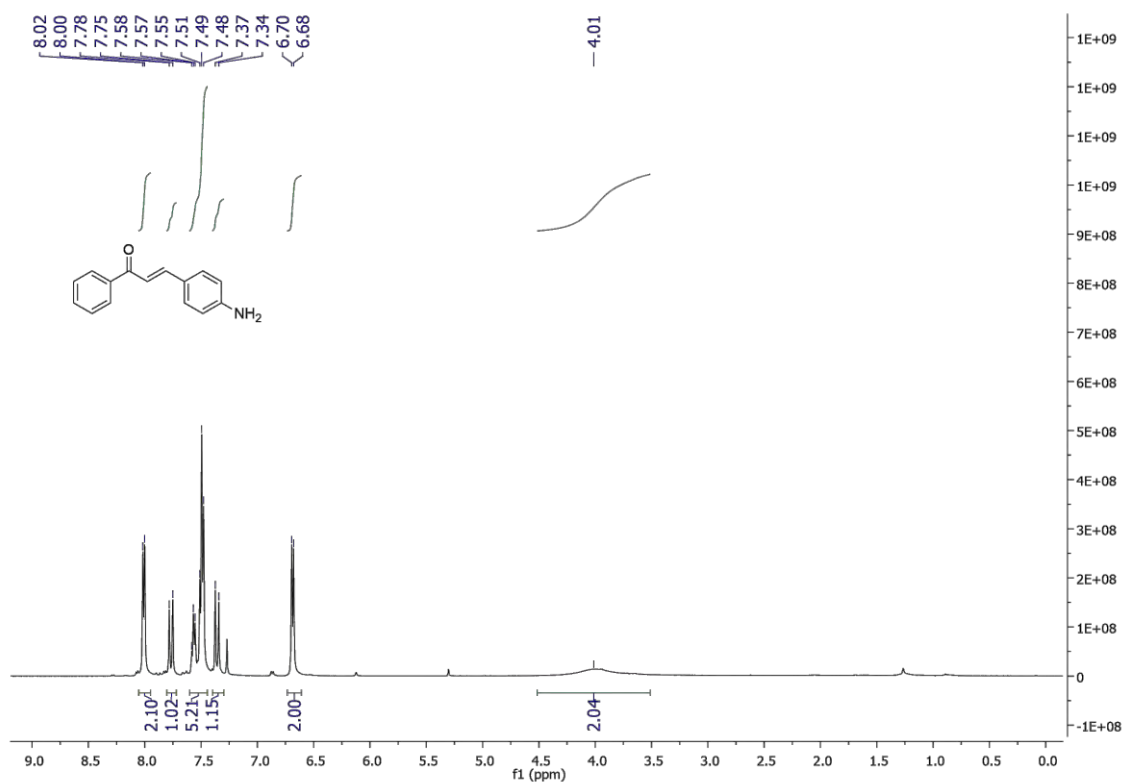
Anexo 6: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto **57b** em CDCl_3 .



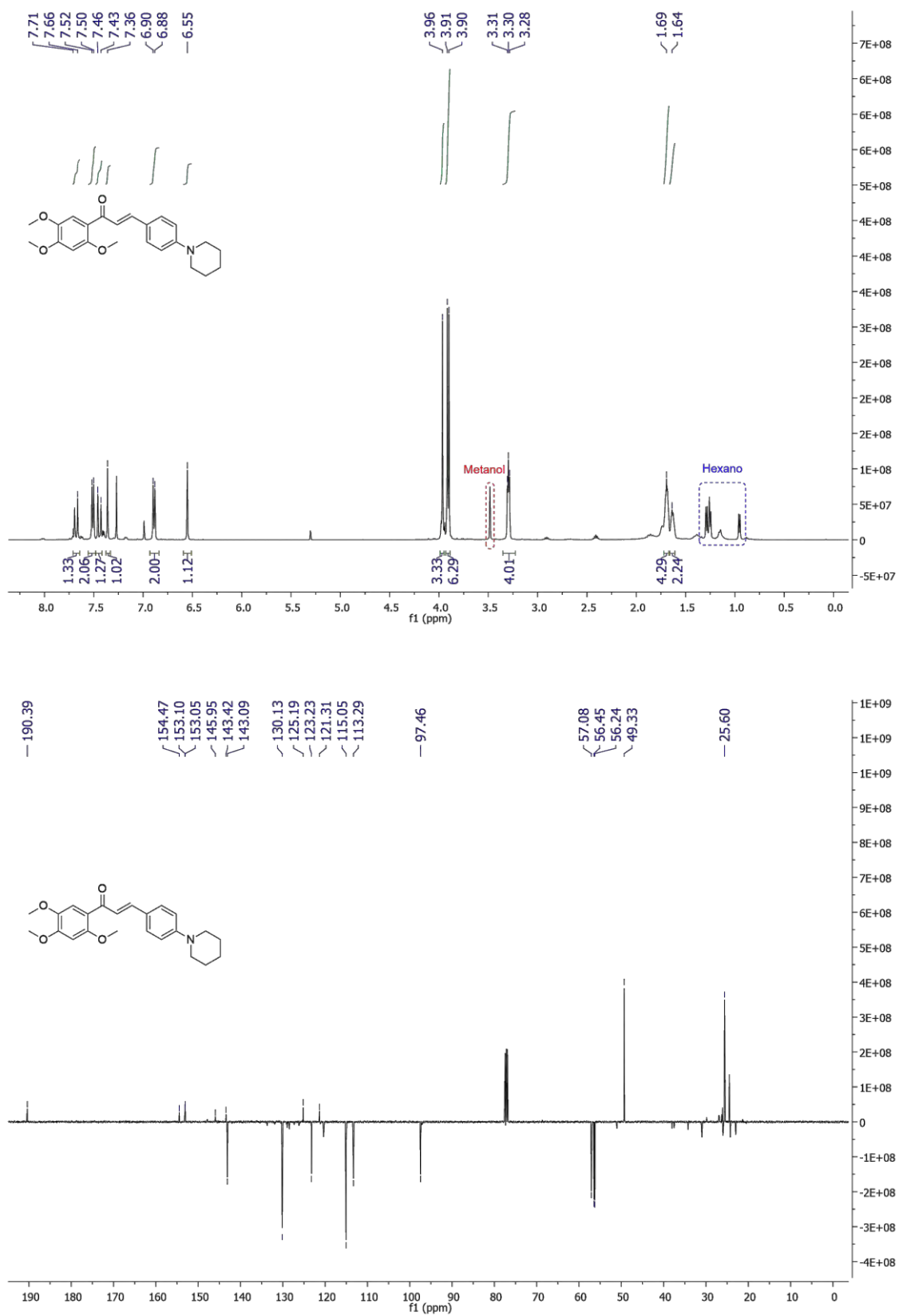
Anexo 7: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto **56a** em CDCl_3 .



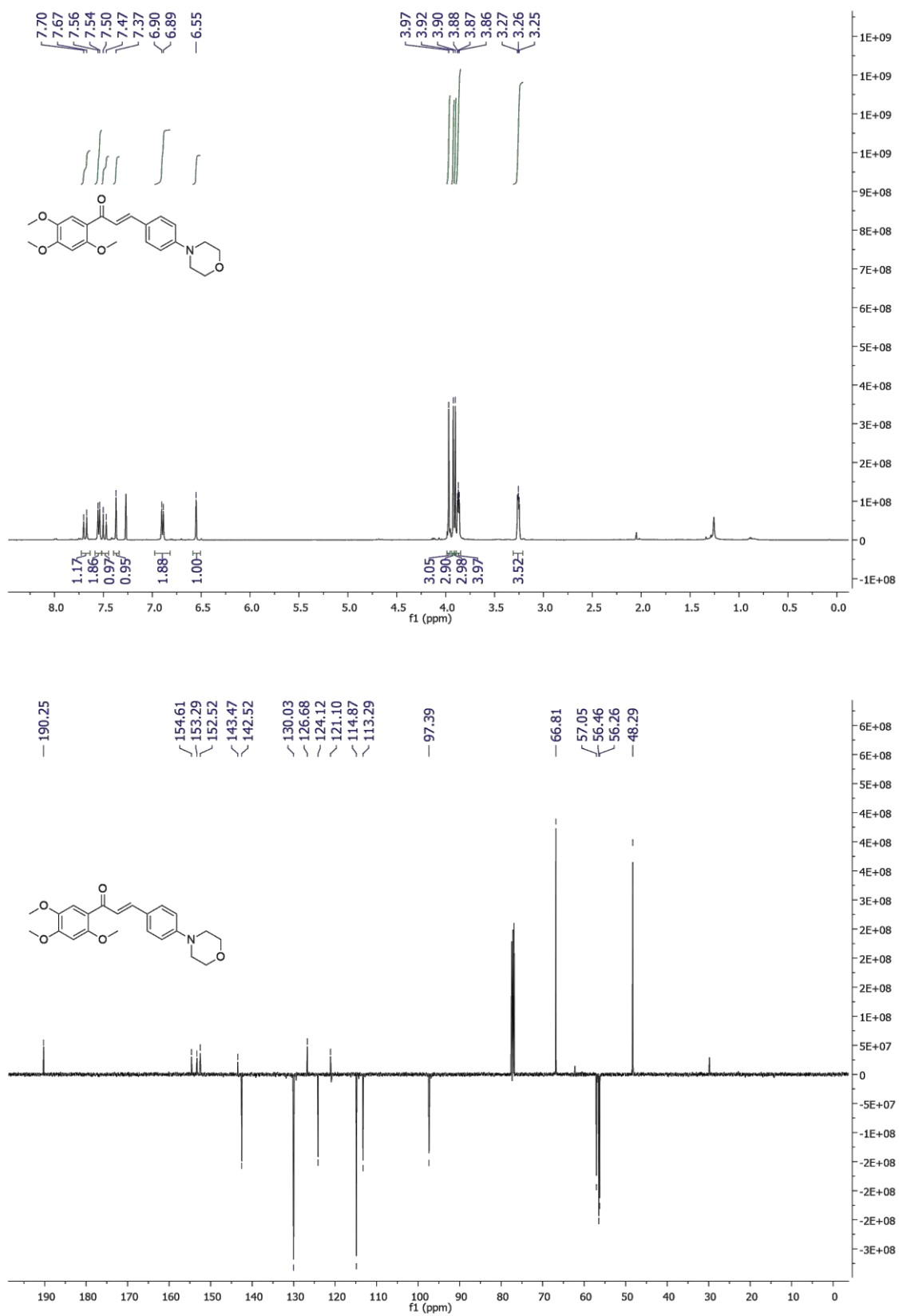
Anexo 8: Espectro de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) do composto **56b** em CDCl_3 .



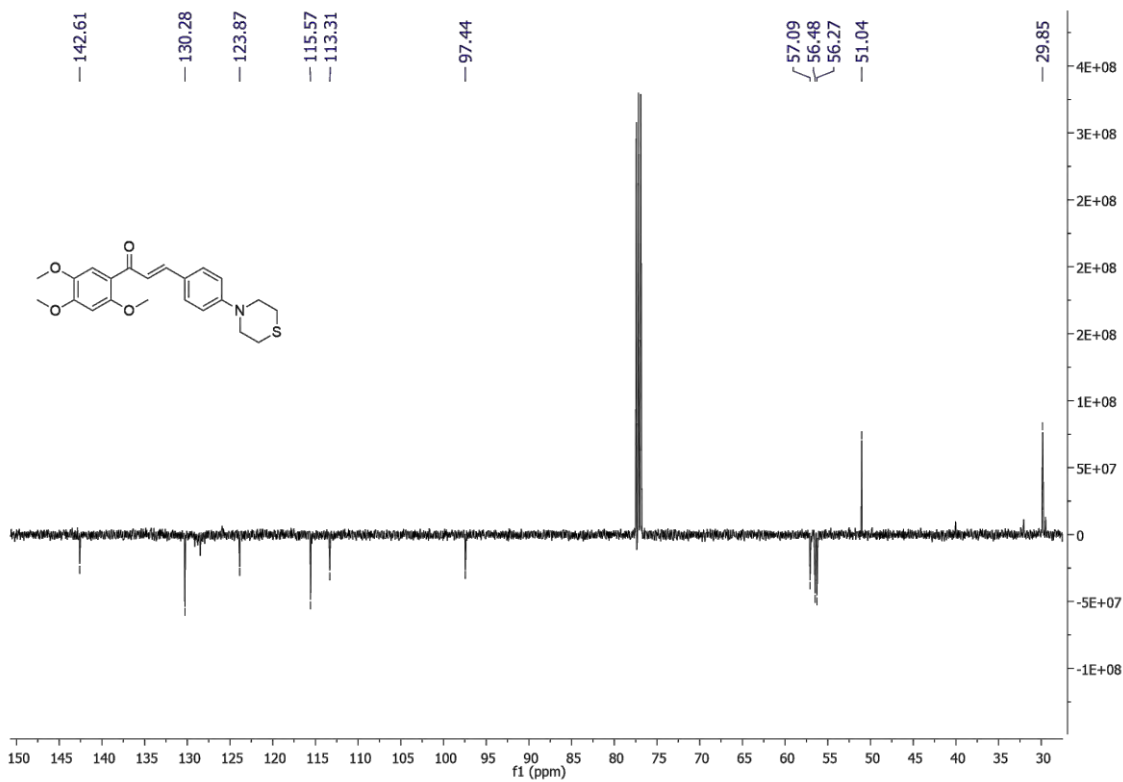
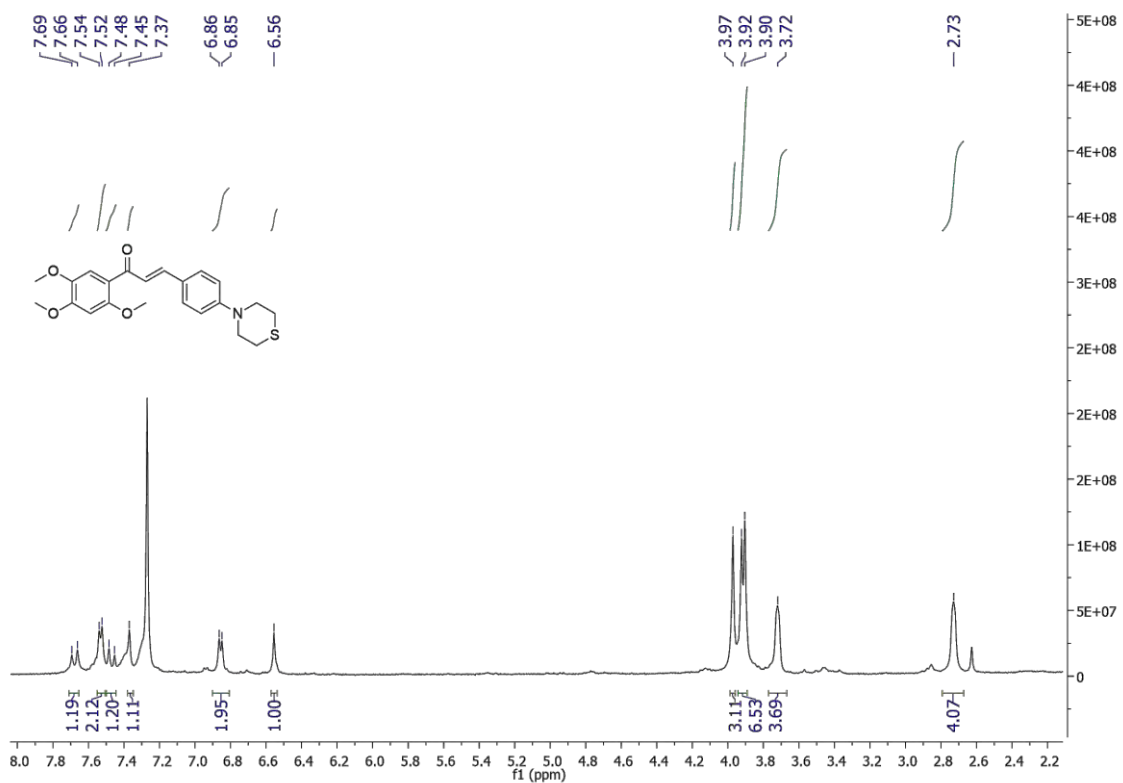
Anexo 9: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **42a** em CDCl_3 .



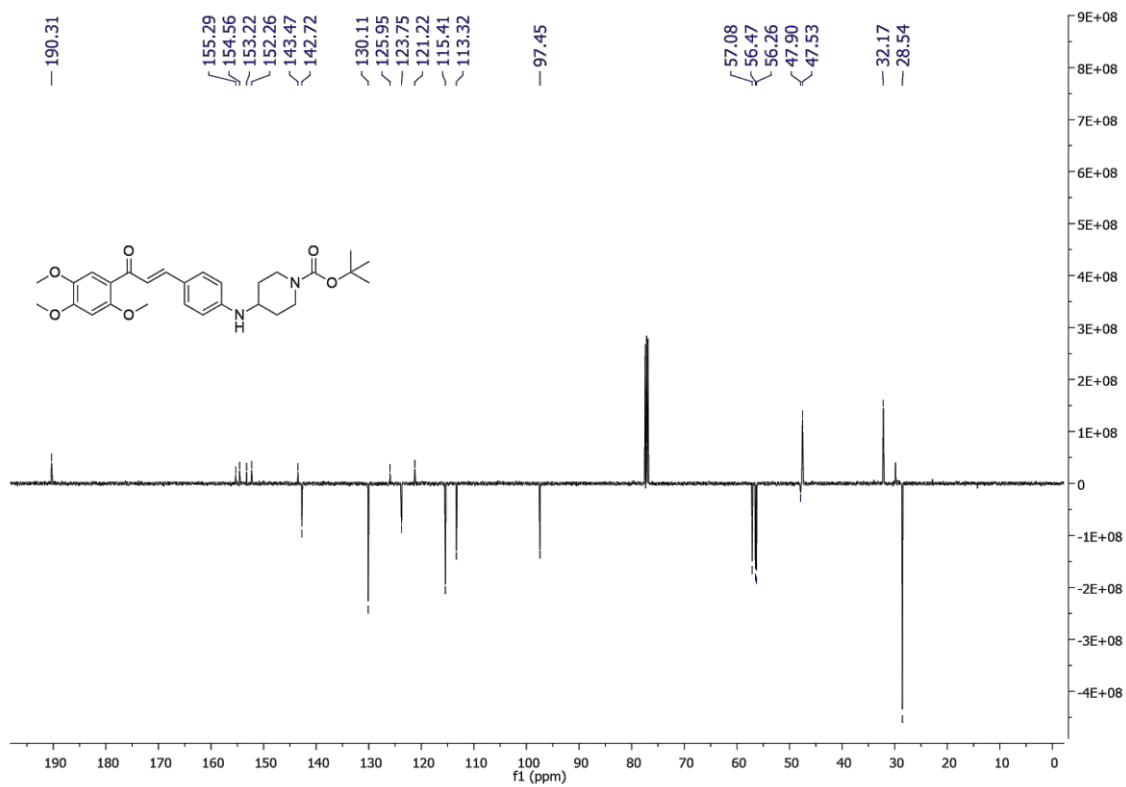
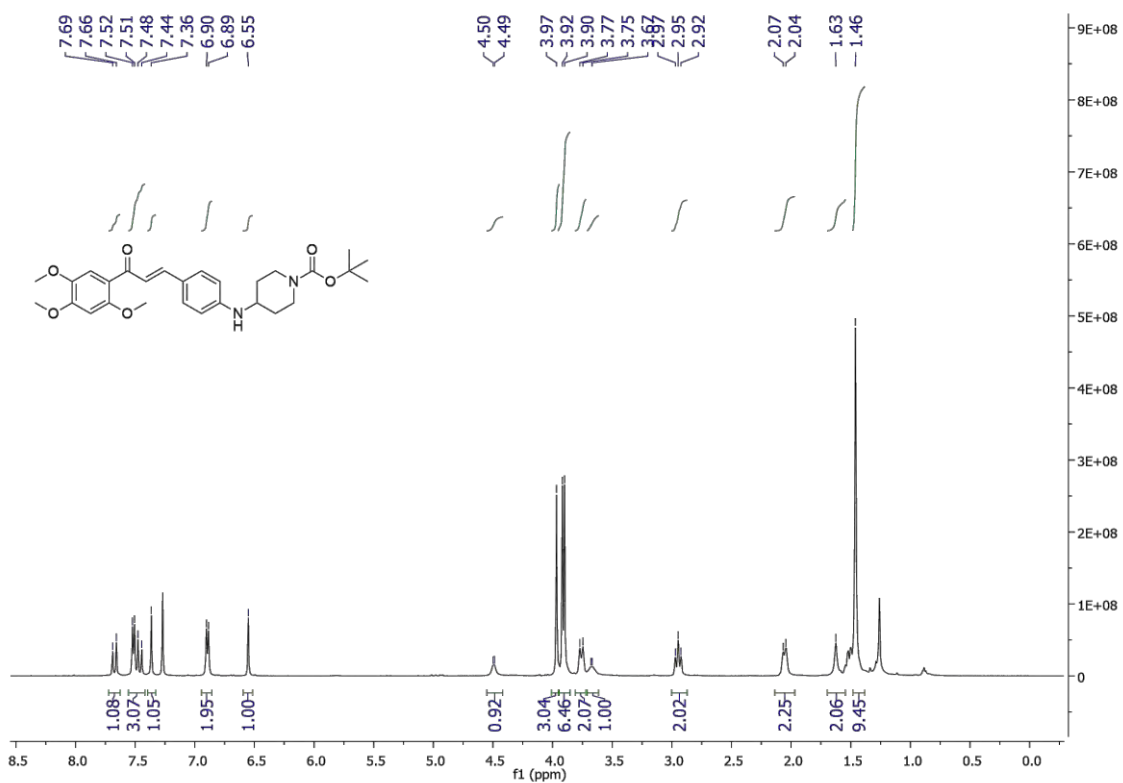
Anexo 10: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **42b** em CDCl_3 .



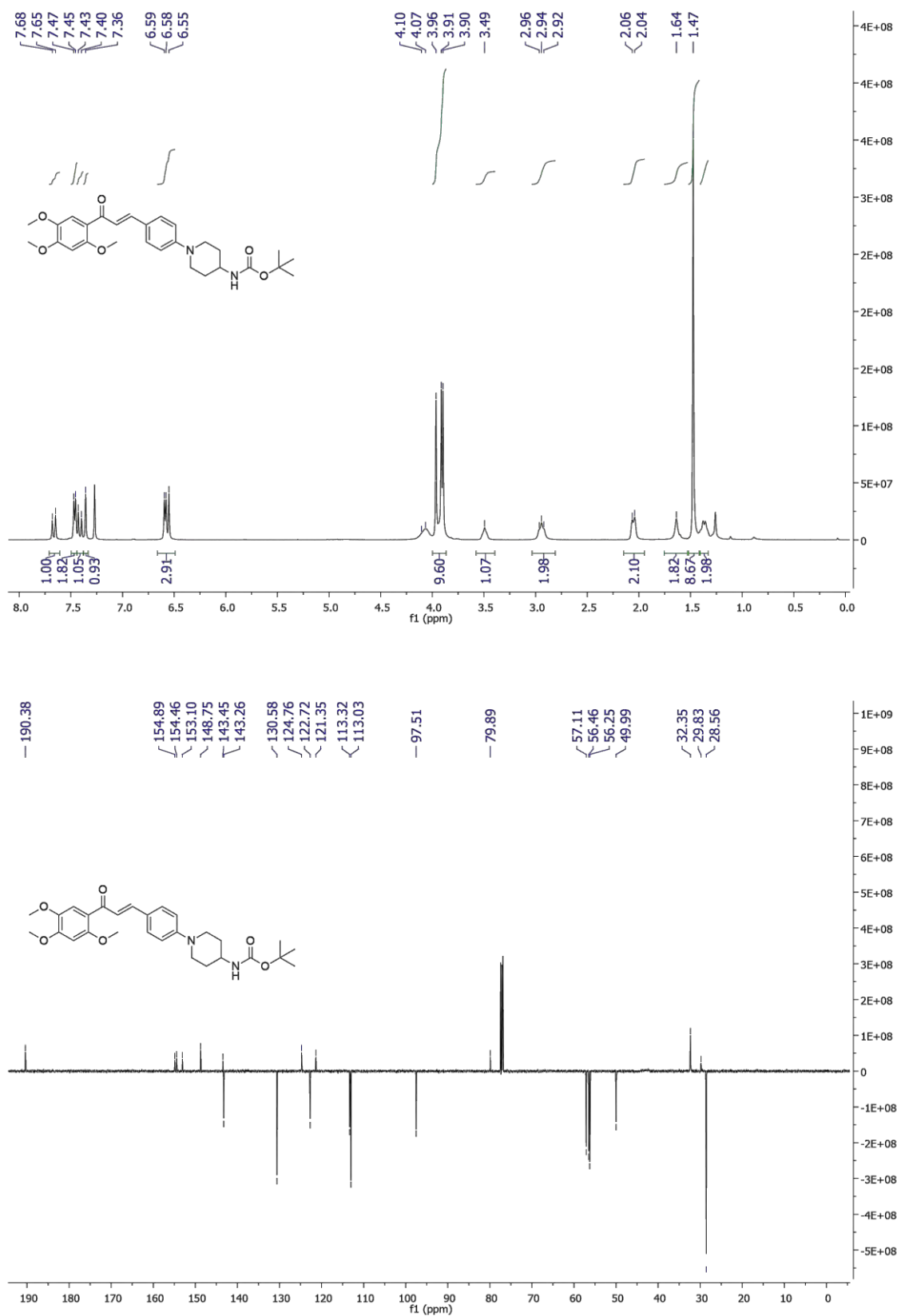
Anexo 11: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **42c** em CDCl_3 .



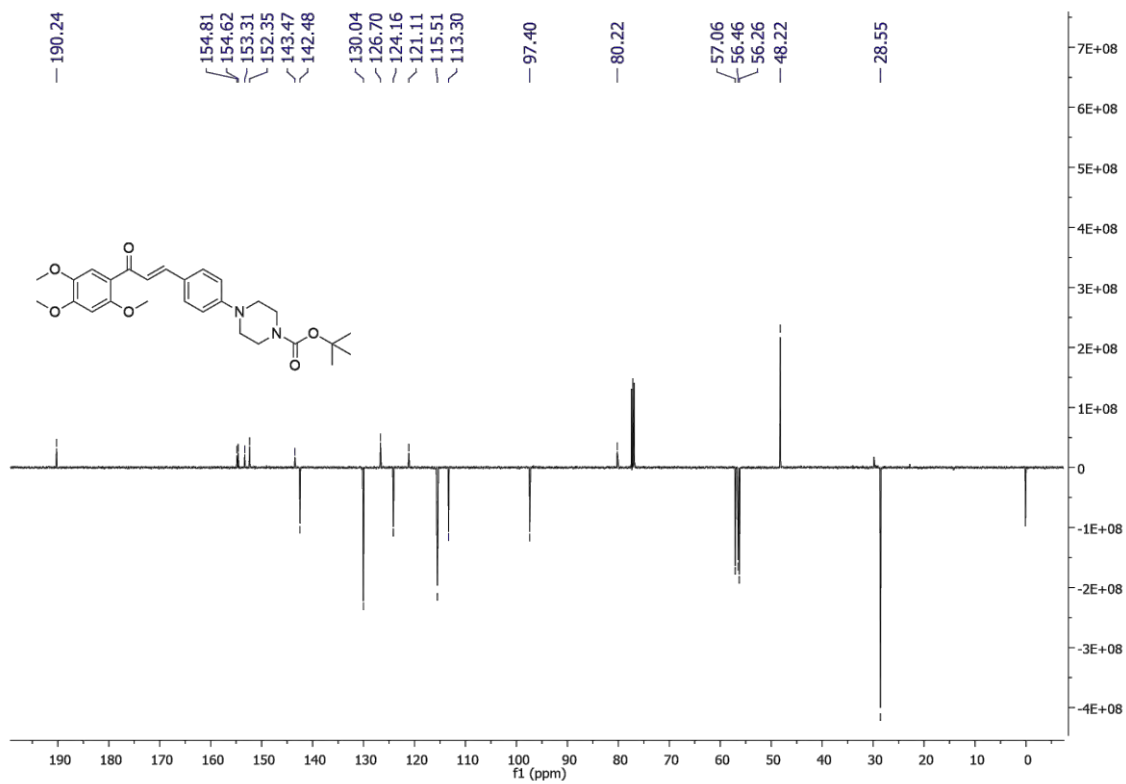
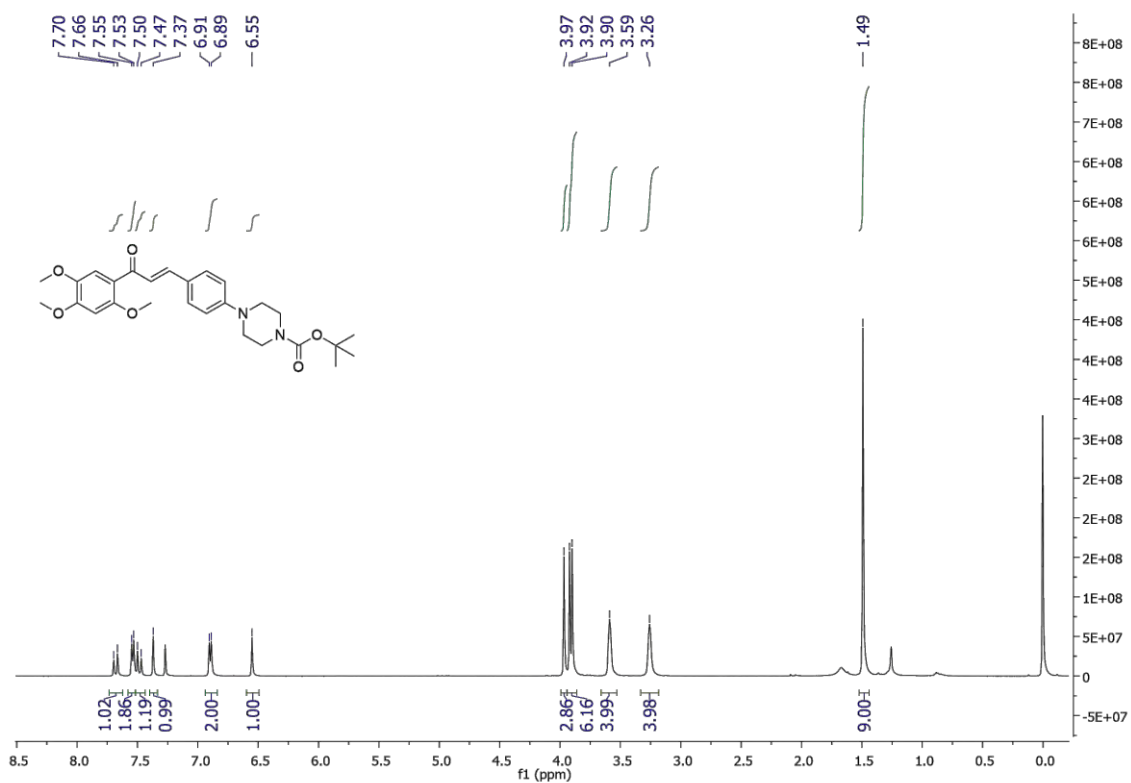
Anexo 12: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) do composto **42d'** em CDCl₃.



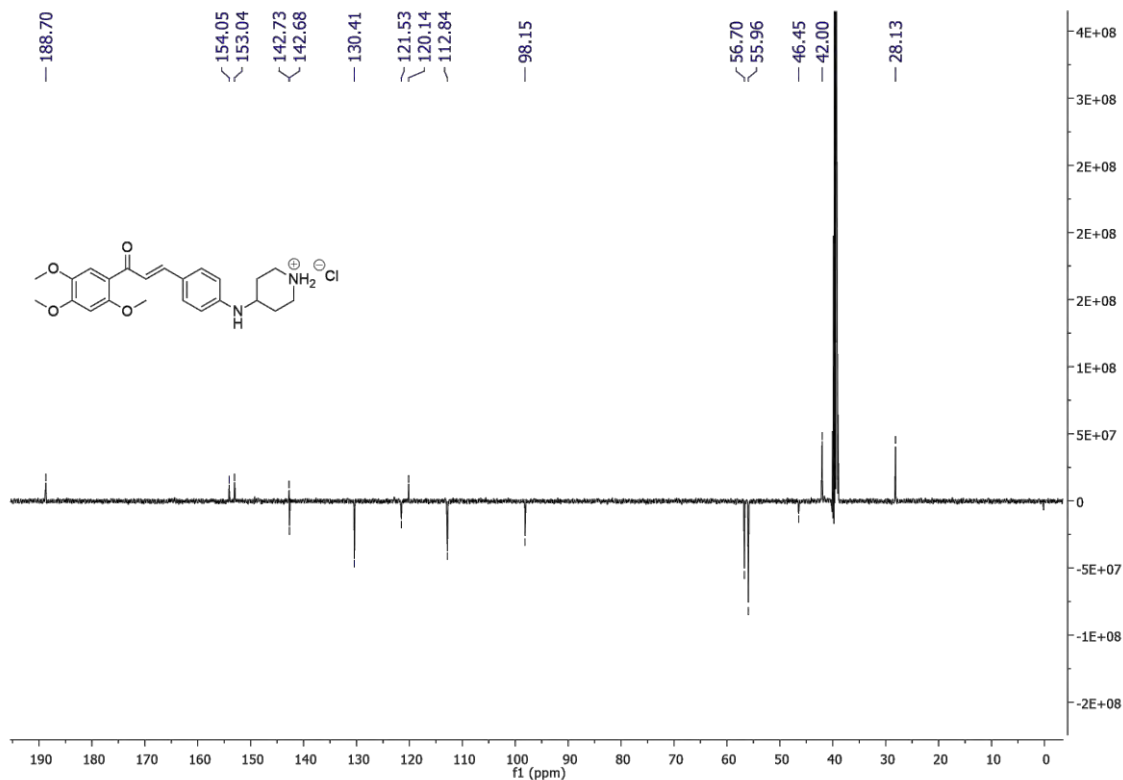
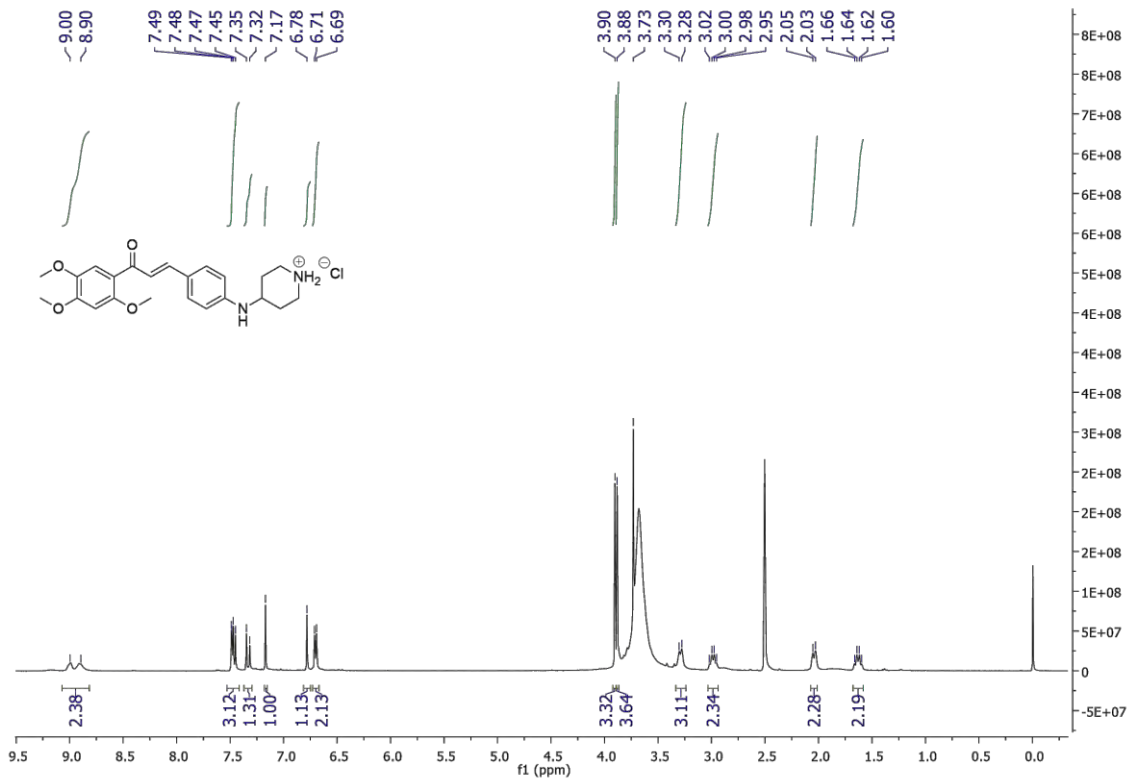
Anexo 13: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) do composto 42e' em CDCl₃.



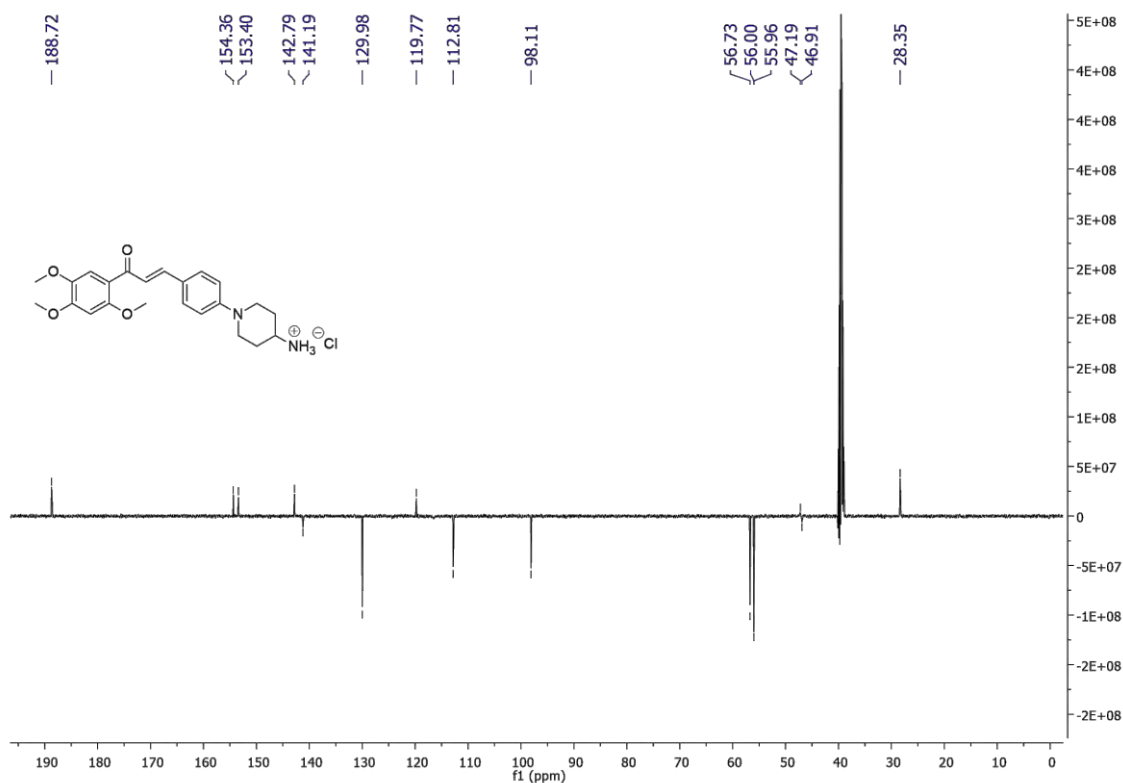
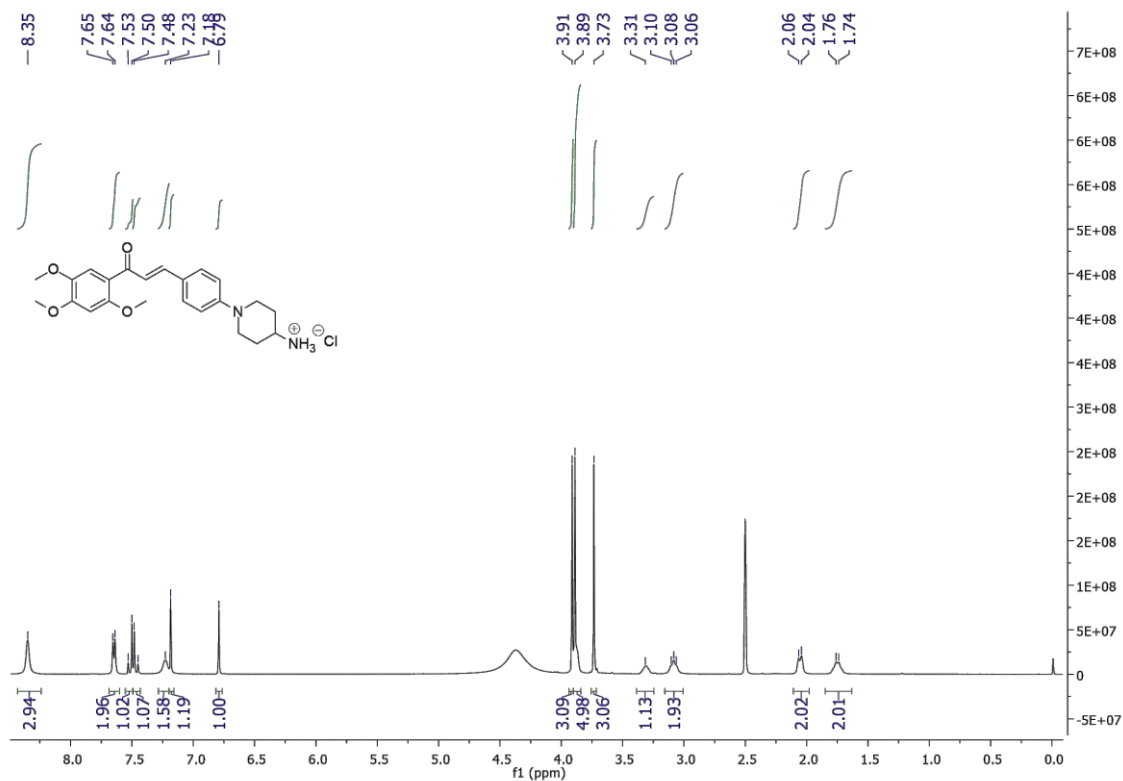
Anexo 14: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) do composto **42f** em CDCl₃.



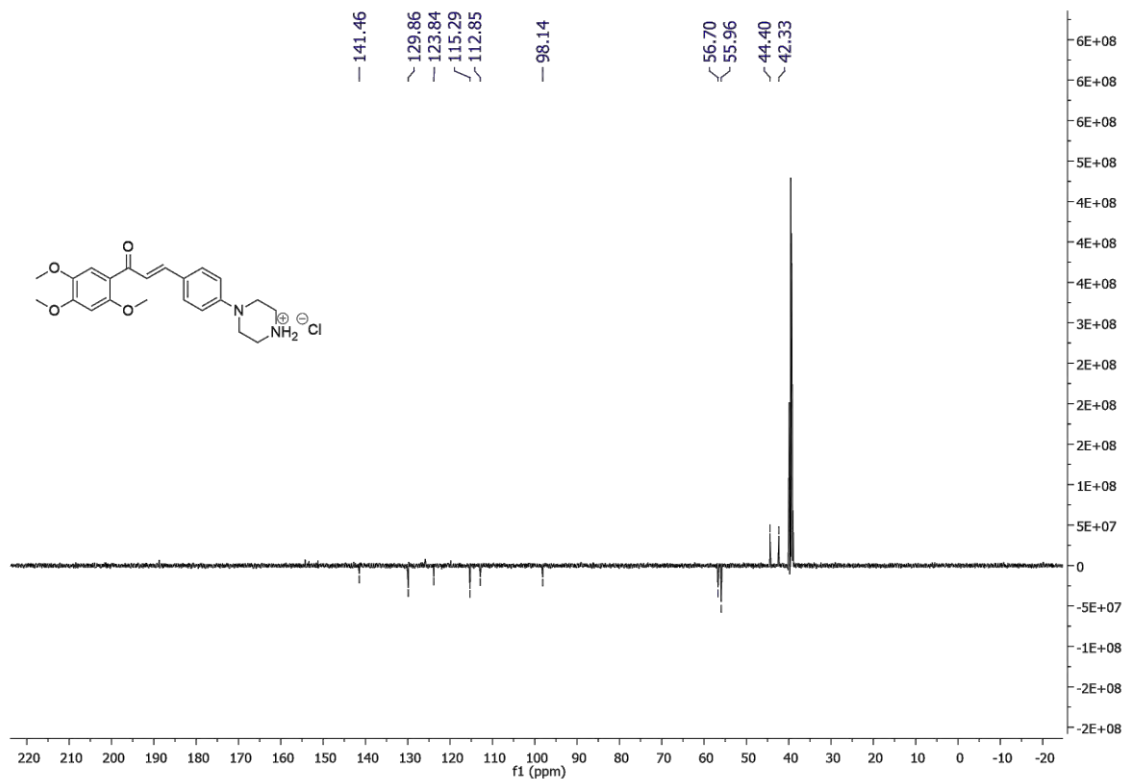
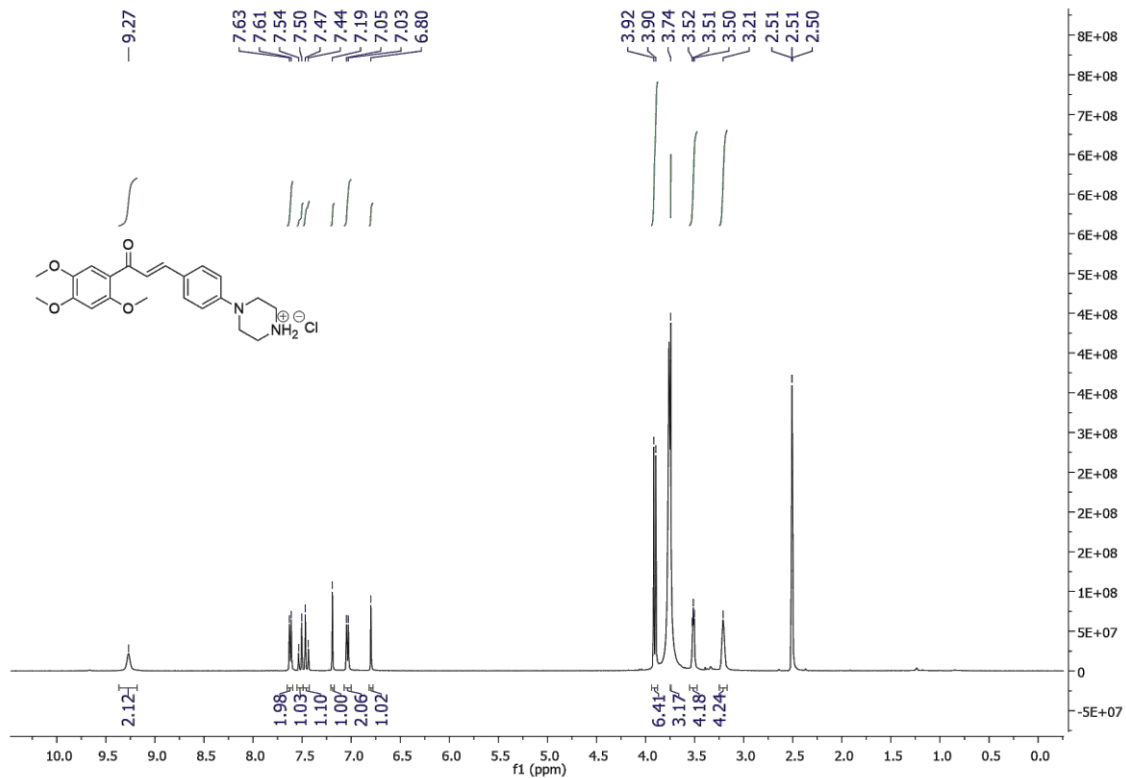
Anexo 15: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **42d.HCl** em DMSO- d_6 .



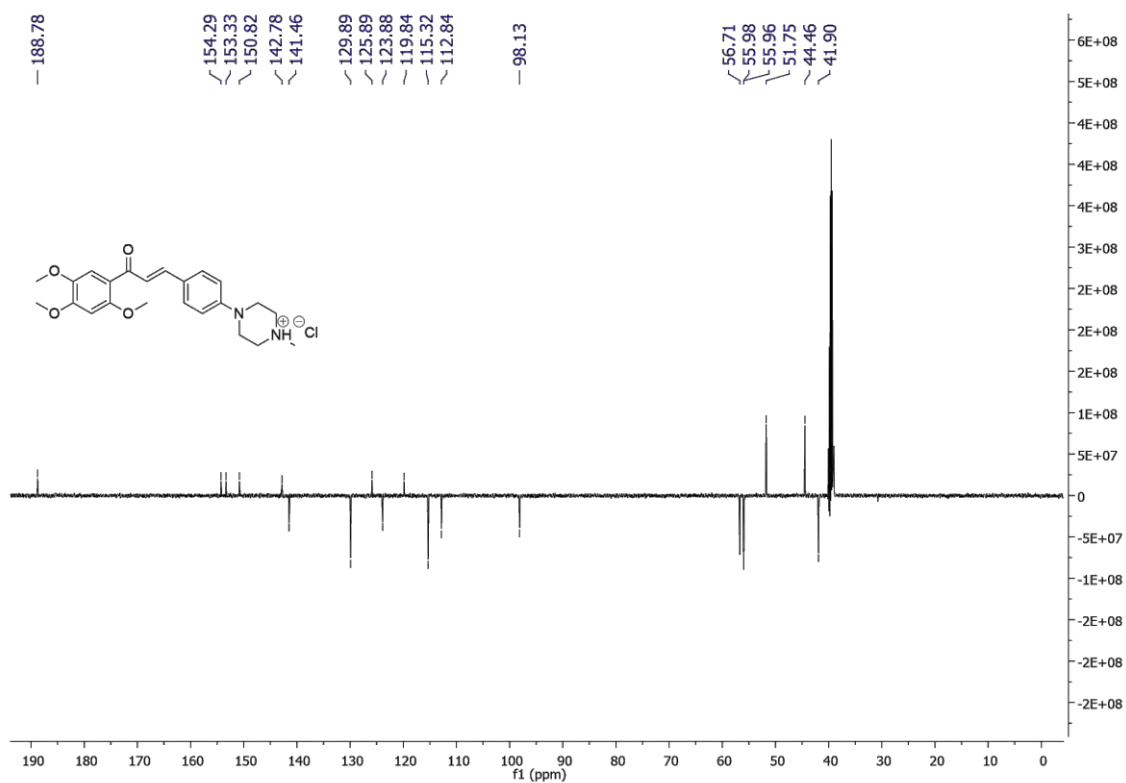
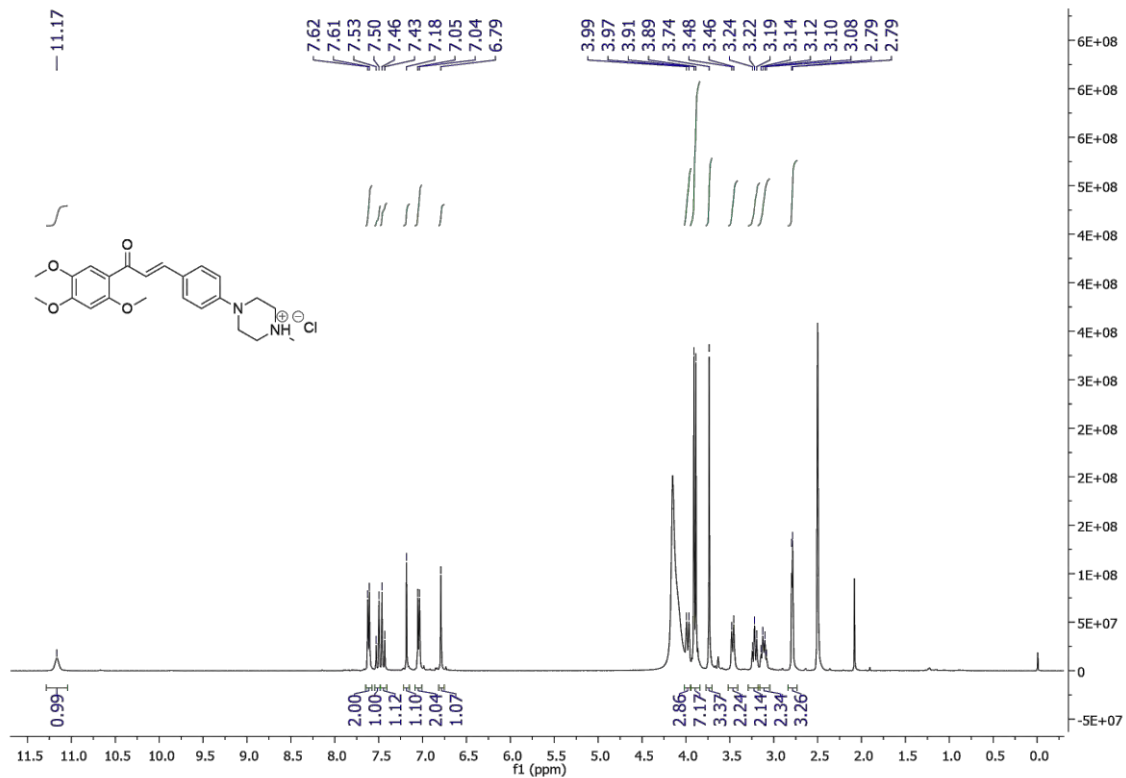
Anexo 16: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **42e.HCl** em DMSO- d_6 .



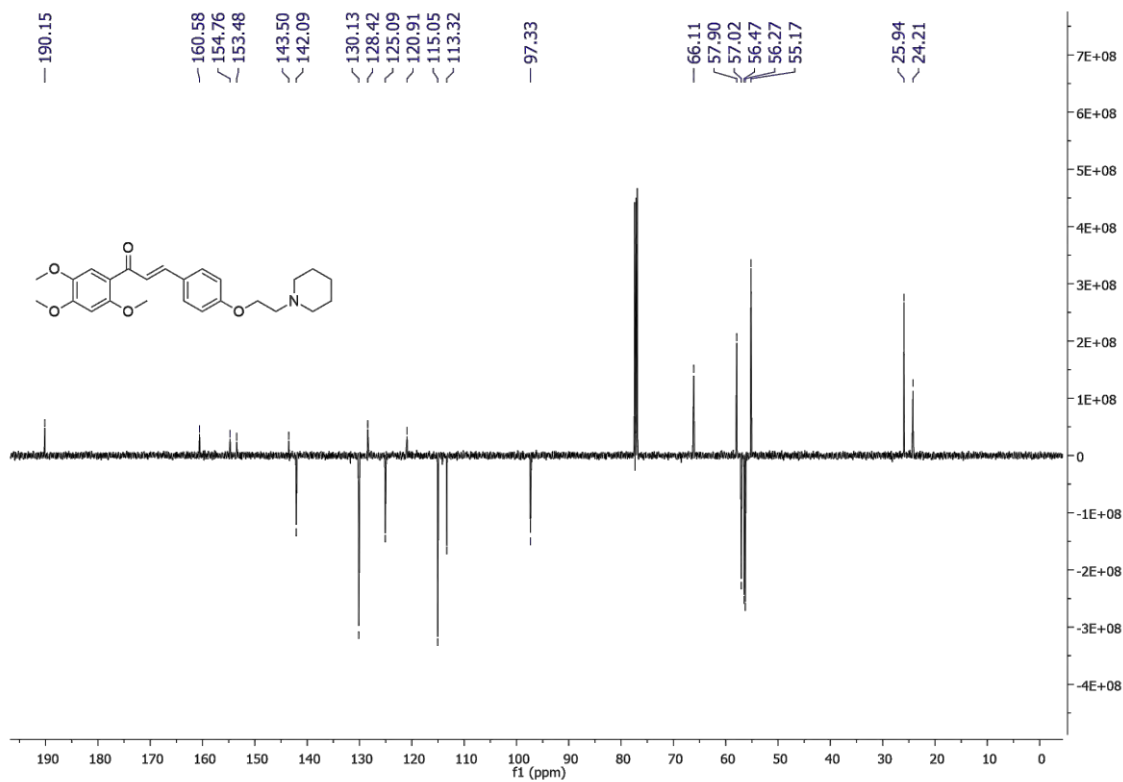
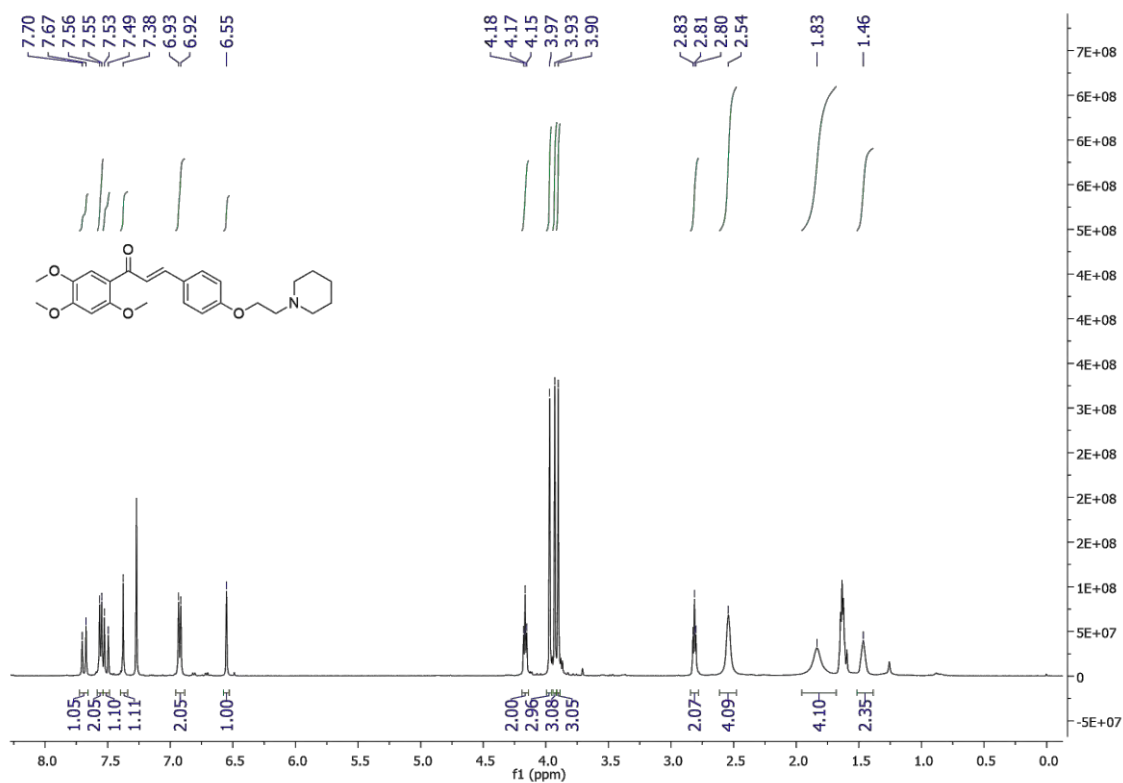
Anexo 17: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **42f.HCl** em DMSO-d_6 .



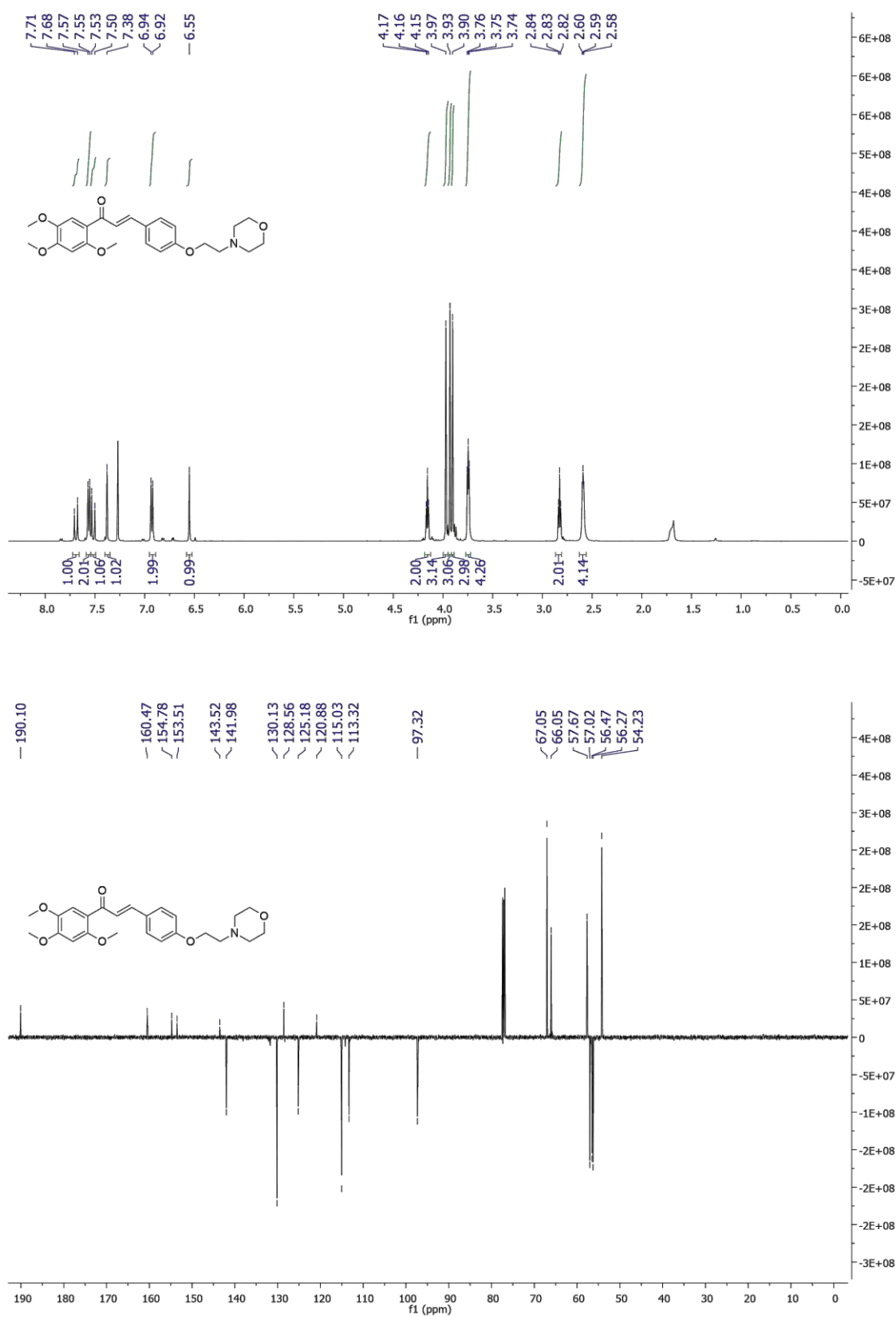
Anexo 18: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **42g.HCl** em DMSO-d_6 .



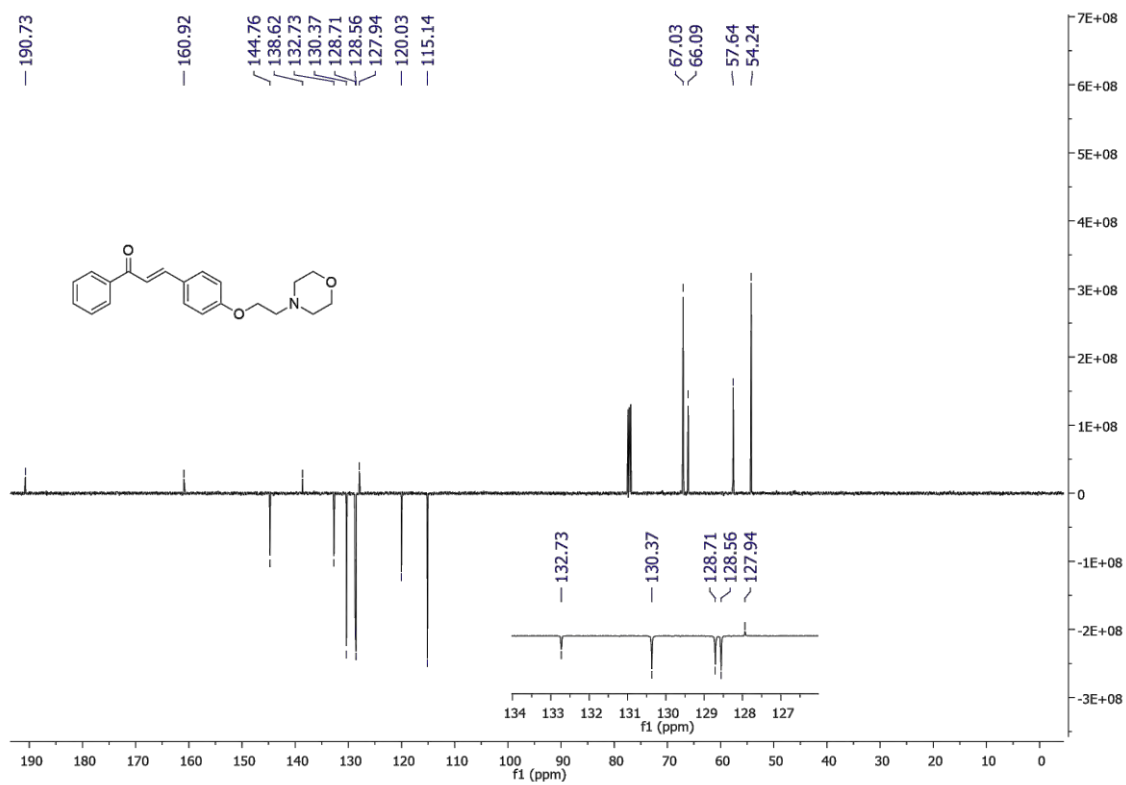
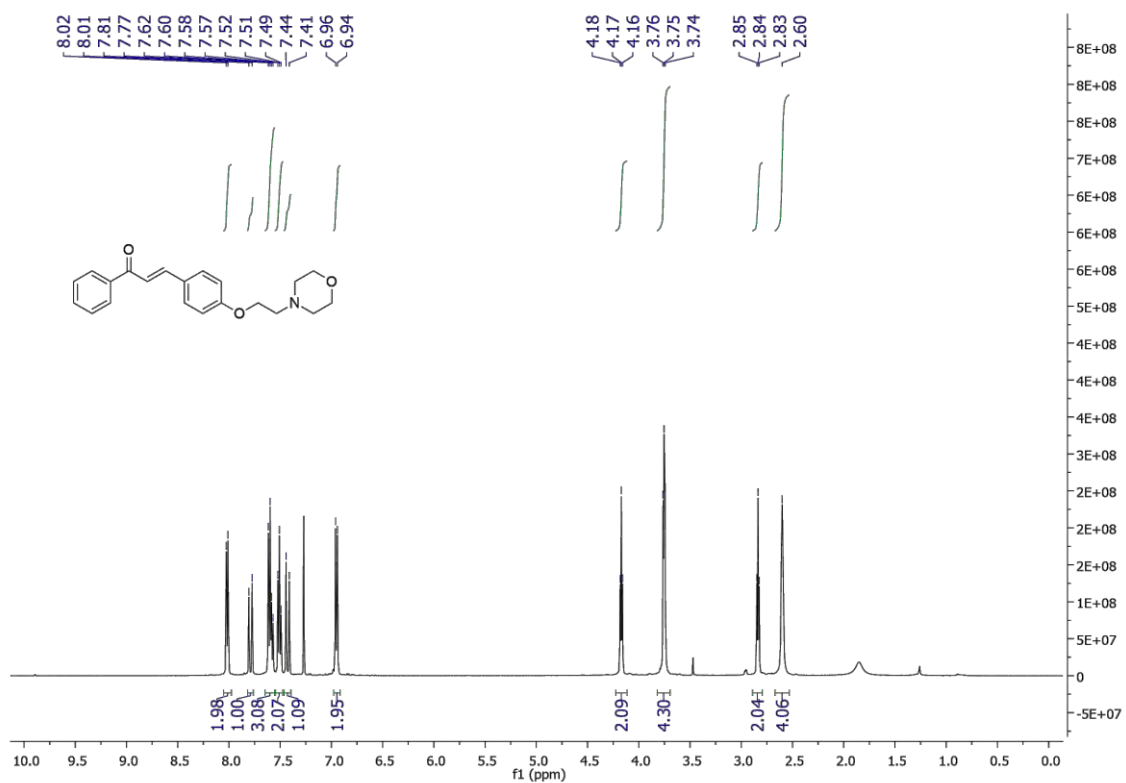
Anexo 19: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **44a** em CDCl_3 .



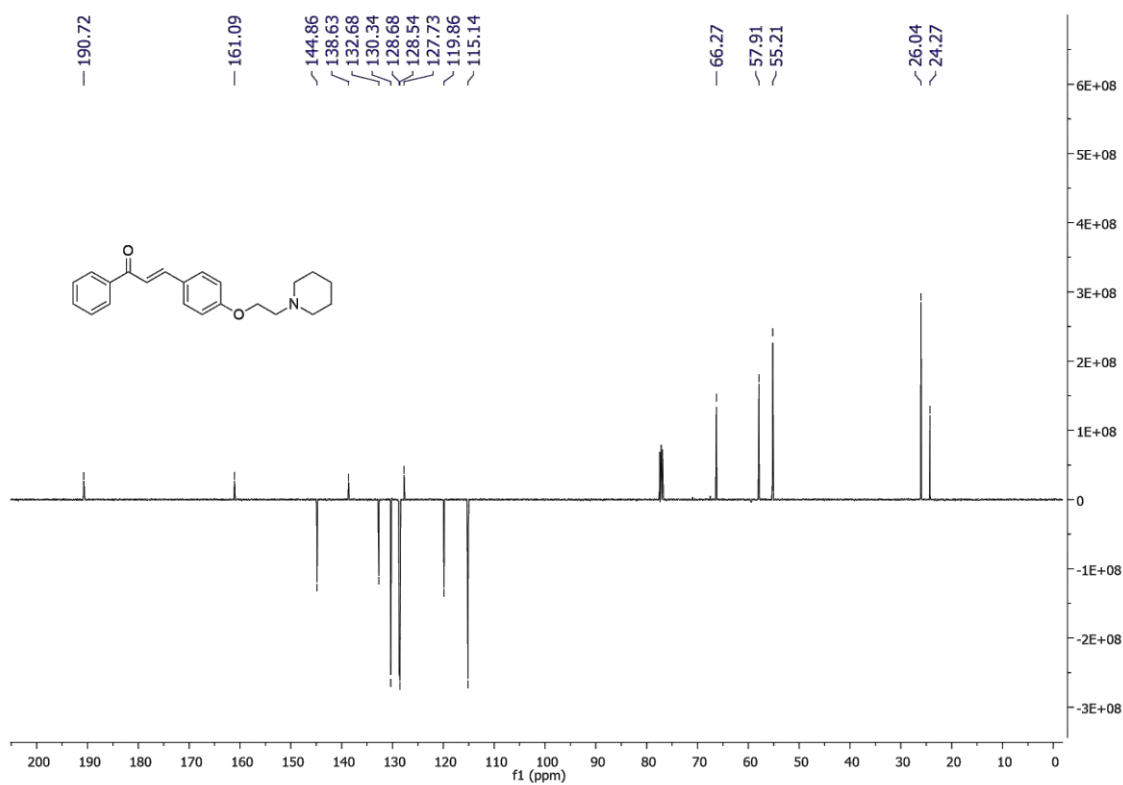
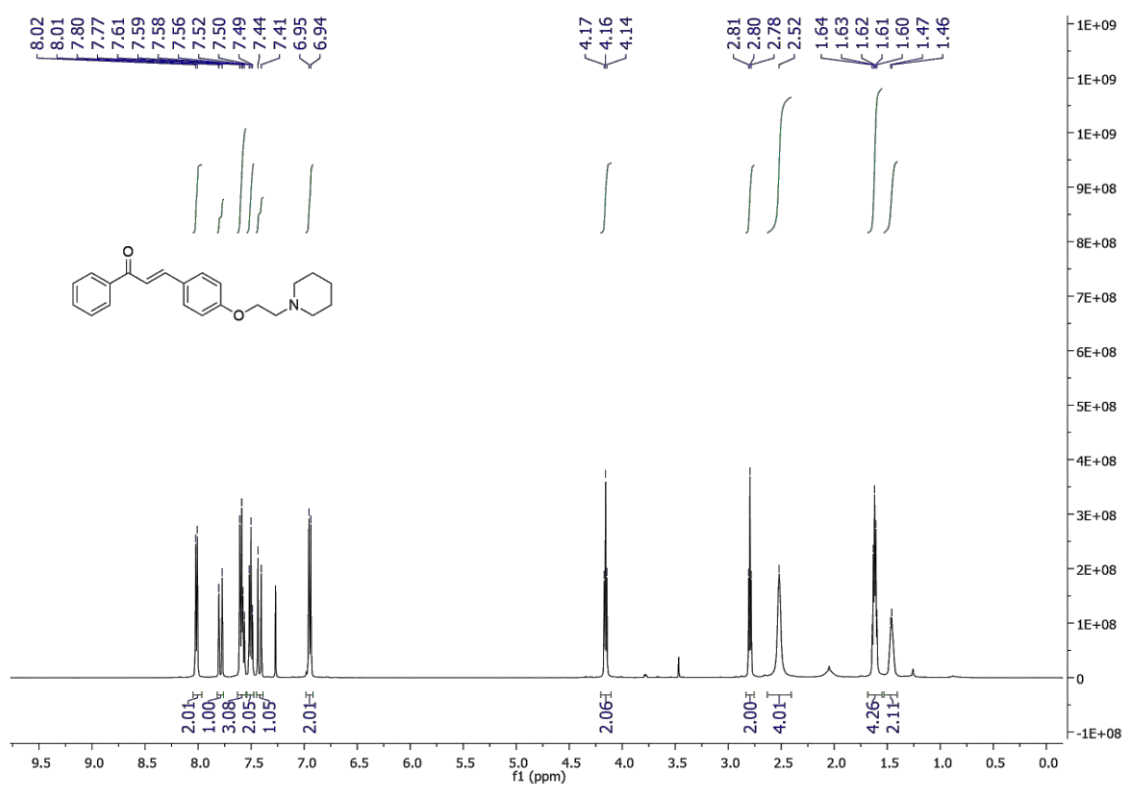
Anexo 20: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **44b** em CDCl_3 .



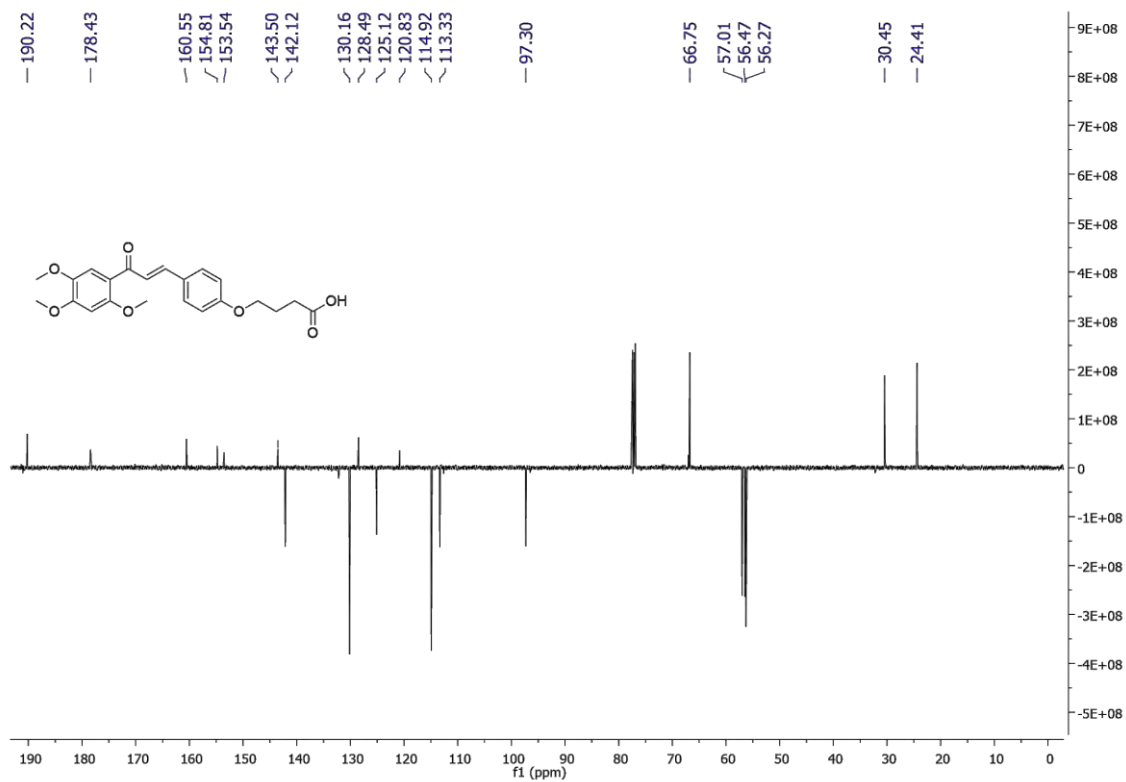
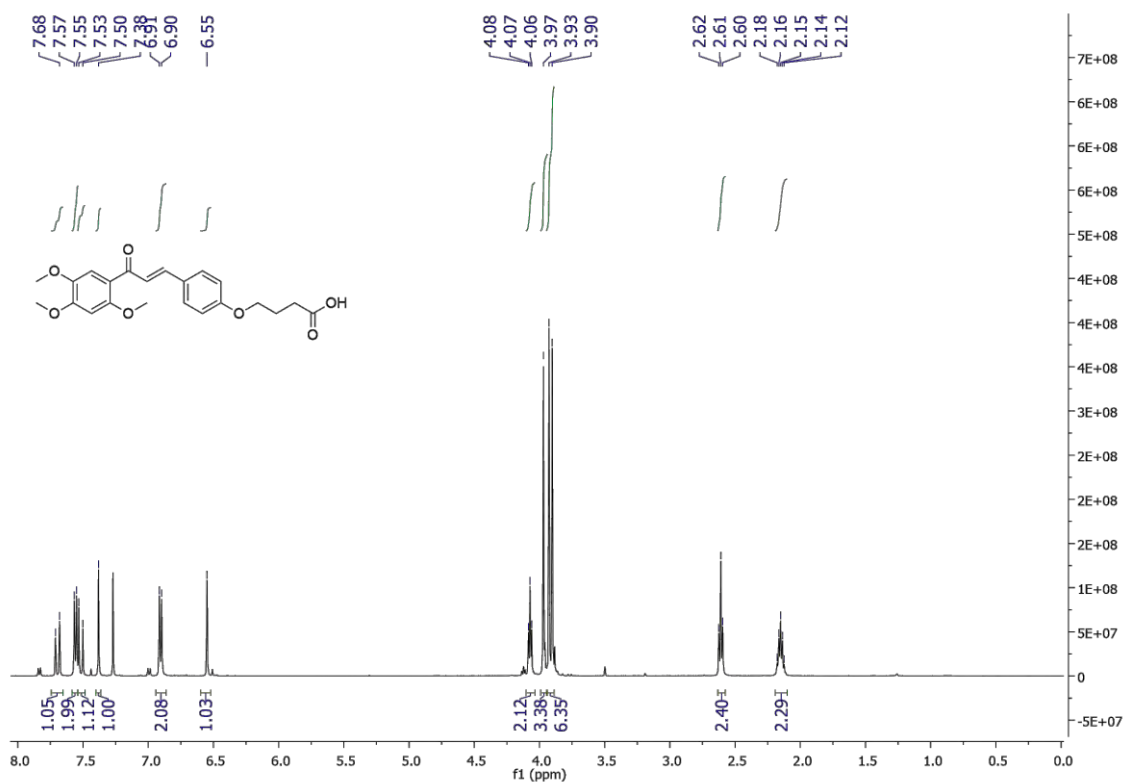
Anexo 21: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **44e** em CDCl_3 .



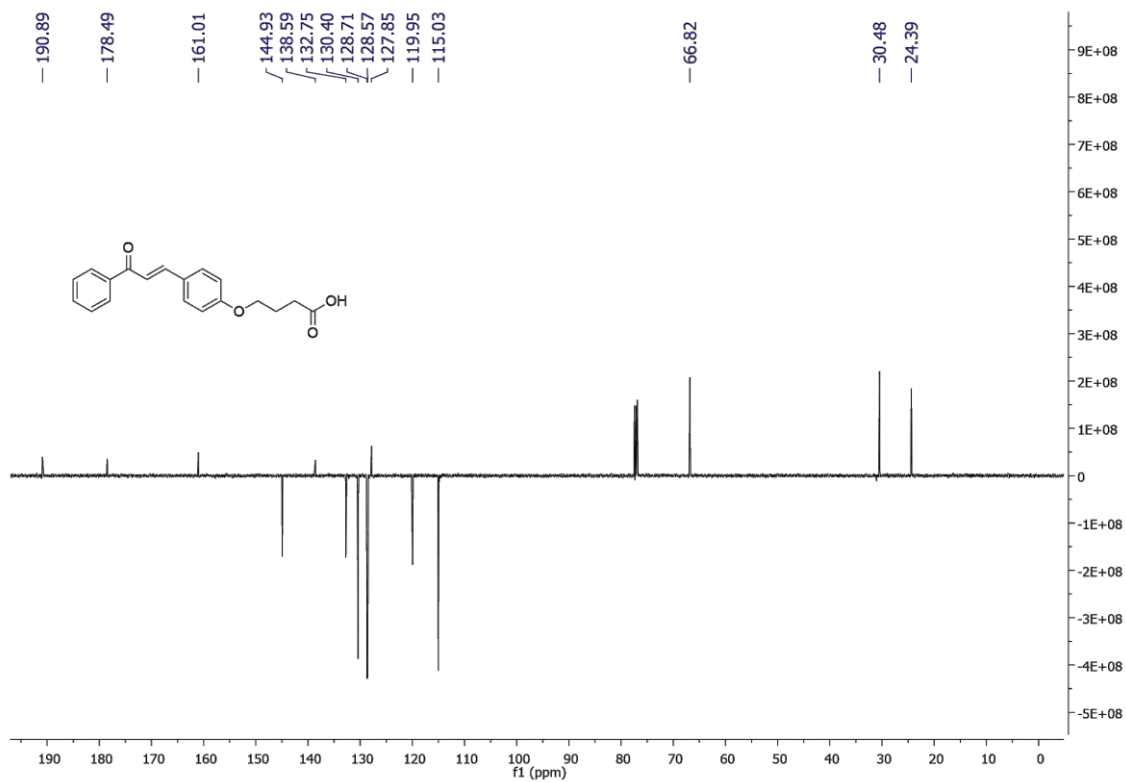
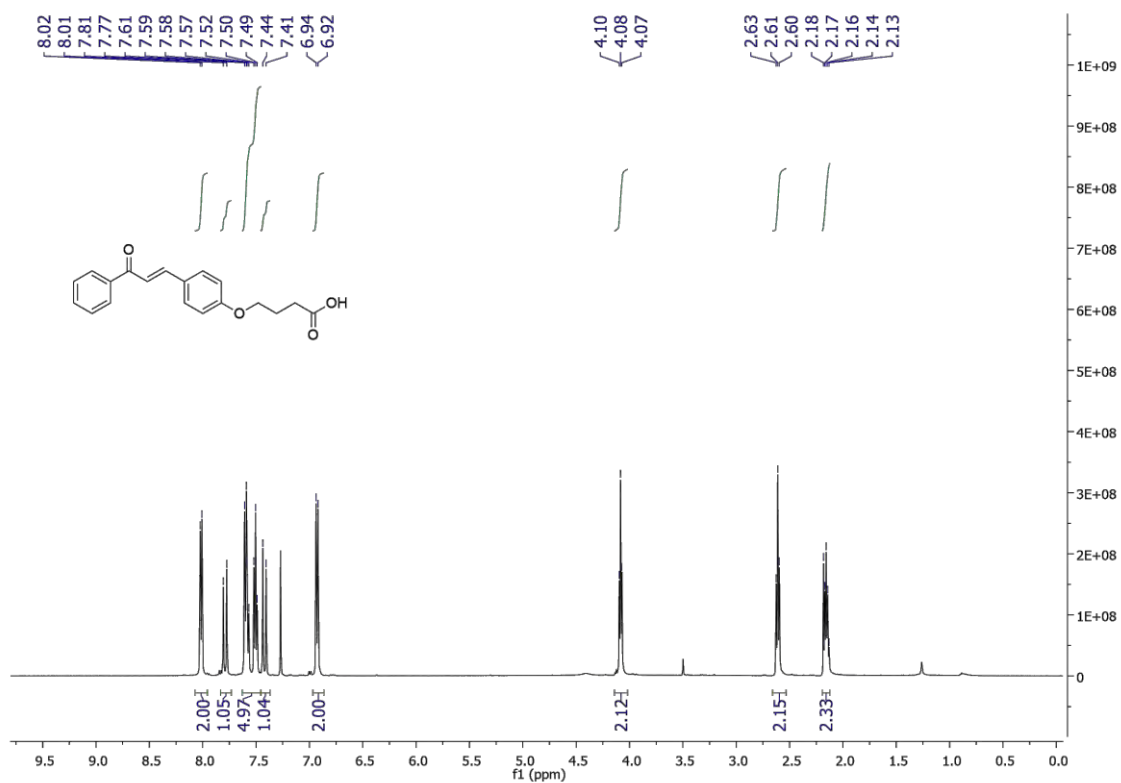
Anexo 22: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **44f** em CDCl_3 .



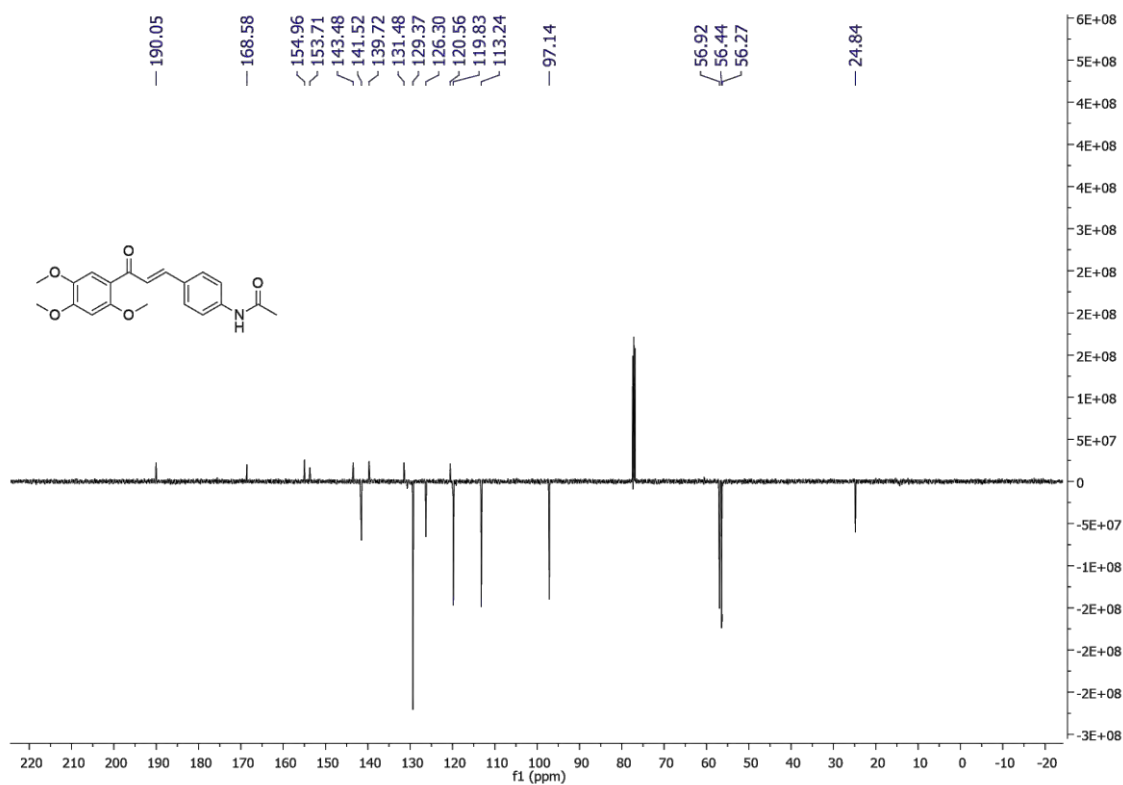
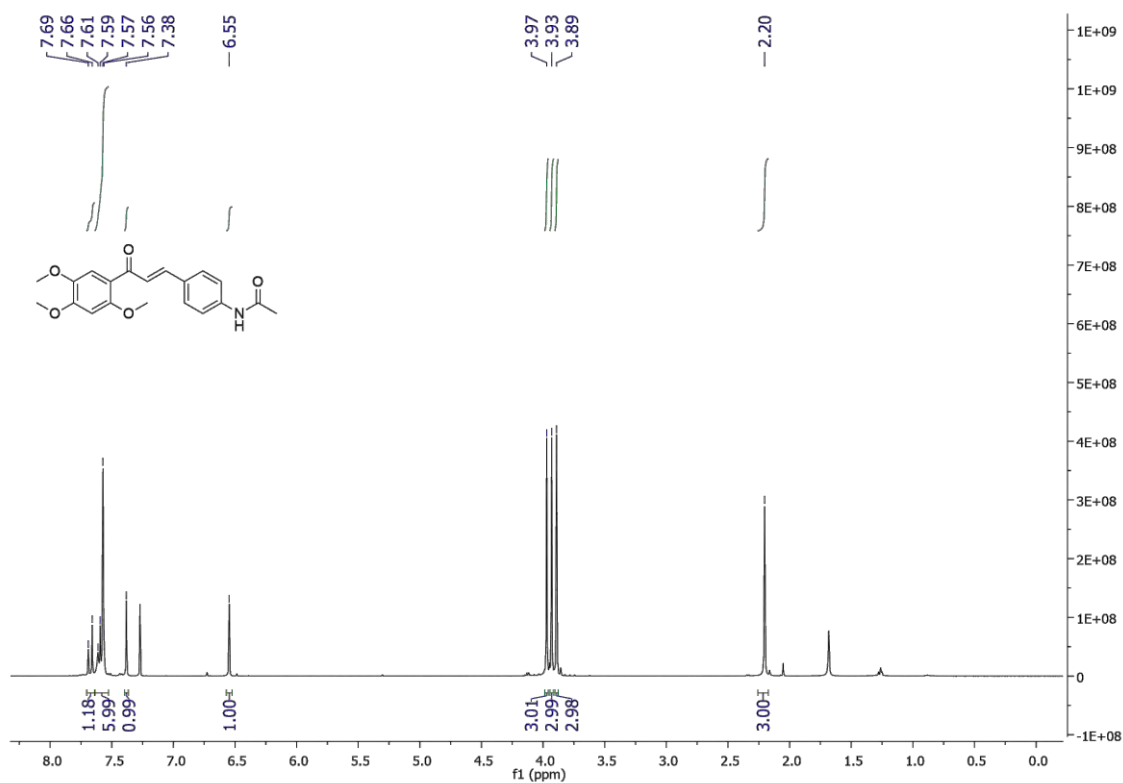
Anexo 23: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **45b** em CDCl_3 .



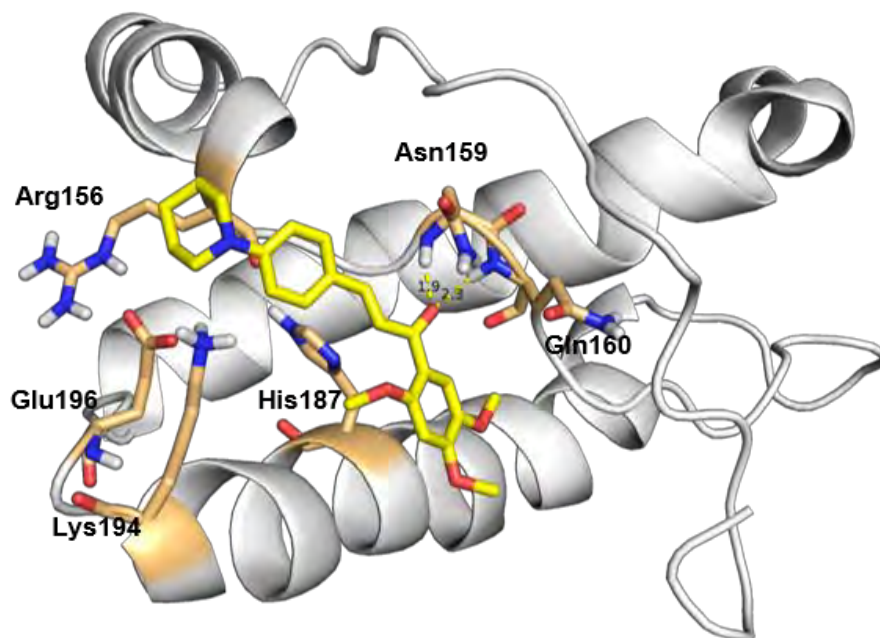
Anexo 24: Espectro de RMN ¹H (500 MHz) e ¹³C (125 MHz) do composto **45d** em CDCl₃.



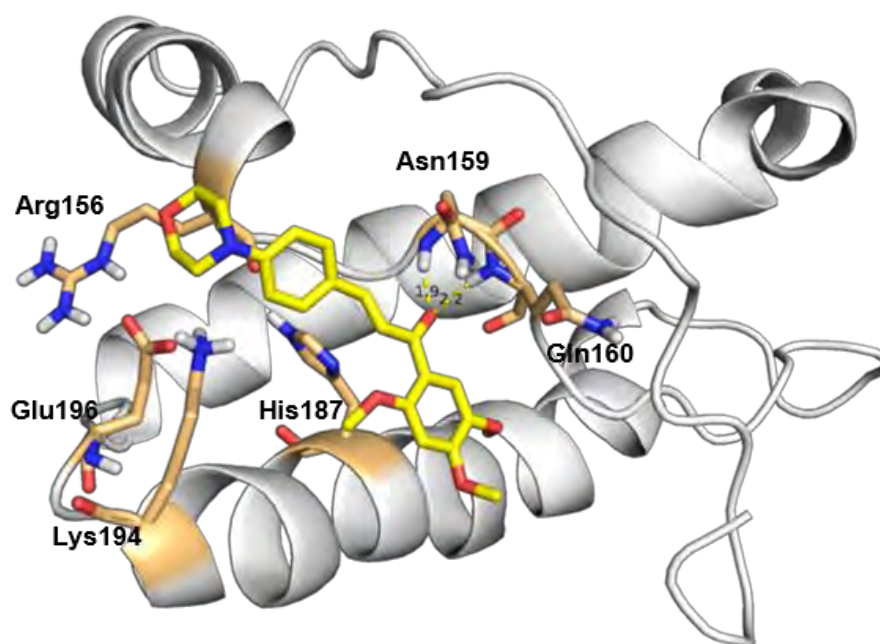
Anexo 25: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) do composto **59e** em CDCl_3 .



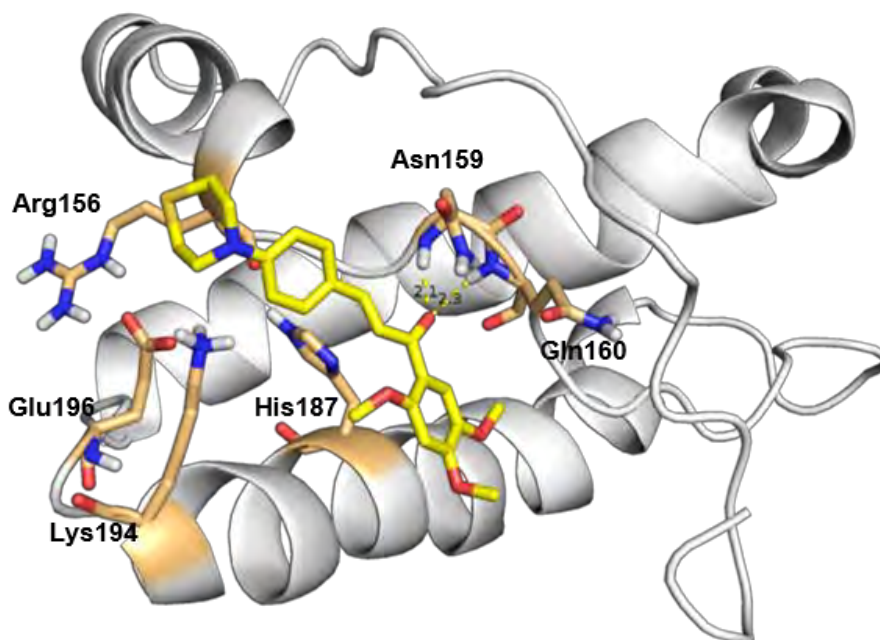
Anexo 26: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **42a** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



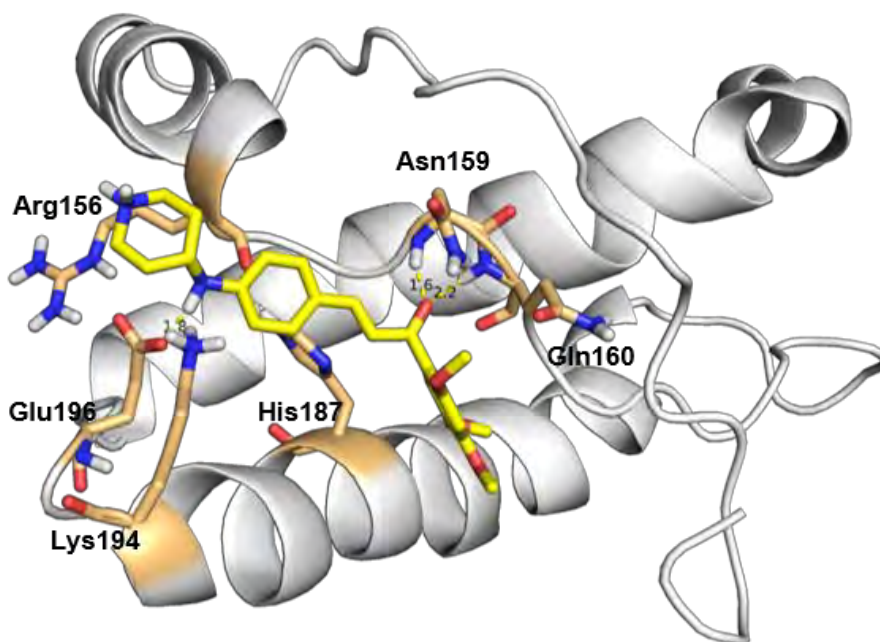
Anexo 27: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **42b** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



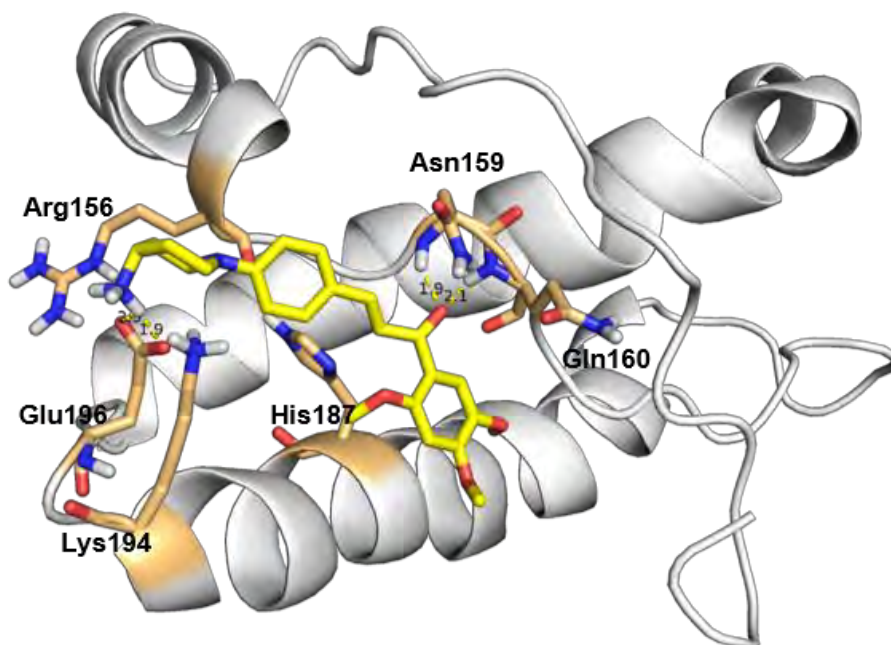
Anexo 28: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **42c** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



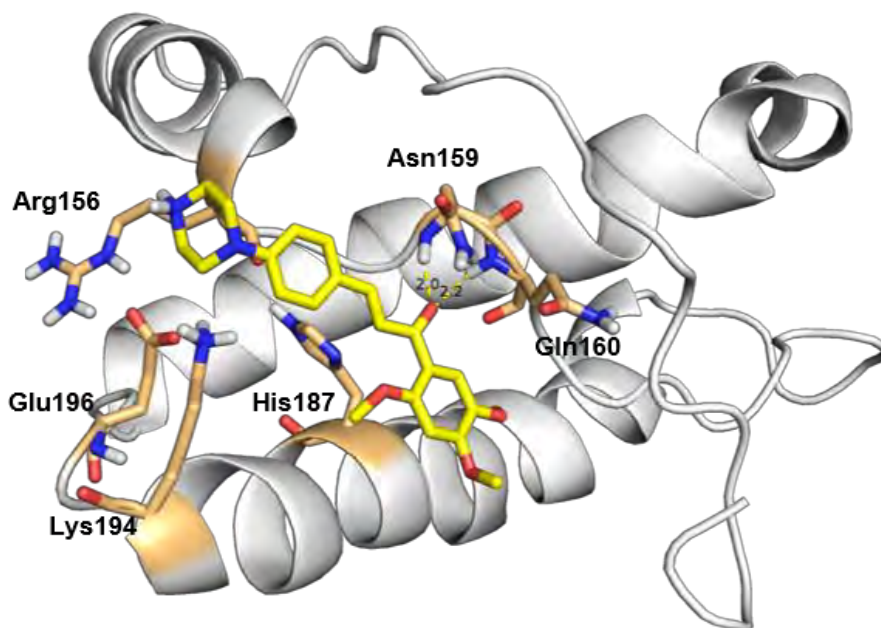
Anexo 29: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **42d** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



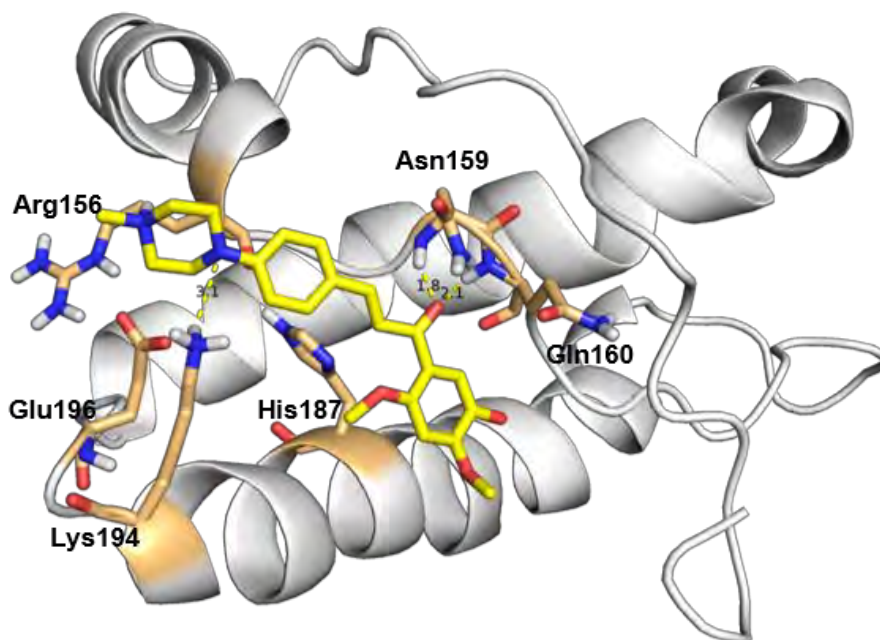
Anexo 30: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **42e** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



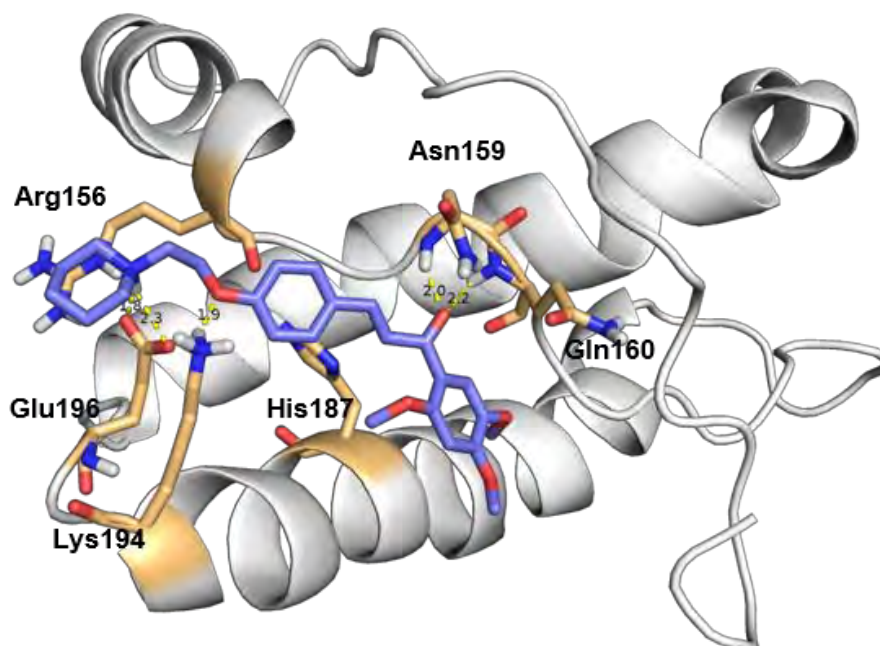
Anexo 31: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **42f** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



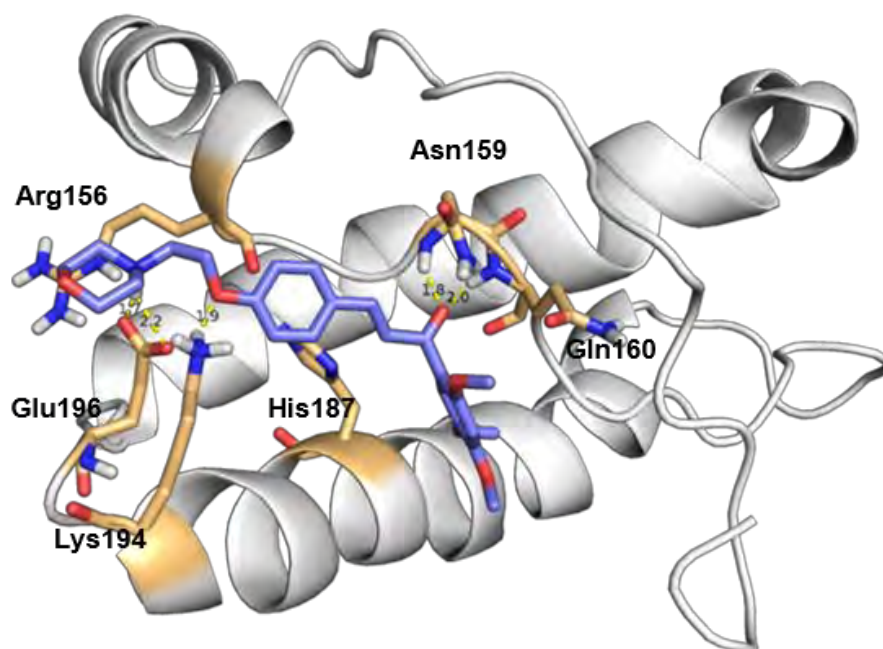
Anexo 32: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **42g** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



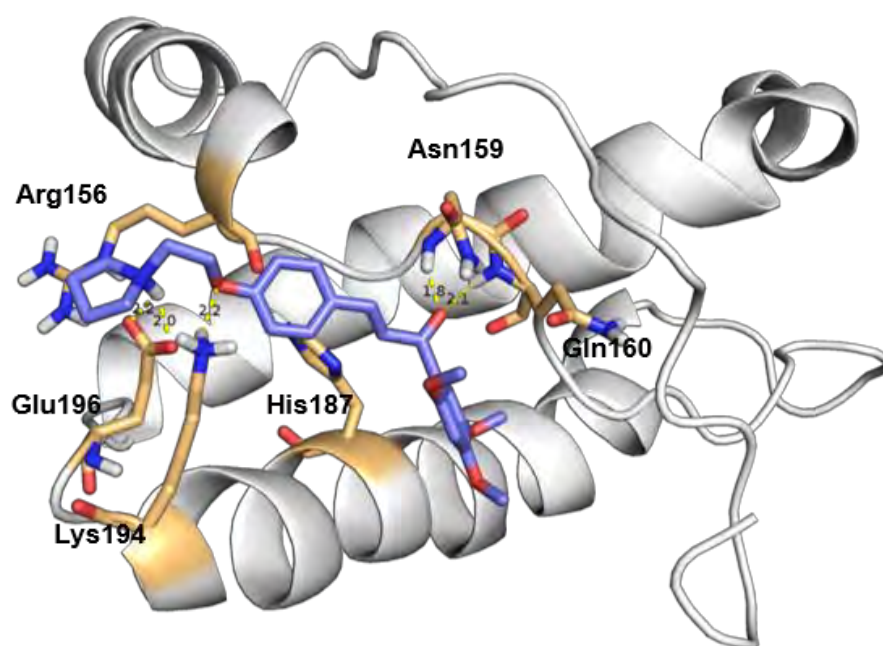
Anexo 33: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44a** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



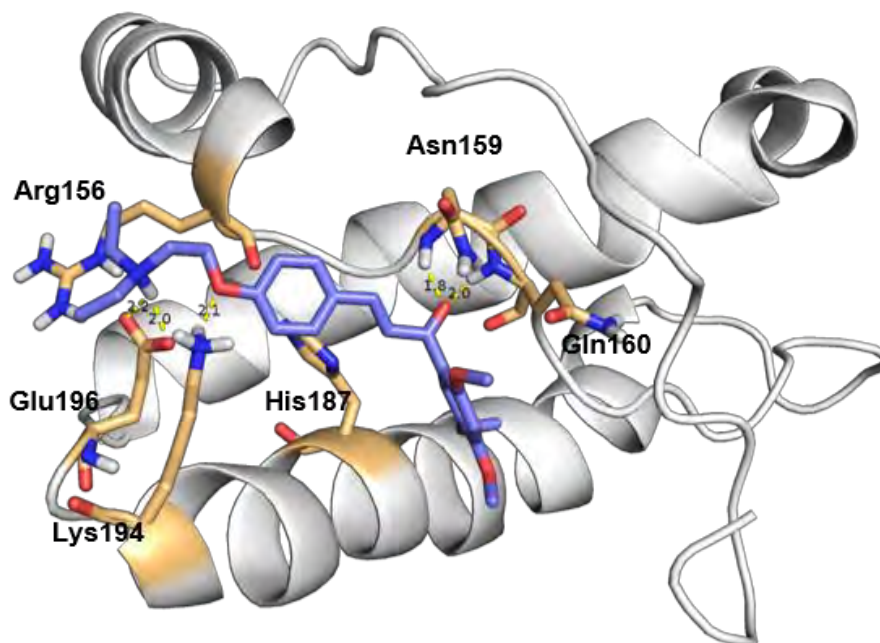
Anexo 34: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44b** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



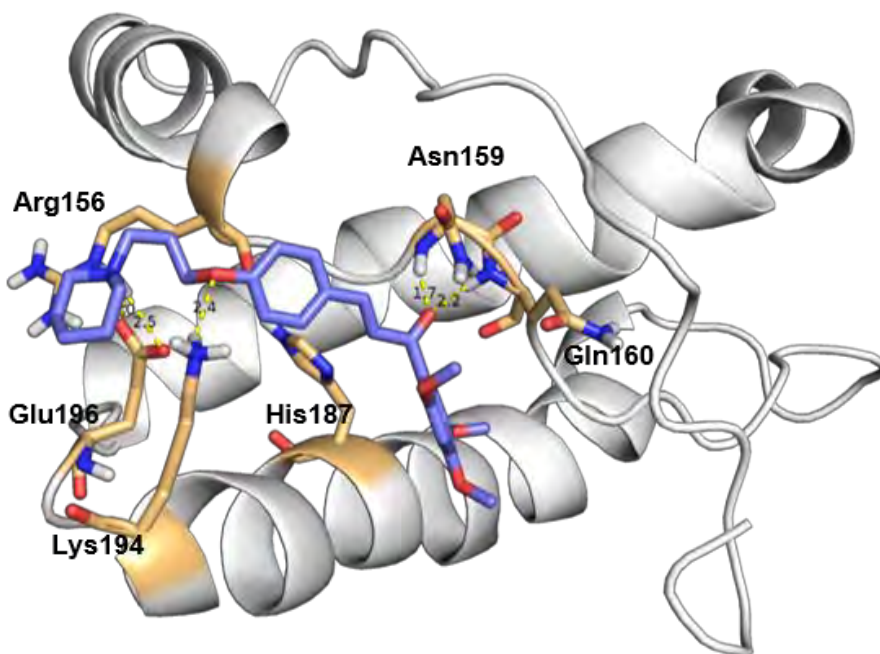
Anexo 35: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44c** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



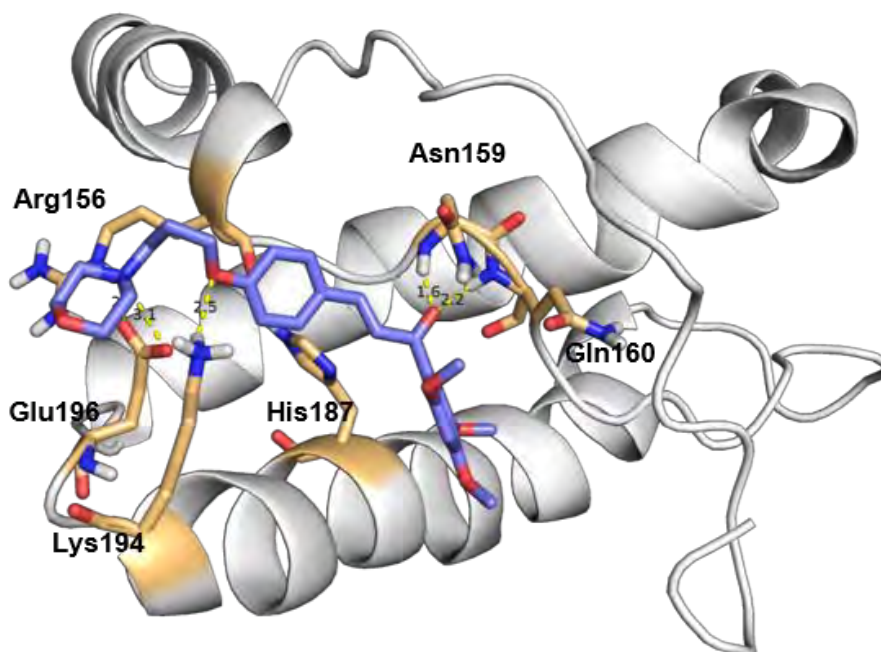
Anexo 36: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44d** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



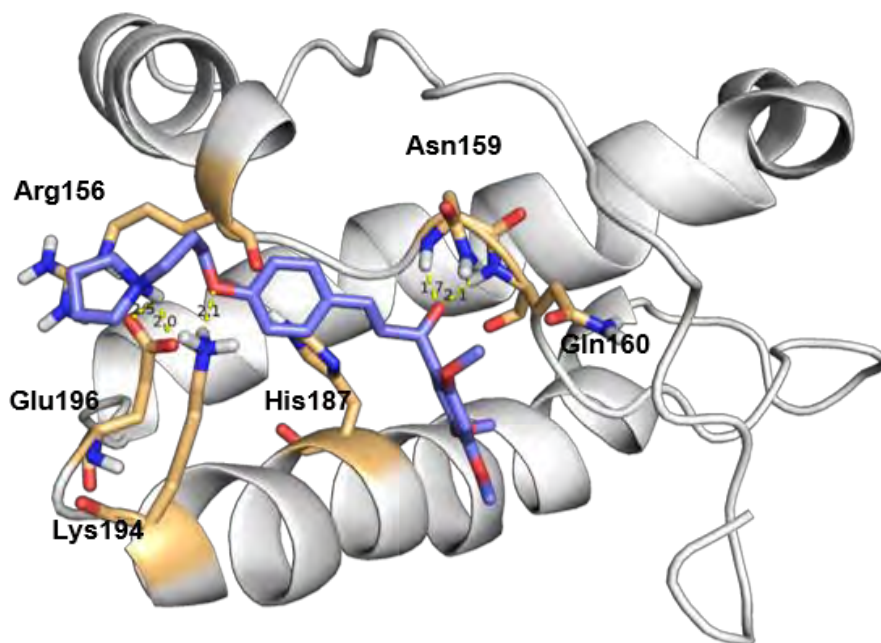
Anexo 37: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44e** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



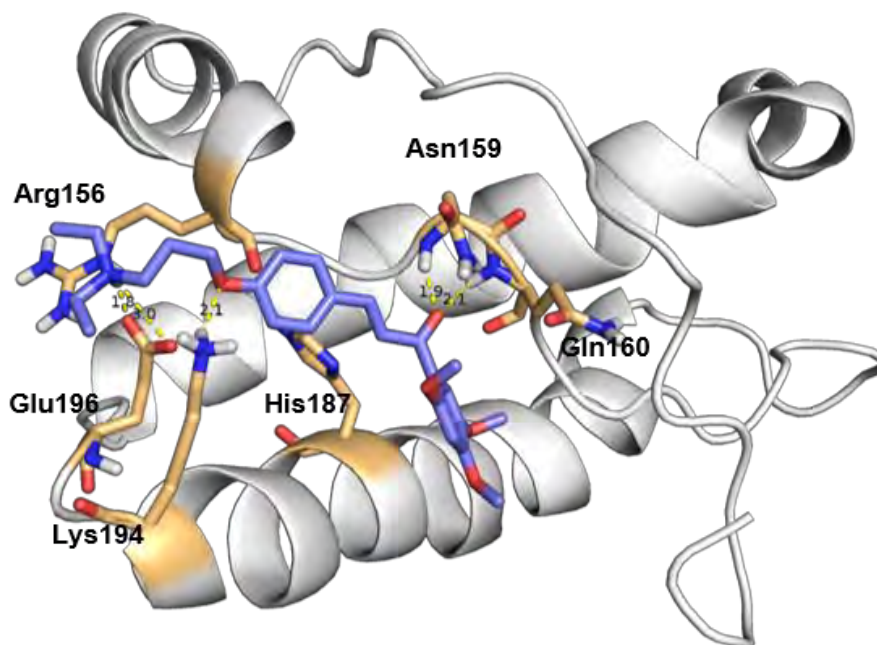
Anexo 38: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44f** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



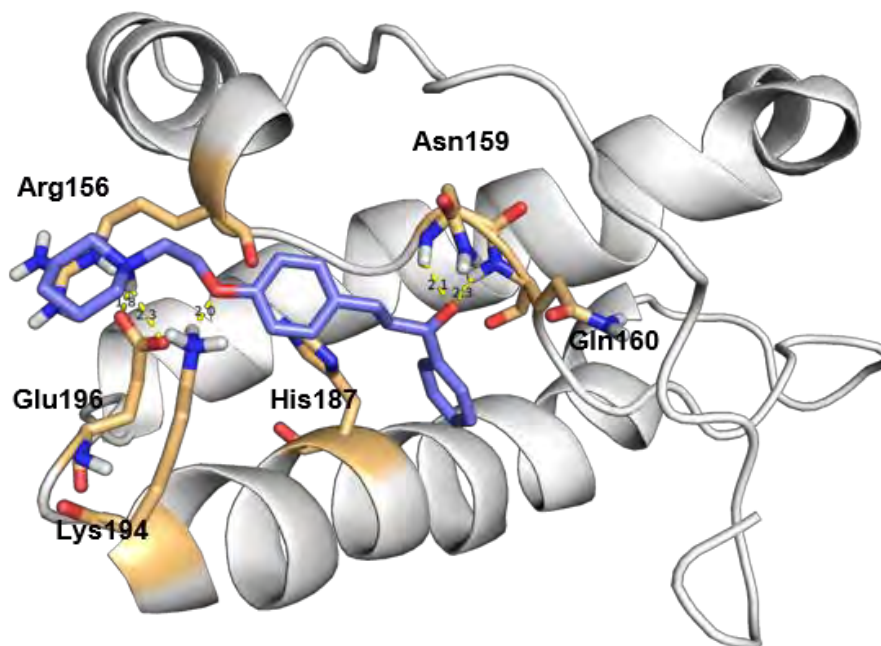
Anexo 39: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44g** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



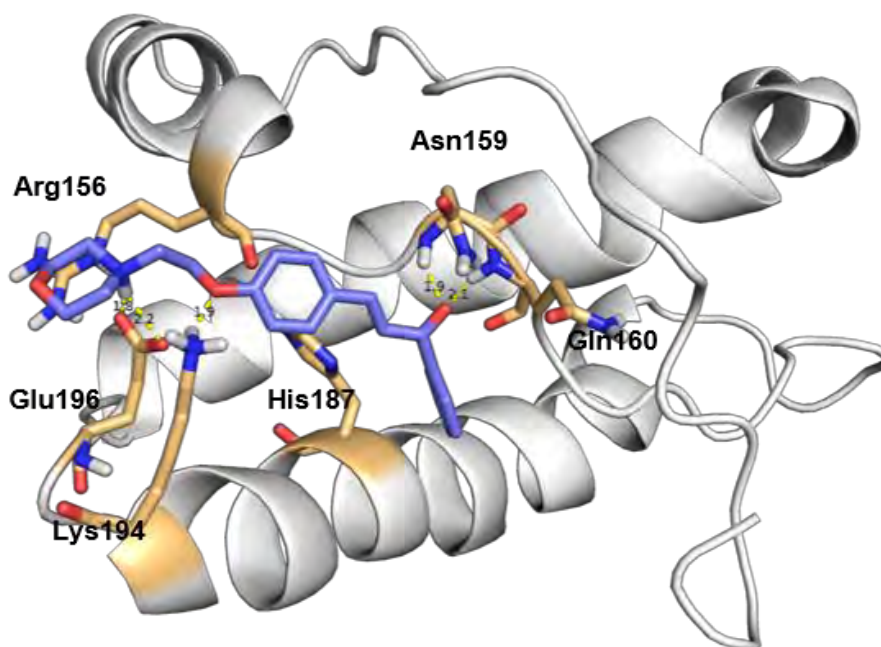
Anexo 40: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **44h** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



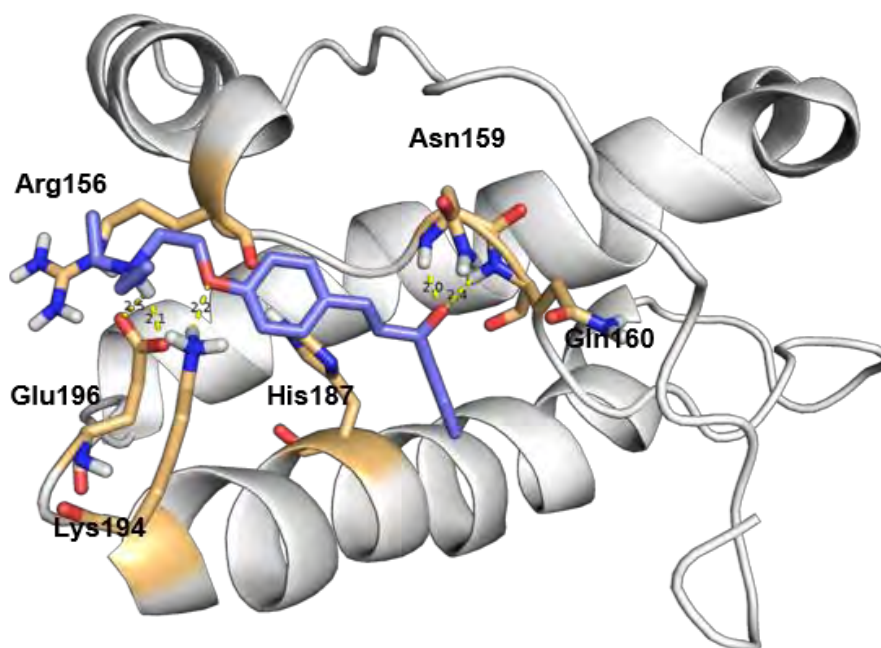
Anexo 41: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **44i** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



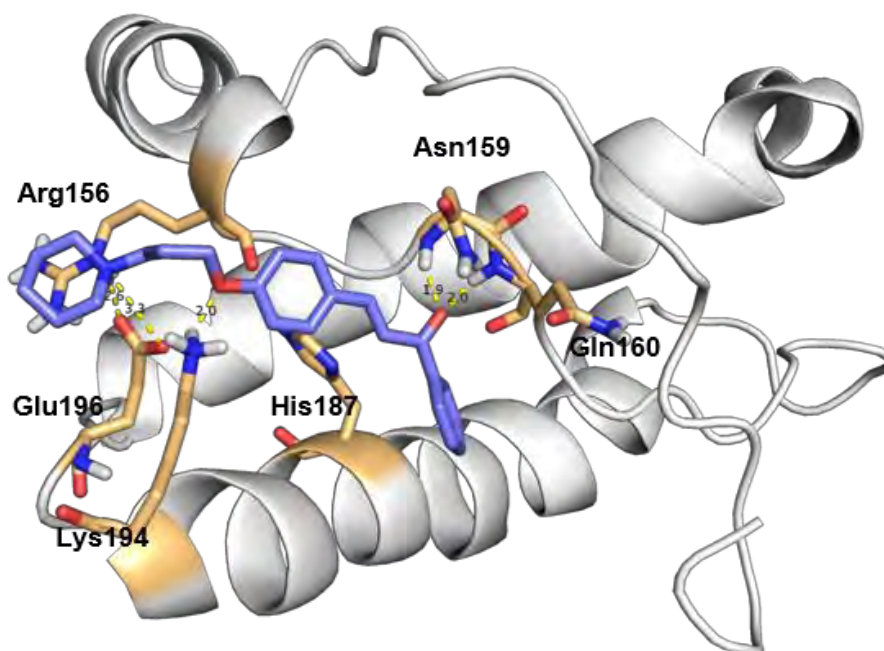
Anexo 42: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **44j** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



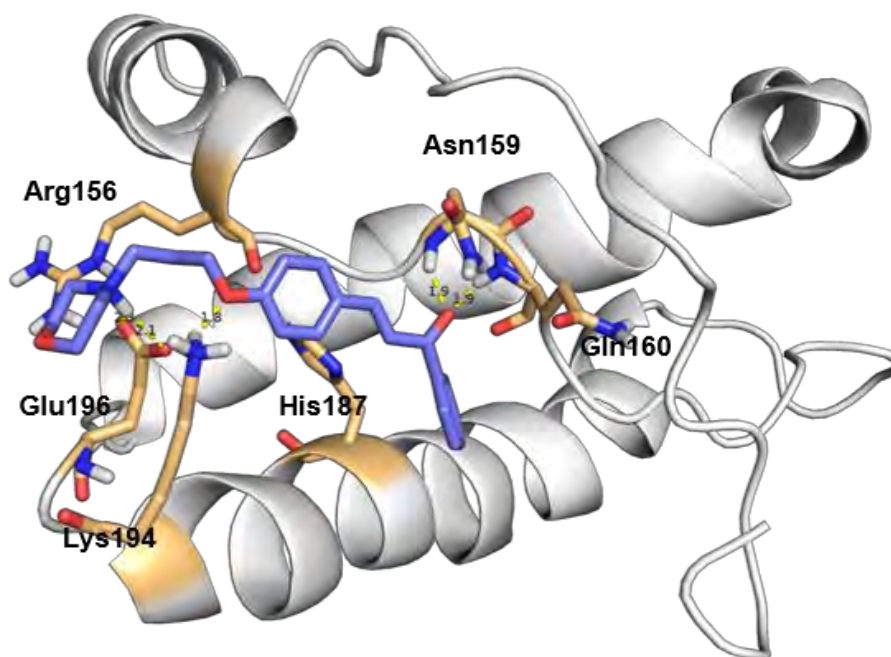
Anexo 43: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **44i** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



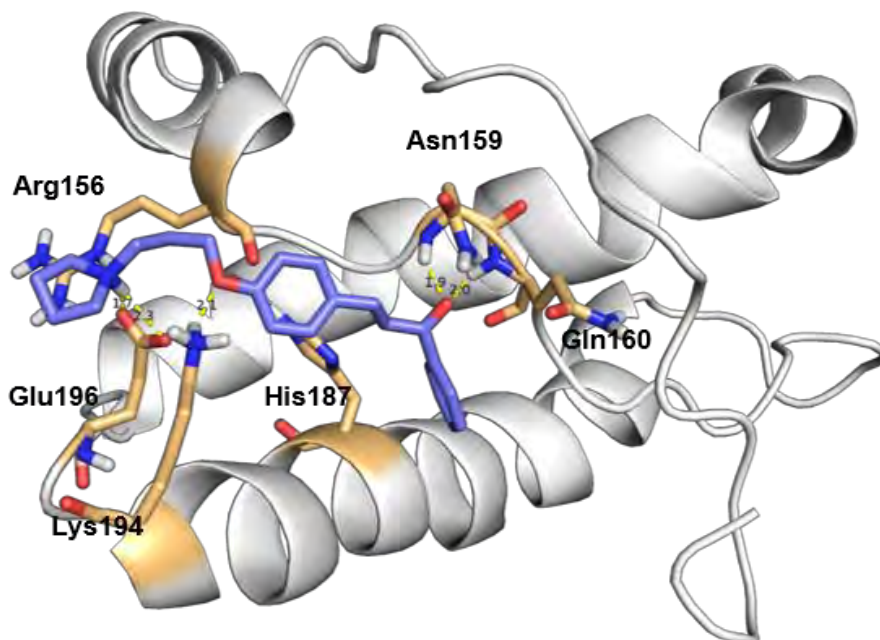
Anexo 44: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **44m** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



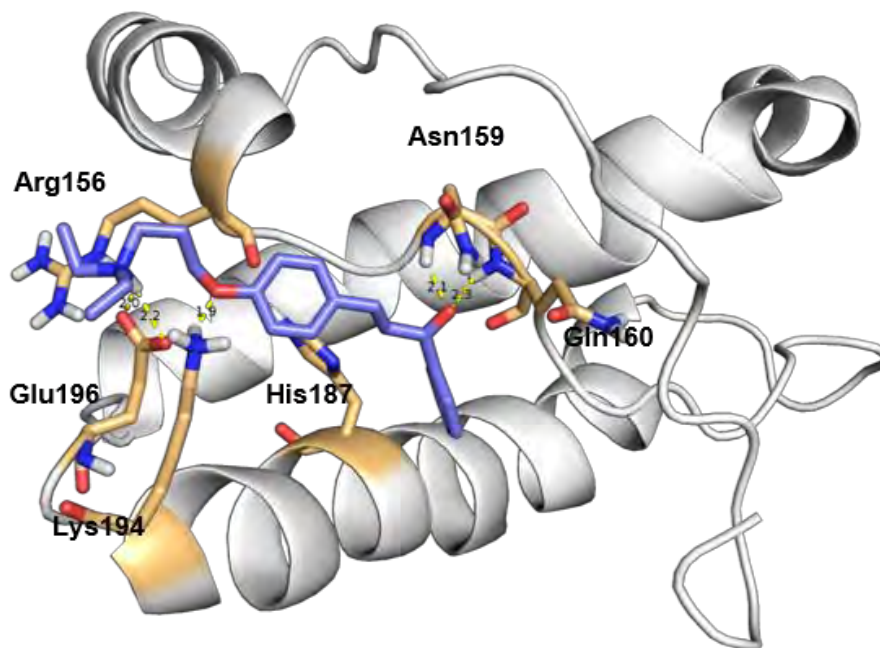
Anexo 45: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **44n** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



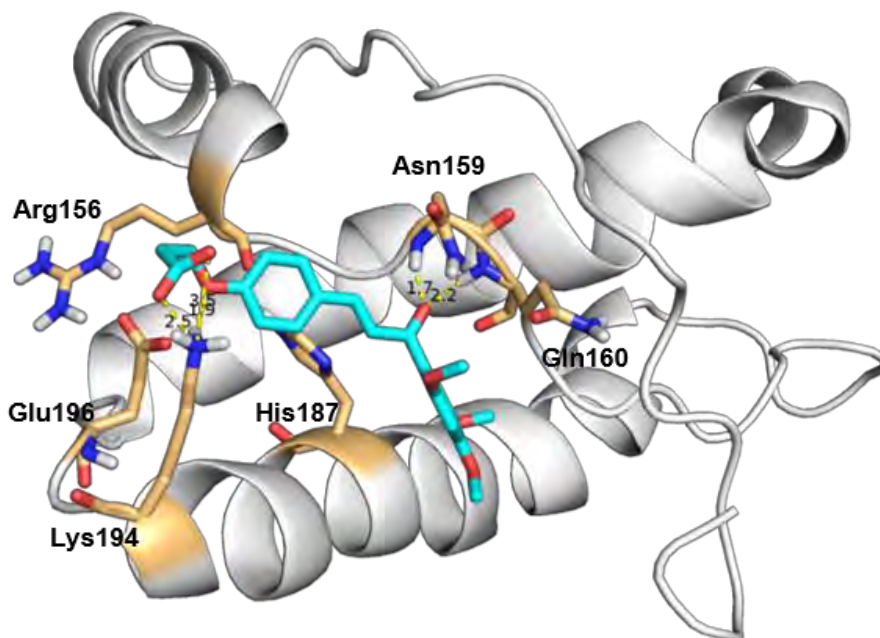
Anexo 46: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44o** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



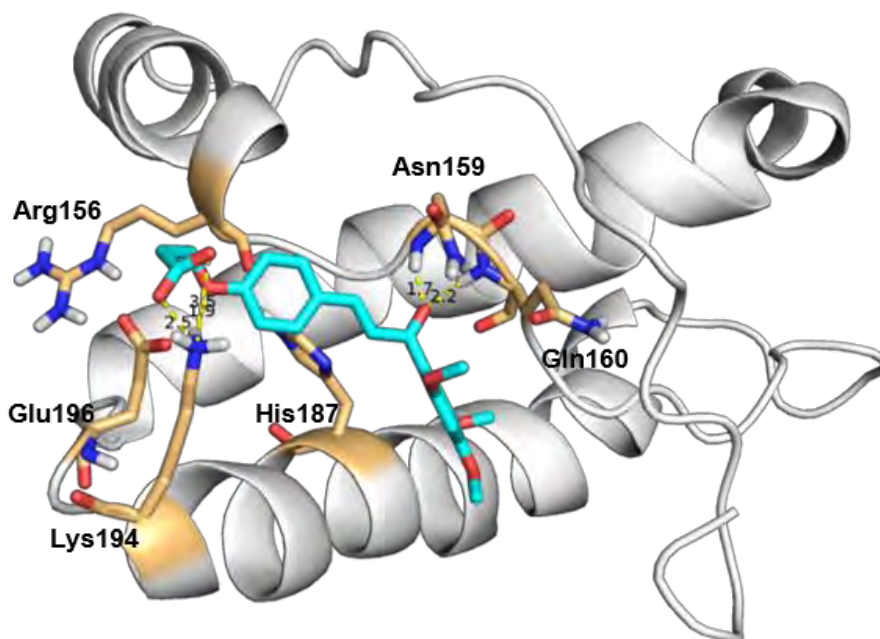
Anexo 47: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **44p** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



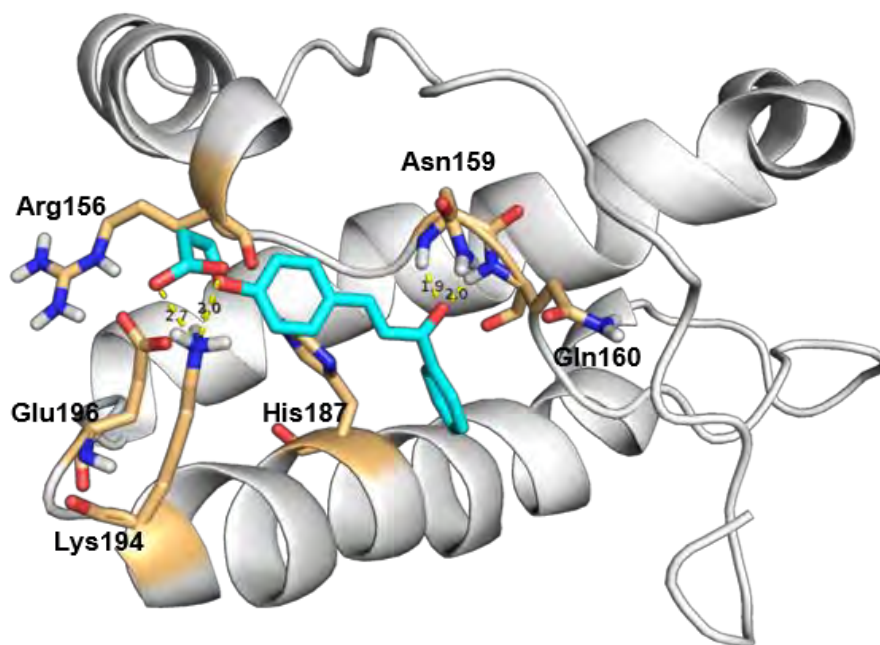
Anexo 48: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **45a** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



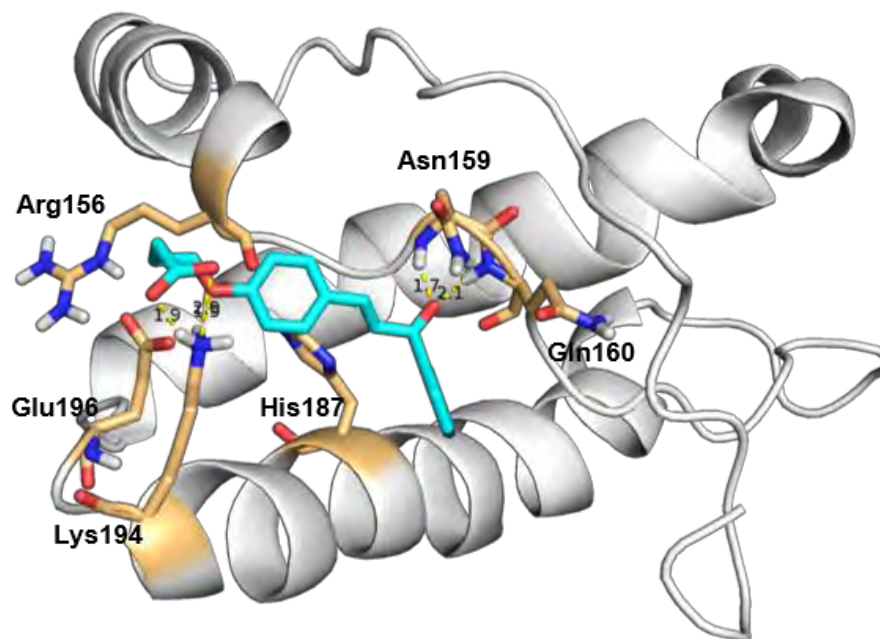
Anexo 49: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **45b** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



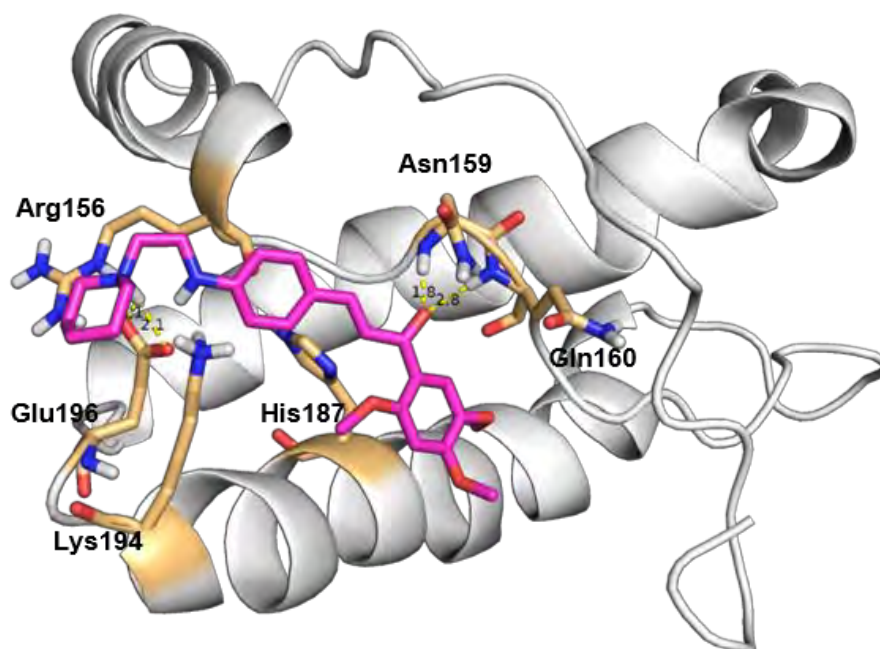
Anexo 50: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **45c** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



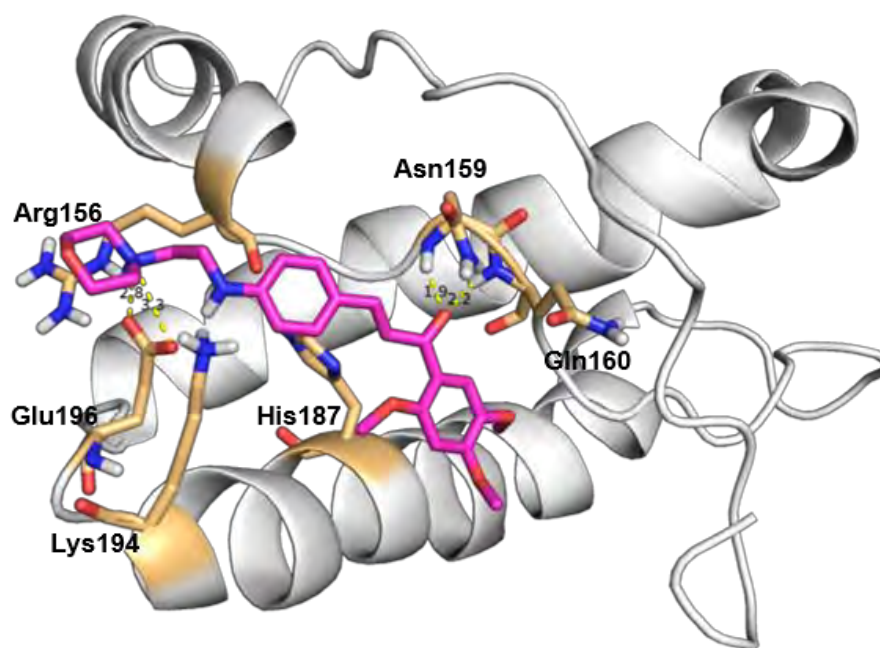
Anexo 51: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **45d** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



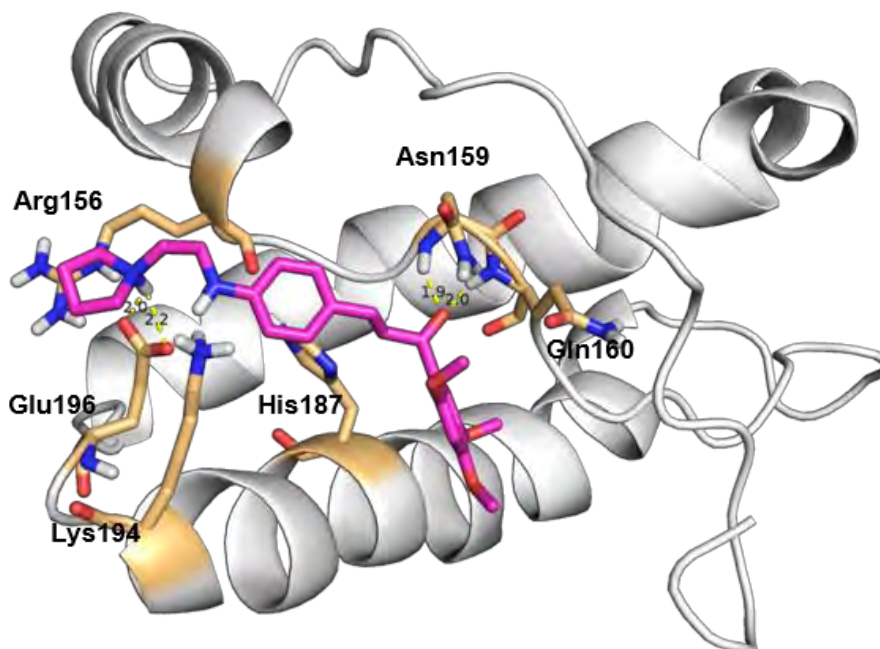
Anexo 52: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **46a** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



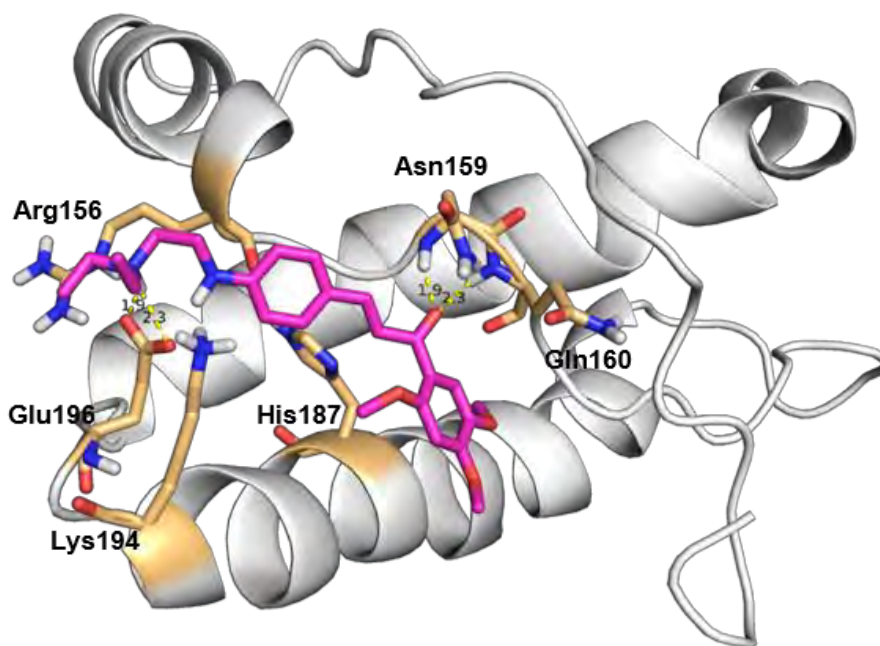
Anexo 53: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **46b** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



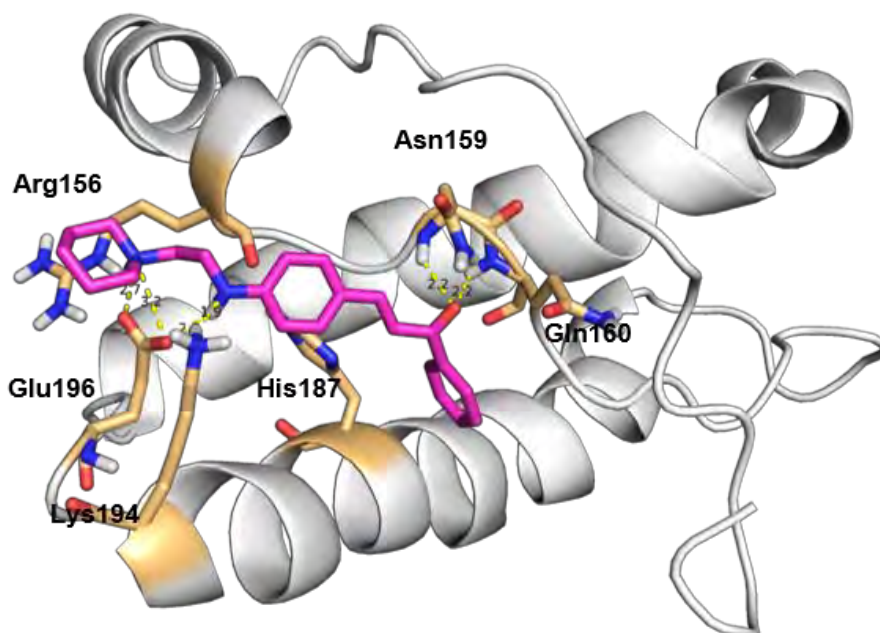
Anexo 54: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **46c** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



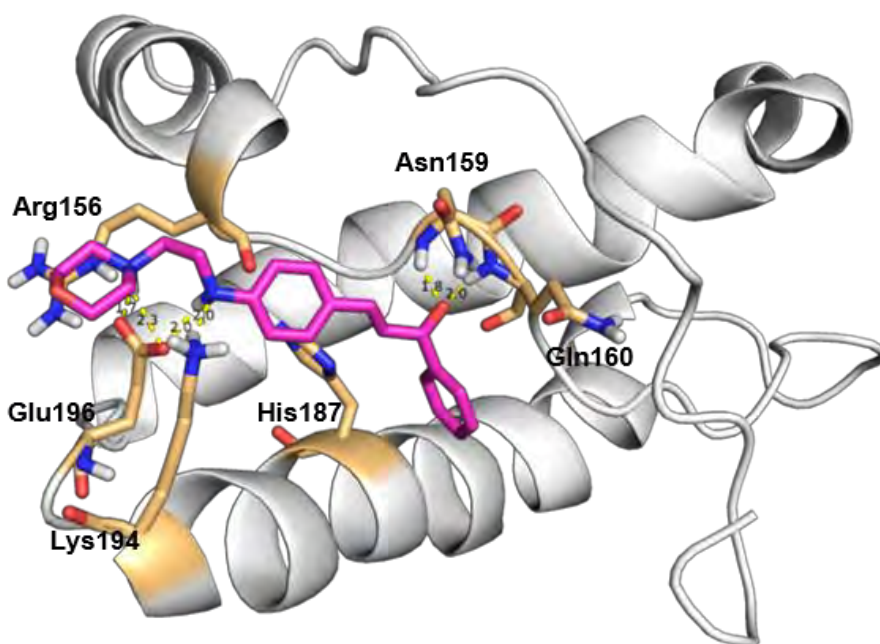
Anexo 55: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **46d** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



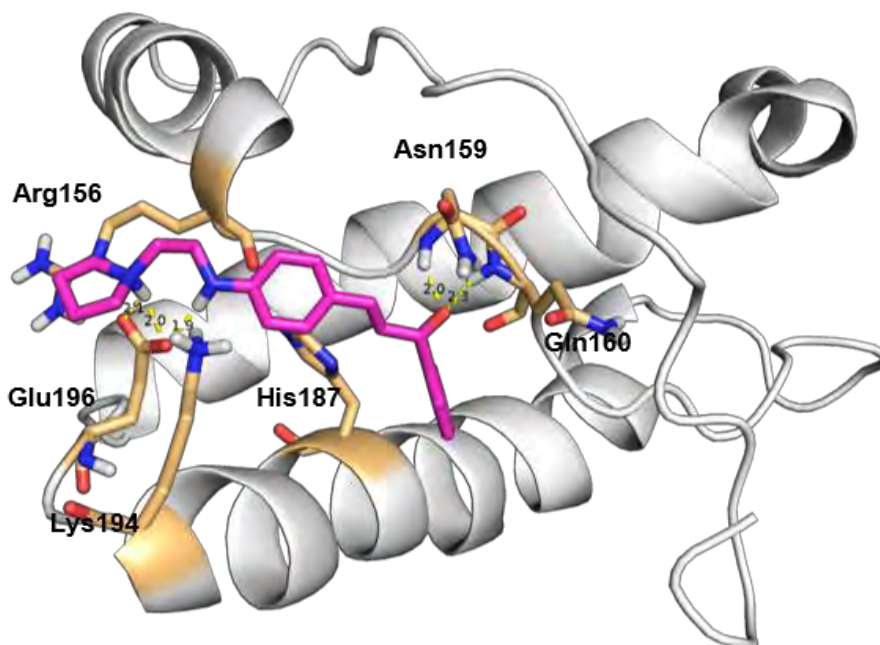
Anexo 56: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **46e** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



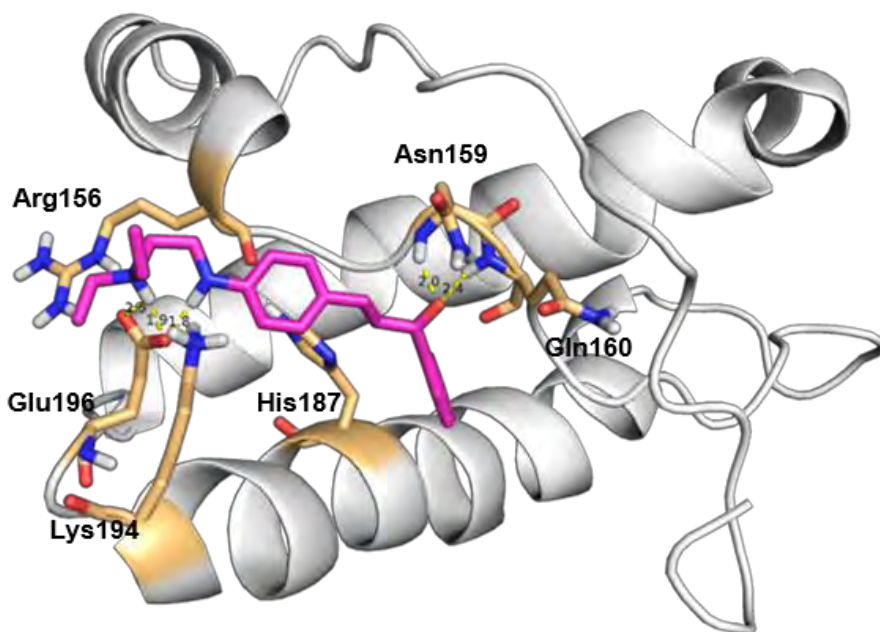
Anexo 57: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **46f** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



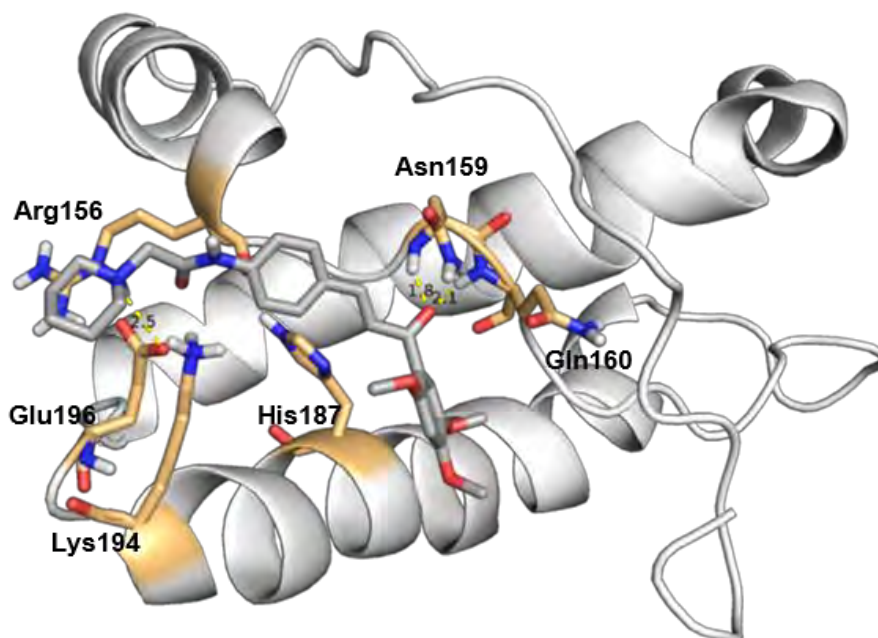
Anexo 58: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **46g** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



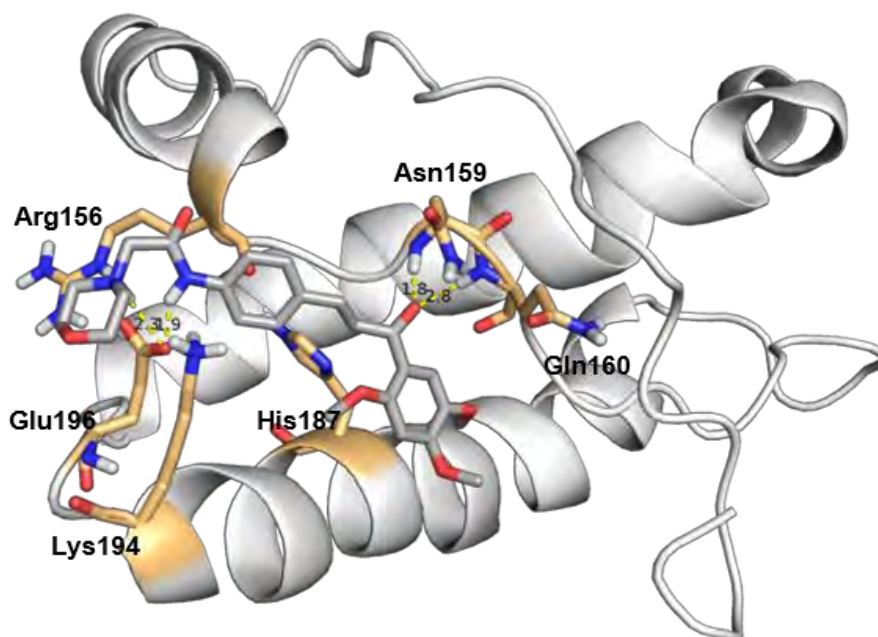
Anexo 59: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His- ϵ) e **46h** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



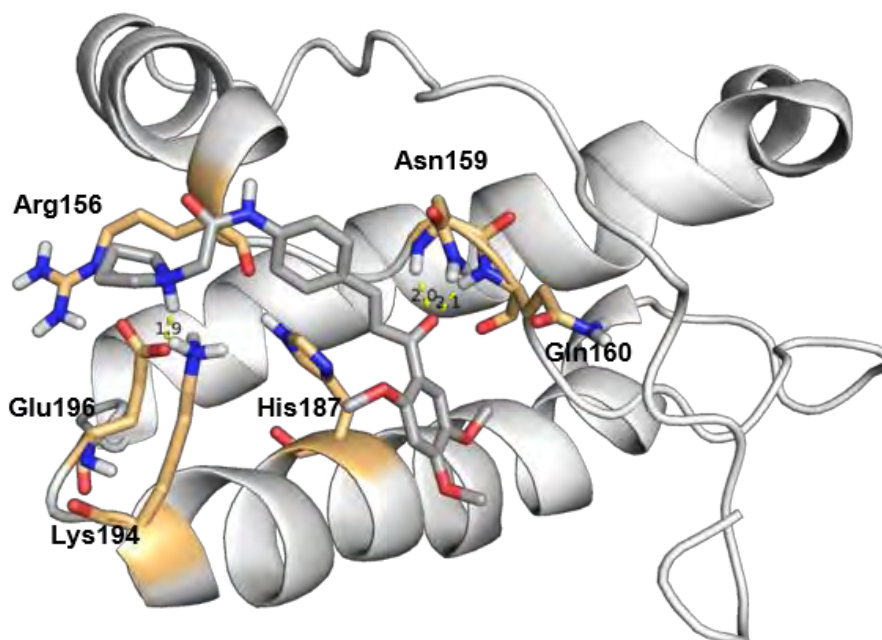
Anexo 60: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **59a** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



Anexo 61: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **59b** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



Anexo 62: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **59c** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.



Anexo 63: *Docking* molecular entre PrP¹²¹⁻²³¹ (His-ε) e **59d** utilizando software AutoDock (4.2.6), algoritmo genético Lamarckiano e posterior tratamento de imagem no software PyMOL (1.7.x). As interações entre a chalcona e PrP¹²¹⁻²³¹ estão representadas em linhas tracejadas amarelas.

