

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Yuri Giovane Kappenberg

**TACRINA ANÁLOGOS: SÍNTESE, DERIVATIZAÇÃO,
BIOATIVIDADE E FOTOFÍSICA DE SISTEMAS HETEROCÍCLICOS
HÍBRIDOS**

Santa Maria, RS

2023

Yuri Giovane Kappenberg

**TACRINA ANÁLOGOS: SÍNTESE, DERIVATIZAÇÃO, BIOATIVIDADE E
FOTOFÍSICA DE SISTEMAS HETEROCÍCLICOS HÍBRIDOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Ciências – ênfase em química orgânica.**

Orientador: Prof. Dr. Helio Gauze Bonacorso

Santa Maria, RS

2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Kappenberg, Yuri Giovane
TACRINA ANÁLOGOS: SÍNTESE, DERIVATIZAÇÃO,
BIOATIVIDADE E FOTOFÍSICA DE SISTEMAS HETEROCÍCLICOS
HÍBRIDOS / Yuri Giovane Kappenberg.- 2023.
219 p.; 30 cm

Orientador: Helio Gauze Bonacorso
Coorientador: Marcos Antonio Pinto Martins
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Química, RS, 2023

1. Tacrina Análogos 2. Tiofenos 3. Isoxazóis 4. 1,2,3
Triazóis 5. Inibição enzimática I. Bonacorso, Helio Gauze
II. Martins, Marcos Antonio Pinto III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFEM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

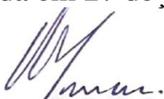
Declaro, YURI GIOVANE KAPPENBERG, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Yuri Giovane Kappenberg

**TACRINA ANÁLOGOS: SÍNTESE, DERIVATIZAÇÃO, BIOATIVIDADE E
FOTOFÍSICA DE SISTEMAS HETEROCÍCLICOS HÍBRIDOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Doutor em Ciências – ênfase em química orgânica.**

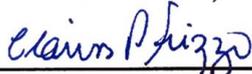
Aprovada em 27 de janeiro de 2023:



**Helio Gauze Bonacorso, Doutor (UFSM)
(Presidente/Orientador)**



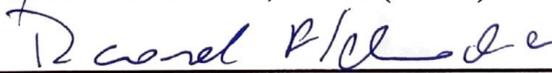
Aloir Antonio Merlo, Doutor (UFRGS)



Clarissa Piccinin Frizzo, Doutora (UFSM)



Marcelo De Godoi, Doutor (FURG)



Ricardo Frederico Schumacher, Doutor (UFSM)

Santa Maria, RS
2023

RESUMO

TACRINA ANÁLOGOS: SÍNTESE, DERIVATIZAÇÃO, BIOATIVIDADE E FOTOFÍSICA DE SISTEMAS HETEROCÍCLICOS HÍBRIDOS

AUTOR: Yuri Giovane Kappenberg
ORIENTADOR: Helio Gauze Bonacorso

A presente tese descreve os resultados relacionados à síntese, caracterização estrutural e avaliação da inibição enzimática *in vitro* de acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) de séries inéditas de heterociclos híbridos análogos à 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridina (Tacrina -THA), as quais contêm tiofenos, 1,2,3-triazóis, isoxazóis, pirróis e espiro-cromenos como modificadores estruturais e direcionados a geração de possíveis pró-fármacos no tratamento da doença de Alzheimer (DA). Este trabalho apresenta também um estudo de *N*-derivatização visando a inserção de pirróis, via reação de Clauson-Kaas, objetivando investigar propriedades fotofísicas de interesse (absorção e emissão). Assim, inicialmente foram obtidas três séries híbridas, conjugando diferentes heterociclos de cinco membros (tienopiridinaminas, isoxazolopiridinaminas e [1,2,3]triazolopiridinaminas) à THA. Para tanto, heteroaril-2-aminocarbonitrilas (tiofeno-, isoxazol- e 1,2,3-triazol-derivadas), cicloalcanos simples (ciclopentanona, ciclohexanona, cicloheptanona e 1-tetralona) e mais complexas (espiro[cromano-2,1'-cicloalcan]-4-onas) foram utilizadas como blocos precursores. Deste modo, foram isolados e caracterizados 34 (trinta e quatro) heterociclos análogos à THA em rendimentos na faixa de 4% - 88 %, dependendo das carbonitrilas precursoras, por meio de metodologias que utilizaram AlCl₃ como ácido de Lewis, na ausência ou presença de solvente, sob aquecimento térmico convencional ou por irradiação de micro-ondas. Em sequência, as três novas séries de tacrinas análogas (tiofeno-, isoxazol- e 1,2,3-triazol-híbridas), foram avaliadas quanto a sua atividade de inibição da AChE e BChE *in vitro*. Os resultados experimentais de inibição enzimática foram agregados a estudos complementares de *docking molecular* e evidenciaram que todos os compostos desenvolvidos demonstraram melhores propriedades anti-ChEs promissoras para a inibição da BChE, possivelmente devido ao tamanho que o sítio ativo da AChE possui, sendo menor que o da BChE, o que poderia explicar a causa dos compostos serem melhores inibidores de BChE do que AChE. Além disso, reações de *N*-derivatização, possibilitando a construção de pirróis derivados, via reação de Clauson-Kaas, foram aplicadas às tiofeno-tacrinas modificadas, levando à obtenção de 12 (doze) pirróis inéditos em rendimentos de 66% - 95%. Estes derivados pirrólicos tiveram suas propriedades fotofísicas investigadas (absorção e emissão), em solução (CHCl₃). Como resultado, verificou-se que estes pirróis absorvem na região do ultravioleta, com duas principais bandas de absorção máxima (280 e 350 nm), e apresentam fluorescência em solução (380-400 nm) e os valores de tempo de vida de fluorescência (1,49-2,60 ns) estão diretamente relacionados e dependentes dos substituintes ligados diretamente à porção tiofênica dos compostos. Todos os compostos químicos relativos às séries inéditas produzidas nesta tese foram caracterizados por ponto de fusão e elucidados estruturalmente via técnicas espectroscópicas e espectrométricas de rotina, como RMN uni- (¹H e ¹³C) e bidimensionais (HSQC e HMBC) em solução, HRMS e difração de raios-X em monocristal.

Palavras-chave: Tacrina Análogos. Tiofenos. Isoxazóis. 1,2,3-Triazóis. Inibição enzimática. Propriedades fotofísicas.

ABSTRACT

TACRINE ANALOGUES: SYNTHESIS, DERIVATIZATION, BIOACTIVITY AND PHOTOPHYSICS OF HETEROCYCLIC HYBRID SYSTEMS

AUTHOR: Yuri Giovane Kappenberg

ADVISOR: Helio Gauze Bonacorso

This thesis presents the results related to the synthesis, structural characterization and evaluation of the *in vitro* enzymatic inhibition of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) of novel series of heterocycle hybrids analogous to 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridine (Tacrine -THA), which contains thiophenes, 1,2,3-triazoles, isoxazoles, pyrroles and spiro-chromenes as structural modifiers and aimed at generating possible prodrugs in the treatment of Alzheimer's disease (AD). This work also presents a study of *N*-derivatization aiming the insertion of pyrroles, via Clauson-Kaas reaction, in order to investigate photophysical properties of interest (absorption and emission). Thus, three hybrid series were initially obtained, conjugating different five-membered heterocycles (thienopyridinamines, isoxazolopyridinamines and [1,2,3]triazolopyridinamines) to THA. For this purpose, heteroaryl-2-aminocarbonitriles (thiophene-, isoxazole- and 1,2,3-triazole-derivatives), simple cycloalkanones (cyclopentanone, cyclohexanone, cycloheptanone and 1-tetralone) and more complex ones (spiro[chroman-2,1'-cycloalkan]-4-ones) were applied as building blocks. Thus, 34 (thirty-four) heterocycles analogous to THA were isolated and characterized in yields ranging to 4% - 88%, depending on the precursor carbonitriles, through methodologies that used AlCl₃ as catalyst, in the absence or presence of solvent, under conventional thermal heating or by microwave irradiation. In sequence, the three new series of tacrine analogues (thiophene-, isoxazole- and 1,2,3-triazole-hybrids) were evaluated for their *in vitro* AChE and BChE inhibition activity. The experimental results of enzymatic inhibition were added to complementary studies of molecular docking and showed that all the developed compounds demonstrated better anti-ChE properties promising for the inhibition of BChE, possibly due to the size that the AChE active site has, being smaller than the of BChE, which could explain because the compounds are better inhibitors of BChE than AChE. In addition, *N*-derivatization reactions, enabling the construction of derivative pyrroles, via the Clauson-Kaas reaction, were applied to the modified thiophene-tacrines, leading to the obtainment of 12 (twelve) novel pyrroles in yields of 66% - 95%. These pyrrole derivatives had their photophysical properties investigated (absorption and emission) in solution (CHCl₃). As a result, it was found that these pyrroles were the transition bands were observed in the ultraviolet region, with two main maximum absorption bands (280 and 350 nm), and exhibit fluorescence in solution (380-400 nm) and lifetime decay values of fluorescence (1.49-2.60 ns) are directly related and dependent on the substituents directly linked to the thiophene moiety of the compounds. All chemical compounds related to the novel series produced in this thesis were characterized by melting point and structurally elucidated via routine spectroscopic and spectrometric techniques, such as uni- (¹H and ¹³C) and two-dimensional (HSQC and HMBC) NMR in solution, HRMS and single crystal X-ray diffraction.

Keywords: Tacrine Analogues. Thiophenes. Isoxazoles. 1,2,3-Triazoles. Enzyme inhibition. Photophysical properties.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

2,5-DMOTHF = 2,5-dimetóxitetrahidrofurano

ACh = acetilcolina sináptica

AChE = acetilcolinesterase

AcOH = ácido acético glacial

ADME = propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção

AL = Ácido de Lewis

AlCl₃ = cloreto de alumínio

ASCh = iodeto de acetiltiocolina

ATP = adenosina trifosfato

BChE = butirilcolinesterase

BF₃.OEt₂ = triflúorboroeterato

CDCl₃ = clorofórmio deuterado

CoMFA = análise comparativa de campo molecular

d = duplete

DA = doença de Alzheimer

dd = duplo duplete

DMF = dimetilformamida

DMSO = dimetilsulfóxido

DMSO-*d*₆ = dimetilsulfóxido deuterado

e5'NT = ecto-5'-nucleotidases

Et₃N = trietilamina

FDA = *Food and Drug Administration*

FeCl₃ = cloreto férrico

H = hidrogênio

hBChE = butirilcolinesterase humana

HMBC = *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*

HRMS = Espectrometria de Massas de Alta Resolução

HSQC = *Heteronuclear Single Quantum Correlation*

Hz = Hertz

IC₅₀ = valor da concentração de um inibidor necessária para reduzir pela metade a atividade enzimática

InCl₃ = cloreto de índio

IUPAC = União Internacional de Química Pura e Aplicada

J = Constante de acoplamento

K₂CO₃ = carbonato de potássio

m = multiplete

Me = metila

mL = mililitro

mmol = milimol

Na₂SO₄ = sulfato de sódio

NaCl = cloreto de sódio

NaN₃ = azida de sódio

NCS = *N*-clorosuccinimida

nM = nanomolar

NMDA = ácido *N*-metil-*D*-aspártico memantina

NUQUIMHE = Núcleo de Química de Heterociclos

OLEDs = diodos orgânicos emissores de luz

P. F. = ponto de fusão

P.A. = padrão analítico

ppm = partes por milhão

q = quarteto

quin = quinteto.

RMN ¹³C = Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

RMN ¹H = Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s = simpleto

Sal-AMS = 5'-*O*-[*N*-(salicyl)sulfamoil]adenosina

SAR = taxa de absorção específica

SS = deslocamentos de Stokes

t = tripleto

t.a. = temperatura ambiente

THA = tacrina

TMS = tetrametilsilano

UFSM = Universidade Federal de Santa Maria

UV-vis = espectroscopia no ultravioleta-visível

ZnCl₂ = cloreto de zinco

δ = deslocamento químico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	16
2	REVISÃO DA LITERATURA	23
2.1	TIOFENOS DERIVADOS	23
2.2	ISOXAZÓIS DERIVADOS.....	27
2.3	1,2,3-TRIAZÓIS DERIVADOS	30
2.4	TACRINA: HISTÓRICO E MODIFICAÇÕES ESTRUTURAIS	34
3	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	43
3.1	NOMENCLATURA E NUMERAÇÃO DOS COMPOSTOS	44
3.2	REAÇÕES DE 2-AMINOTIOFENO-3-CARBONITRILAS (3, 5) COM ESPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOALCAN]-4-ONAS (7) NA SÍNTESE DE ESPIRO[CROMENO[4,3- <i>b</i>]TIENO[3,2- <i>e</i>]PIRIDINA-6,1'-CICLOHEXAN]-7- AMINA (8).....	45
3.2.1	Síntese de 2-aminotiofeno-3-carbonitrila (3)	46
3.2.2	Síntese de 2-amino-cicloalcano[<i>b</i>]tienil-3-carbonitrilas (5a-c).....	46
3.2.3	Síntese de espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (7a-c).....	47
3.2.4	Síntese de espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (8)	48
3.2.5	Purificação dos compostos espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'- ciclohexan]-7-aminas (8).....	51
3.2.6	Espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (8): Identificação Estrutural por espectroscopia de RMN e Difração de raios-X.....	52
3.2.6.1	RMN de ¹ H, ¹³ C, ¹³ C-1H HMBC e HSQC de espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>] piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (8):	53
3.2.6.2	Análise por Difração de Raio-X em monocristal para o composto espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>] tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (8ba).....	59
3.2.7	Atividade inibitória <i>in vitro</i> de AChE e BChE	61
3.2.8	Análise <i>in silico</i> de AChE e BChE por <i>docking molecular</i>	63
3.3	REAÇÕES DE 5-AMINO-3-ARIL/HETEROARIL-ISOXAZOL-4- CARBONITRILAS (10a-h) COM CICLO-ALCANONAS (4a-e).....	66
3.3.1	Síntese de 5-amino-3-aryl/heteroaryl-isoxazol-4-carbonitrilas (10a-h)	67

3.3.2	Síntese de 3/8-aril/heteroaril-hidrociclo-isoxazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinaminas(piridinaminas) (11)	68
3.3.3	Purificação dos compostos 3/8-aril/heteroaril-hidrociclo-isoxazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinaminas/piridinaminas (11)	71
3.3.4	3(8)-Aril/heteroaril-isoxazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinaminas(piridinaminas) (11): Identificação Estrutural por espectroscopia de RMN	72
3.3.4.1	RMN de ¹ H, ¹³ C de 3(8)-aril/heteroaril-isoxazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinaminas(piridinaminas) (11)	73
3.3.5	Atividade inibitória <i>in vitro</i> de AChE e BChE	75
3.3.6	Análise <i>in silico</i> de AChE e BChE por <i>docking molecular</i>	76
3.4	REAÇÕES DE 5-AMINO-1-ALQUI(BENZIL/ARIL)-1 <i>H</i> -1,2,3-TRIAZOL-4-CARBONITRILAS (15a-k) COM CICLO-ALCANONAS (4a-e)	77
3.4.1	Síntese de 5-amino-1-alqui(benzil/aril)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-carbonitrilas (14a-k)	78
3.4.2	Síntese de 3/10-alquil(benzil/aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (15)	79
3.4.3	Purificação dos compostos 3/10-alquil(benzil/aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (15)	82
3.4.4	3(10)-Alquil(aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (15): Identificação Estrutural por Espectroscopia de RMN e Difração de Raios-X	83
3.4.4.1	RMN de ¹ H, ¹³ C, ¹³ C- ¹ H HMBC e HSQC de 3(10)-alquil(aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (15)	84
3.4.4.2	Análise por Difração de Raio-X em monocristal para o composto 3-benzil-5,6,7,8-tetrahydro-3 <i>H</i> -[1,2,3]triazolo[4,5- <i>b</i>]quinolin-9-amina (15ab)	89
3.4.5	Atividade inibitória <i>in vitro</i> de AChE e BChE	90
3.4.6	Análise <i>in silico</i> de AChE and BChE por <i>docking molecular</i>	92
3.5	MECANISMO REACIONAL GERAL PROPOSTO PARA A SÍNTESE DOS COMPOSTOS ANÁLOGOS À TACRINA (8, 11 E 15)	94
3.6	REAÇÕES DE DERIVATIZAÇÃO DOS COMPOSTOS 8	95
3.6.1	Síntese de 7-(1 <i>H</i> -pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexano (17)	95
3.6.2	Purificação dos compostos 7-(1 <i>H</i> -pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexano (17)	97
3.6.3	7-(1 <i>H</i> -pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexano (17): Identificação Estrutural por espectroscopia de RMN e Difração de raios-X	99

3.6.3.1	RMN de ^1H , ^{13}C , ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC de 7-(1 <i>H</i> -pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexano (17)	99
3.6.3.2	Análise por Difração de Raio-X em monocristal para o composto 7-(1 <i>H</i> -pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexano] (17ba)	106
3.6.4	Propriedades Fotofísicas dos compostos 17	107
3.6.5	Mecanismo geral proposto para a síntese dos compostos 17	111
4	MATERIAIS E MÉTODOS	112
4.1	REAGENTES E SOLVENTES UTILIZADOS	112
4.1.1	Reagentes	112
4.1.2	Solventes	112
4.2	EQUIPAMENTOS	112
4.2.1	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	112
4.2.2	Ponto de Fusão	113
4.2.3	Difração de raios-X	113
4.3	ANÁLISE DE <i>HOMO SAPIENS</i> ACETILCOLINESTERASE (ACHE) E BUTIRILCOLINESTERASE (BCHE)	114
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	115
4.5	SIMULAÇÕES DE <i>DOCKING MOLECULAR</i>	115
4.6	ANÁLISE FOTOFÍSICA EM SOLUÇÃO	115
4.7	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS SINTÉTICOS	116
4.7.1	Síntese de 2-aminotiofeno-3-carbonitrila (3)	116
4.7.2	Síntese de 2-amino-hidrociclo[<i>b</i>]tienil-3-carbonitrilas (5)	116
4.7.3	Síntese de espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (7)	117
4.7.4	Síntese de espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (8)	117
4.7.5	Síntese de 5-amino-3-aryl/heteroaryl-isoxazol-4-carbonitrilas (10)	123
4.7.6	Síntese de 3/8-aryl/heteroaryl-hidrociclo-isoxazolo[5,4- <i>b</i>]quinolinaminas(piridinaminas) (11)	125
4.7.7	Síntese de Azidas Orgânicas (13)	129
4.7.7.1	Síntese de alquil-azidas (13a-c)	129
4.7.7.2	Síntese de aril-azidas (13d-k)	130
4.7.8	Síntese de 5-amino-1-alqui(benzil/aryl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-carbonitrilas (14)	130
4.7.9	Síntese de 3/10-alquil(benzil/aryl)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (15)	132

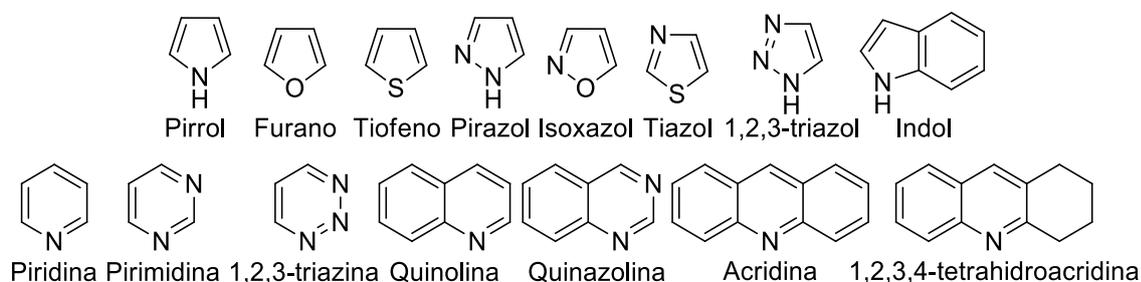
4.7.10	Síntese de 7-(1<i>H</i>-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-<i>b</i>]tieno[3,2-<i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexano (18aa-cd)	136
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	143
6	SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO	147
7	REFERÊNCIAS	148
8	ANEXOS	162
8.1	ESPECTROS DE RMN DOS COMPOSTOS OBTIDOS NESTE TRABALHO	162
8.2	DADOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X PARA O COMPOSTO 8ba	215
8.3	DADOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X PARA O COMPOSTO 15ab	216
8.4	DADOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X PARA O COMPOSTO 17ba	217
9	PUBLICAÇÕES	218

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Os compostos heterocíclicos são importantes não apenas por causa de sua abundância, mas também por causa de sua significância química, farmacológica e técnicas de obtenção.¹⁻³ Muitos heterociclos, sejam naturais ou sintéticos, são relevantes devido a sua presença em substâncias bioativas, materiais funcionais e por serem precursores estratégicos na síntese orgânica devido à sua versatilidade, sendo assim possíveis candidatos a fármacos com diferentes aplicações farmacológicas.^{1,4,5} Compostos heterocíclicos fundidos também tem possibilitado uma promissora abordagem farmacofórica híbrida visando novas biomoléculas ativas e podem ampliar significativamente o espectro de eficiência biológica.⁵⁻⁷ Análogos fundidos são frequentemente de maior interesse biológico, do que quando comparado aos compostos monocíclicos componentes destas moléculas fundidas, devido a estes possuírem maior número de grupos farmacofóricos em diferentes posições anelares, podendo assim, reagir ou interagir com uma gama mais ampla de receptores de interesse.^{8,9}

Dentre as diversas classes de heterociclos, os que contém átomos enxofre, nitrogênio e oxigênio apresentam uma importância destacada, devido a sua presença em diversos produtos naturais, corantes, materiais orgânicos e, particularmente, na química e na medicina, devido ao seu perfil farmacológico diverso.^{3,7} Heterociclos em geral constituem uma classe importante de produtos naturais ou sintéticos, muitos deles, exibindo atividades farmacológicas importantes, sendo exemplificados por pirróis, furanos, tiofenos, pirazóis, isoxazóis, triazóis, indóis, piridinas, triazinas, pirimidinas, quinolinas, quinazolinas, acridinas, entre outros (Figura 1).¹⁰

Figura 1 – Exemplos de compostos heterocíclicos de importância em diversas áreas de aplicação.



Variadas atividades farmacológicas podem ser observadas em derivados heterocíclicos, sendo possível de citação sua utilização como agentes anticonvulsivantes, antitumorais, anti-

HIV, antimaláricos, antimicrobianos, anti-neurodegenerativos como no tratamento da doença de Alzheimer, Parkinson, Huntington, entre outras. Estes precedentes torna interessante e necessário para o desenvolvimento de novos métodos sintéticos, de fácil execução experimental e eficientes para a obtenção de sistemas heterocíclicos inéditos para contribuição à química medicinal.^{10,11}

Dentre os diversos sistemas heterocíclicos existentes, destacam-se os compostos contendo o núcleo tiofênico, cujos heterociclos contendo este, se mostram interessantes, devido ao fato destes se mostrarem interessantes como blocos de construção e *syntons* em síntese orgânica, visando a obtenção de novos ou aperfeiçoados atributos biológicos, farmacológicos ou como corantes e aplicações na química de materiais avançados.^{12,13}

Outras estruturas heterocíclicas de extrema importância são os isoxazóis e seus derivados, que se destacam por possuírem diversas aplicações terapêuticas, biológicas e medicinais,¹⁴ além da capacidade destes serem utilizados na obtenção de novos compostos contendo propriedades farmacológicas, através da ligação entre o anel isoxazolínicos e outros farmacóforos.^{14,15}

Os 1,2,3-triazóis, por sua vez, são exemplos de sistemas heterocíclicos obtidos apenas sinteticamente, que merecem destaque, uma vez que diversos compostos utilizados na química medicinal, cujo *design* e síntese de derivados triazólicos tem sido amplamente desenvolvida no estudo de novas moléculas e suas propriedades bioativas.^{7,16}

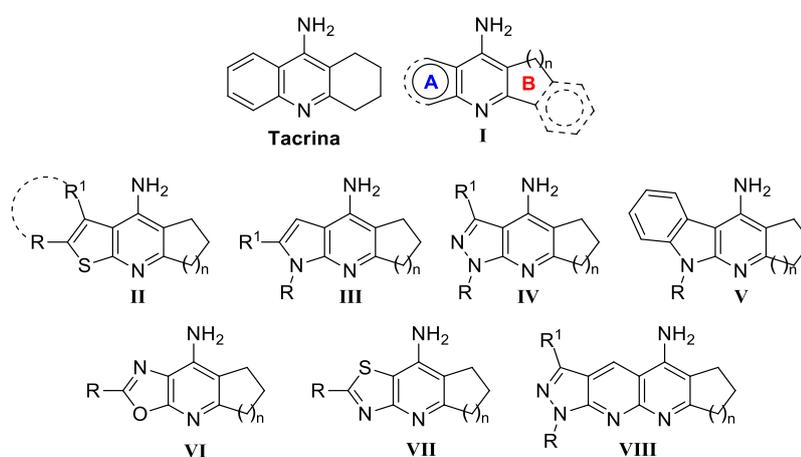
Mais especificamente, a 9-amino-1,2,3,4-tetrahidroacridina ou tacrina (Figura 2), por sua vez, é um fármaco reconhecido como inibidor reversível da acetilcolinesterase e butirilcolinesterase. Estas duas enzimas são as principais responsáveis pela degradação de acetilcolina, um dos mecanismos associados à patogênese da doença de Alzheimer (DA).¹⁷ Além disso, a tacrina foi o primeiro inibidor potente e clinicamente eficaz aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA, em 1993, para o tratamento da DA. No entanto, devido à sua hepatotoxicidade, esta droga foi retirada do mercado farmacêutico em 1998.^{18,19} De modo a reduzir tais efeitos, o desenvolvimento de compostos que combinem duas ou mais de propriedades farmacológicas, como inibição da colinesterase, ativação ou inibição de subtipos específicos de receptores de acetilcolina, atividade anti-inflamatória, neuroproteção, entre outras, têm sido estratégias abordadas frequentemente neste campo de pesquisa.²⁰

Nesse aspecto, para a síntese de compostos heterocíclicos análogos à tacrina, as *orto*-aminonitrilas aromáticas ou heteroaromáticas têm sido utilizadas como blocos de construção bastante versáteis. Entre todos os fatores que influenciam estas reações, vários ácidos de Lewis têm desempenhado um papel crucial na conversão de novas tacrinas análogas, sendo que, o AlCl_3 tem se mostrado uma alternativa eficaz para a preparação destas. Por outro lado, ácidos

de Lewis como $ZnCl_2$, $CuCl$, $CuCl_2$, $TiCl_4$ e ácido *p*-toluenossulfônico, são menos eficazes para a maioria das reações similares.²¹

Trabalhos envolvendo a substituição do anel de benzeno 'A' na tacrina (**I**, Figura 2) por heterociclos fundidos de cinco membros tem se mostrado como uma estratégia terapêutica de interesse, uma vez que, análogos da tacrina, baseadas em pequenas moléculas multialvo que são capazes de interagir com outros alvos biológicos envolvidos na doença têm sido propostos para uma potencial terapia da DA (Figura 2).²²

Figura 2 – Análogos à tacrina com diferentes heterociclos de cinco membros fundidos



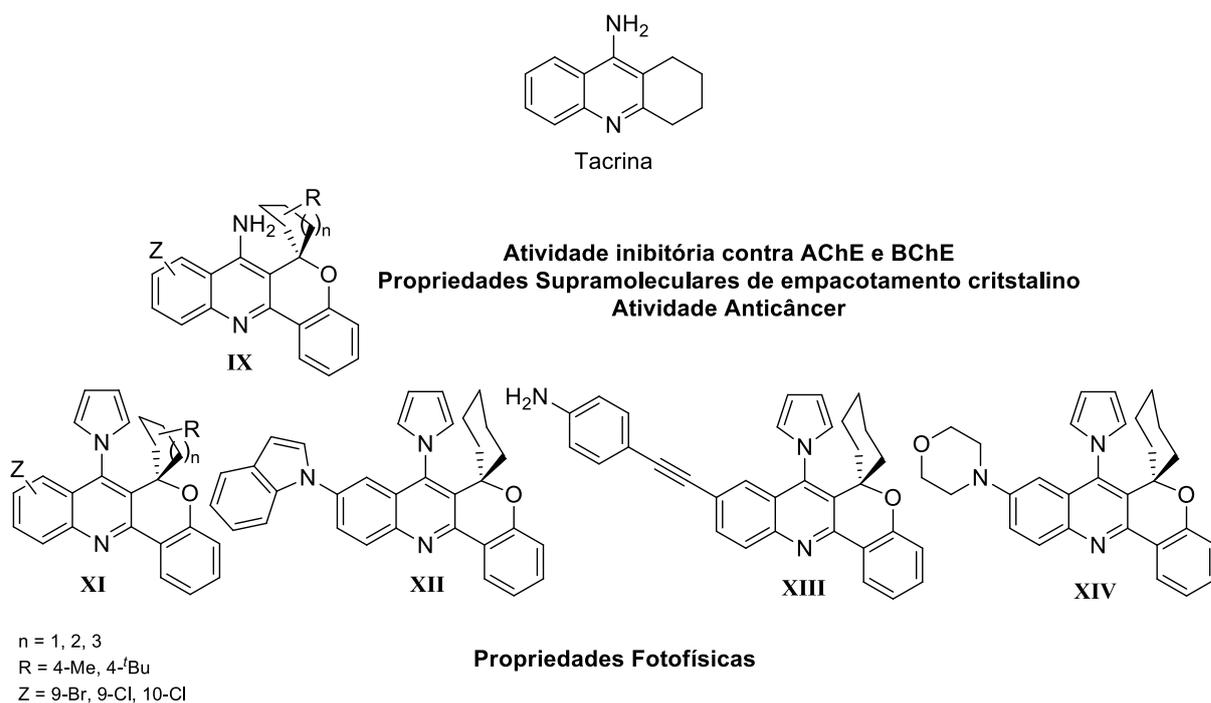
Tendo em vista a importância do desenvolvimento de heterociclos análogos à tacrina, os quais apresentam uma grande variedade de atividades estruturais e biológicas, pesquisas envolvendo compostos baseados na estrutura desta vêm sendo conduzidas pelo Núcleo de Química de Heterociclos (NUQUIMHE), da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, com especial ênfase para 7-amino-espiro[cromeno[4,3-*b*]quinolina-6,1'-cicloalcanos] e compostos derivados (Figura 3).^{23–27}

As 7-amino-espiro[cromeno[4,3-*b*]quinolina-6,1'-cicloalcanos] (**IX**, Figura 3) foram submetidas a avaliação de inibição enzimática da acetilcolinesterase (AChE), butirilcolinesterase (BChE) e atividade de citotoxicidade, além de estudos de docking molecular. Tem se observado que compostos não halogenados foram melhores inibidores de AChE e BChE do que as moléculas halogenadas. Os melhores resultados mostraram-se para o composto que possui a porção espirociclopentano (AChE e BChE com $IC_{50} = 3,60$ e $4,40 \mu M$, respectivamente).^{23,26} Além destes testes enzimáticos, essas estruturas foram avaliadas quanto à atividade citotóxica, utilizando a linha celular de glioblastoma (SF295), bem como analisando

o mecanismo de morte celular. Como resultados promissores, observou-se que tais compostos podem ser protótipos para o desenvolvimento de novos quimioterápicos para o combate à glioblastomas, principalmente para o tratamento de pacientes resistentes à temozolomida (medicamento atualmente utilizado para tratamento algumas linhagens de tumores cerebrais).²⁵

A partir destes análogos da tacrina, ainda foram realizadas reações de Clauson–Kaas, com o intuito de se obter 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]quinolina-6,10-cicloalcanos] (**XI**, Figura 3). Estes pirróis derivados de estrutura química mais complexa, foram avaliados em reações de acoplamento cruzado do tipo CC (Sonogashira, **XIII**) e CN (Buchwald–Hartwig (**XII**) e Ulmann (**XIV**)). Os produtos destes acoplamentos foram submetidos a estudos fotofísicos, os quais demonstraram propriedades de elevada emissão luminosa, bons valores de rendimentos quânticos de fluorescência e deslocamentos de Stokes (SS) de moderados a altos.²⁷

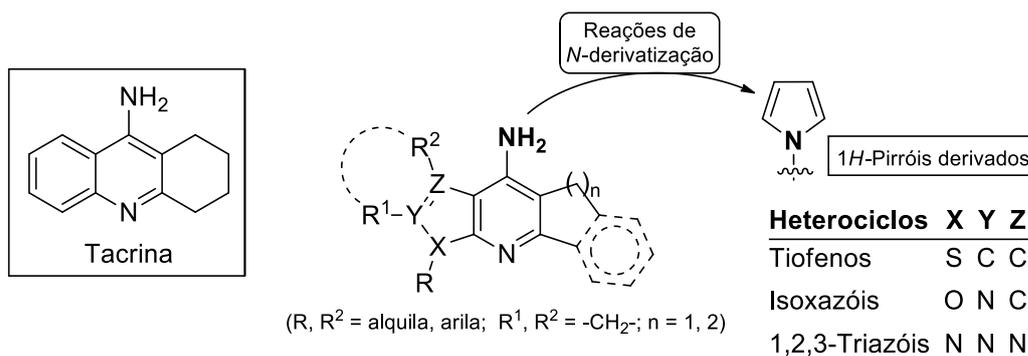
Figura 3 – Análogos à tacrina com diferentes propriedades, desenvolvidos pelo NUQUIMHE



Desta forma, considerando a relevância de todos estes componentes químicos estruturais previamente relatados e visando a obtenção de propriedades biológicas intensificadas de inibição enzimática voltados ao tratamento da DA, com o objetivo de melhorar o perfil biológico e superar os efeitos colaterais indesejáveis, e de possível aplicação também na área de materiais avançados emergentes a partir de uma possível hibridização dos heterociclos mencionados, este trabalho tem como objetivo geral o estudo da síntese, elucidação estrutural

e avaliação dos compostos inéditos análogos à tacrina, contendo como isósteros: tiofenos, isoxazóis e 1,2,3-triazóis, principalmente quanto aos aspectos de inibição enzimática e propriedades fotofísicas, conforme representado na Figura 4.

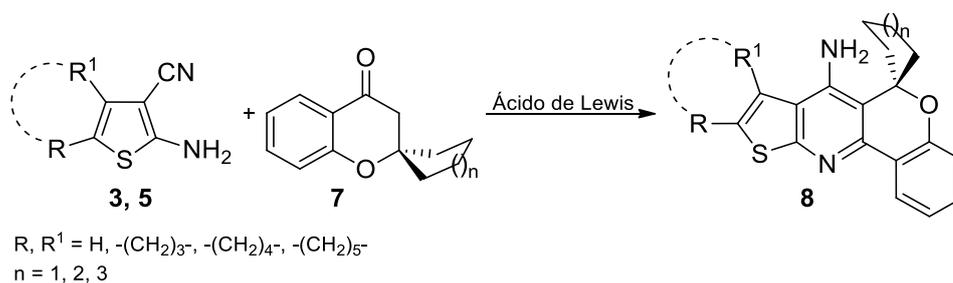
Figura 4 – Modelo estrutural genérico dos compostos-alvo deste estudo.



Desta forma, o desenvolvimento da metodologia sintética proposta para este trabalho apresenta os seguintes objetivos específicos:

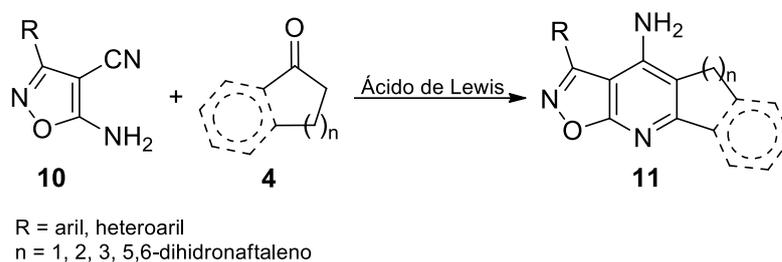
1. Sintetizar espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**) a partir de espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7**) em reações com 2-aminotiofeno-3-carbonitrilas (**3**, **5**) na presença de ácido de Lewis (Esquema 1).

Esquema 1



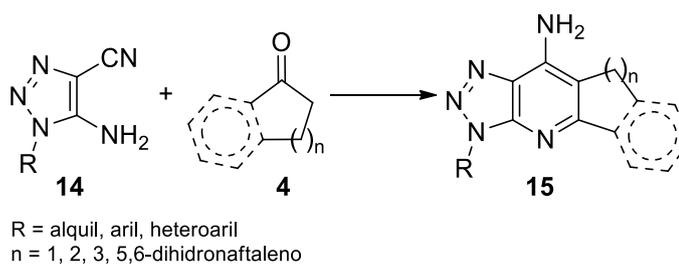
2. Sintetizar isoxazolo-quinolinaminas e piridinaminas análogas (**11**) a partir de reações entre 5-amino-3-aryl(heteroaryl)-isoxazol-4-carbonitrilas (**10**) e ciclo-alcanonas (**4**) na presença de ácido de Lewis (Esquema 2).

Esquema 2



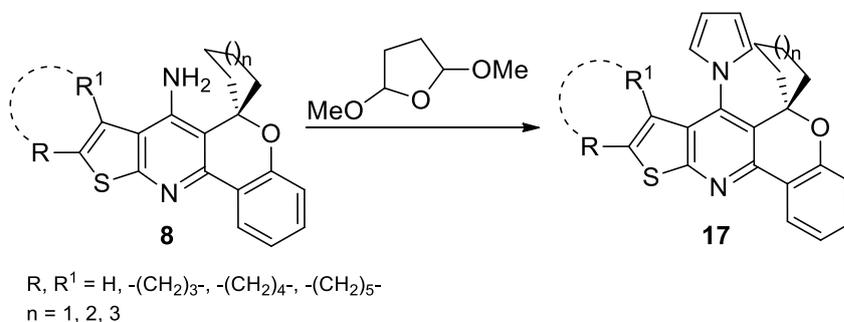
3. Sintetizar 3(10)-alquil(benzil/aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas (piridinaminas) (**15**) por meio de reações de 5-amino-1-alquil(benzil/aril)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrilas (**14**) com ciclo-alcanonas (**4**) na presença de ácido de Lewis (Esquema 3).

Esquema 3



4. Explorar reações de *N*-derivatização nos compostos **8** visando a obtenção de exemplos de estruturas químicas de 1*H*-pirrol-1-il derivadas **17** (Esquema 4).

Esquema 4



5. Realizar estudos de avaliação farmacológica de inibição enzimática (AChE/BChE) das novas tacrinas híbridas **8**, **11** e **15**, como também, estudos avaliando propriedades fotofísicas de interesse (absorção e emissão) para a nova série de compostos pirrólicos derivados **17**.

2 REVISÃO DA LITERATURA

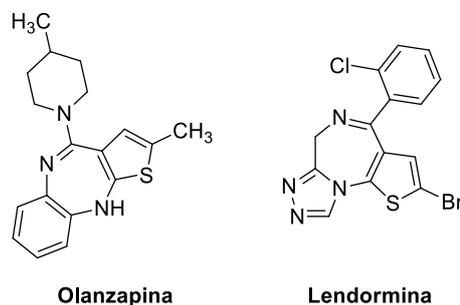
Esta revisão da literatura contempla tópicos diretamente relacionados com os estudos realizados neste trabalho. Desta forma, neste capítulo serão relatados em um primeiro momento trabalhos envolvendo a síntese e aplicação de derivados tiofênicos, isoxazolínicos e triazolínicos, individualmente, assim como suas propriedades fotofísicas e biológicas. Na sequência, serão abordados trabalhos que descrevem análogos bioativos de compostos semelhantes à tacrina, assim como a apresentação, de maneira sucinta, das principais metodologias para a obtenção de derivados heterocíclicos semelhantes aos propostos neste trabalho.

2.1 TIOFENOS DERIVADOS

Entre o grande número de estruturas heterocíclicas existentes, as moléculas contendo enxofre são, sem dúvida, um dos alvos mais importantes na química medicinal, em especial as que contêm o anel tiofênico, que consistem em heterociclos de cinco membros, contendo um heteroátomo de enxofre, e que foram identificadas por terem um amplo espectro de aplicações, incluindo seu uso como precursores de produtos naturais, farmacêuticos (em especial anticâncer, antipsicóticos e quimioterápicos), agroquímicos, corantes, agentes em biodiagnósticos, dispositivos eletrônicos e ótico-eletrônicos, sensores, entre outras aplicações industriais.^{1,3,6,12,13,28}

Dois exemplos de compostos heterocíclicos com propriedades farmacológicas aplicadas comercialmente contendo tiofenos são a Olanzapina, que age como um agente psicotrópico, que tem sido usada comercialmente desde 1996 para tratar a esquizofrenia e o transtorno bipolar; e o Lendormina (também conhecido como brotizolam), que age como indutor do sono, atuando no sistema nervoso central, indicado no tratamento da insônia (Figura 5).¹

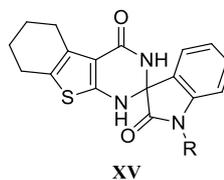
Figura 5 – Heterociclos contendo tiofenos com propriedades farmacológicas e comercialmente em uso.



Vários são os métodos preparativos existentes para a síntese de tiofenos, onde a reação de Gewald se mostra como sendo um dos melhores métodos, em termos de preparação desses sistemas heterocíclicos.^{1,4,6,13,29} Na maioria dos casos, as transformações prosseguem via processos em cascata e/ou multicomponentes com a formação de novas ligações e permitem o acesso a estruturas heterocíclicas mais complexas ou “impossíveis” de obter de outra forma.⁴

Tais heterociclos se mostram interessantes devido ao fato destes serem usados como blocos de construção e *syntons* em síntese orgânica, devido seus diversos atributos biológicos, farmacológicos, corantes e na química de materiais.^{12,13} A versatilidade destes compostos se demonstra como uma possibilidade na obtenção sintética de heterociclos fundidos, tais como tiolactonas, tienopirróis, tienopirimidinas e tienopiridinas.¹³

Tienopirimidinas são um dos heterociclos fundidos mais comuns contendo o ciclo tiofênico, ao qual vários métodos e condições reacionais são utilizadas na obtenção dos mesmos, sendo estes utilizados em diversas as aplicações como agroquímicos, materiais eletrônicos, corantes e compostos farmacologicamente ativos^{5,29}, como atividade anticâncer, antiinflamatória, antimicrobiana, antiviral. Um exemplo se tem no trabalho desenvolvido por Ismail e col³⁰ em 2017, no qual foram projetados novos análogos de tieno[2,3-*d*]pirimidina (**XV**), seletivos para o alvo, otimizados e variados para o tratamento de doenças multifatoriais, cujos compostos sintetizados foram avaliados quanto às suas propriedades antiproliferativas *in vitro* contra linhagens de células cancerígenas. A substituição do grupo R diferente tem um impacto significativo na atividade antitumoral (Figura 6).

Figura 6 – Tienopirimidinas com propriedades antiproliferativas *in vitro* contra linhagens de células cancerígenas

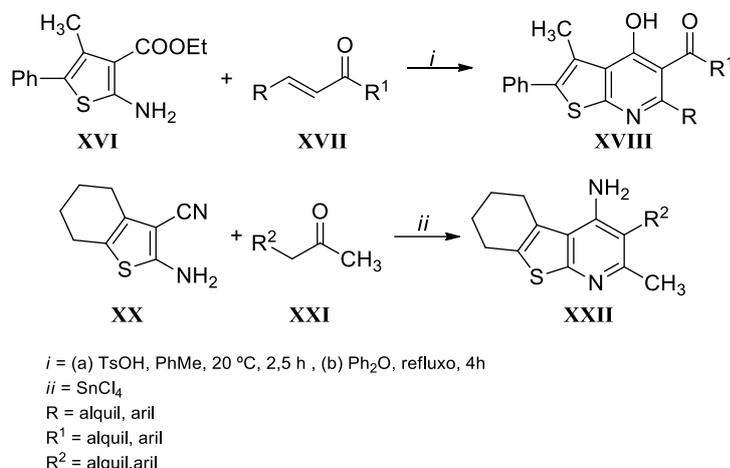
R	IC ₅₀ (μM)		
	K-562	Colo-205	MDA-MB231
Me	16	9	29
Et	21	12	34
i-Pr	12	6	22

Outro sistema heterocíclico fundido amplamente relatado, são os derivados de tienopiridina, as quais têm atraído a atenção de muitos químicos sintéticos ao longo dos anos por suas vias sintéticas simples e brandas, oferecendo altos rendimentos e produtos relativamente puros, bem como sua utilidade e aplicações práticas no campo biológico e industrial.^{2,31}

Tais compostos demonstram atenção científica devido à sua ampla gama de utilidades biológicas, incluindo antidepressivas anti-inflamatórias, antibacterianas, antimicrobianas, antivirais, agentes anti-Alzheimer, anticâncer e atividade antiproliferativa significativa, demonstrando inibir o crescimento contra uma variedade de linhagens celulares de câncer humano.^{2,8,31}

Os métodos mais comuns na obtenção destes sistemas incluem o fechamento do anel de tiofeno com base em derivados de piridina e o fechamento do anel de piridina com base em derivados de tiofeno.⁸ Destes, as técnicas amplamente empregados para a construção do anel de piridina são baseados em derivados de 2-aminotiofeno (**XVI**), com o denominado componente 2C (um componente que serve como fonte de dois átomos de carbono). Os grupos CN ou COOEt estão geralmente presentes como substituintes na posição 3 do anel tiofeno, cujo fator importante no desenvolvimento de tais métodos é o alto potencial farmacológico dos compostos preparados (Esquema 5).⁸

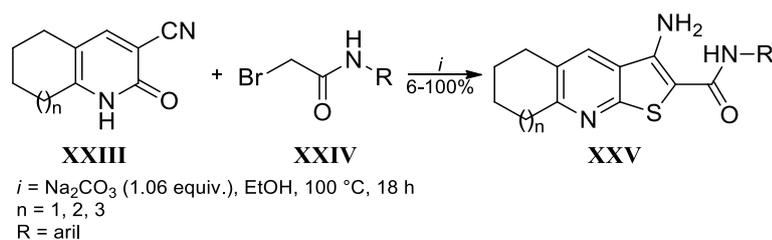
Esquema 5



De modo a investigar o efeito da mudança do tipo de substituinte fundido ao anel piridínico, Leung e col.³¹ desenvolveram uma série de compostos derivados de tienopiridinas (**XXV**), visando investigar se, a mudança da porção cicloalquil-fundida e a presença de substituintes aromáticos no sistema, teria influência na atividade (Esquema 6).

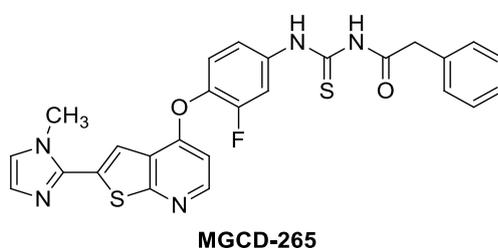
Em geral, os autores perceberam que as hexa-hidrocicloocta[*b*]tieno[3,2-*e*]piridinas (**XXV**) foram as séries mais ativas de compostos com atividade crescente observada à medida que anéis de cicloalquila maiores foram fundidos ao anel de piridina. Estes resultados mostram que outras modificações nas estruturas de tienopiridina, em particular alterando o anel fundido com piridina, levaram à citotoxicidade melhorada e mostram que são locais para investigações adicionais nesta classe de composto. Os baixos valores de IC₅₀ em linhagens celulares selecionadas, juntamente com a tolerância em estudos de toxicidade em animais, mostram as tienopiridinas como uma classe promissora de novos agentes antiproliferativos.³¹

Esquema 6



Outra tienopiridina de elevado interesse farmacológico é a estrutura de **MGCD-265** (Figura 7), que se caracteriza por ser uma pequena molécula altamente potente, disponível oralmente, projetada para inibir diversas enzimas alvo potencialmente relevantes para a iniciação, progressão, metástase e tratamento de uma variedade de cânceres humanos, sendo este um agente antitumoral promissor. Diversos experimentos farmacodinâmicos pré-clínicos demonstraram que esta possui potente inibição do crescimento do tumor em vários modelos de xenoenxerto humano em camundongos e também possui também elevada inibição frente ao crescimento de células tumorais com valores de IC_{50} de 1-4 nM.³²

Figura 7 – Estrutura da promissora tienopiridina antitumoral MGCD-265



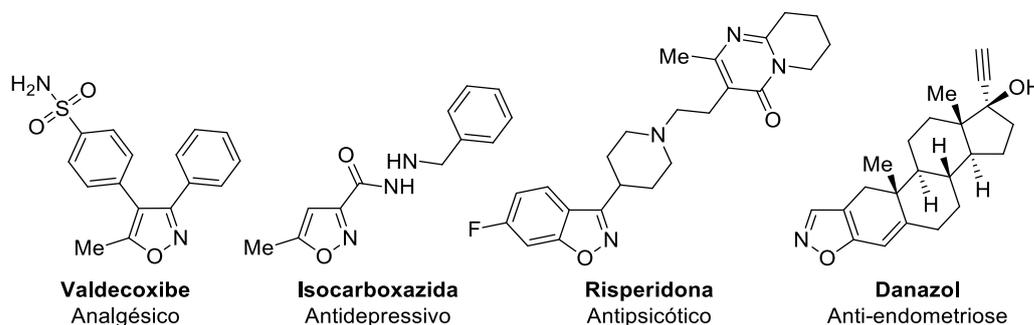
2.2 ISOXAZÓIS DERIVADOS

Os isoxazóis são sistemas heterocíclicos aromáticos, que consistem em um anel heterocíclico de cinco membros contendo um átomo de oxigênio adjacente ao nitrogênio.¹⁴

O termo “monoazol” foi sugerido inicialmente por Claisen, para um anel heterocíclico de cinco membros com a fórmula molecular C_3H_3NO ,¹⁴ aos quais, os termos "isoxazol"(1,2-oxazol) e "oxazol"(1,3-oxazol) foram dados posteriormente à classe de *N, O*-heterociclos aromáticos de 5 membros, por Hantzsch.¹⁵

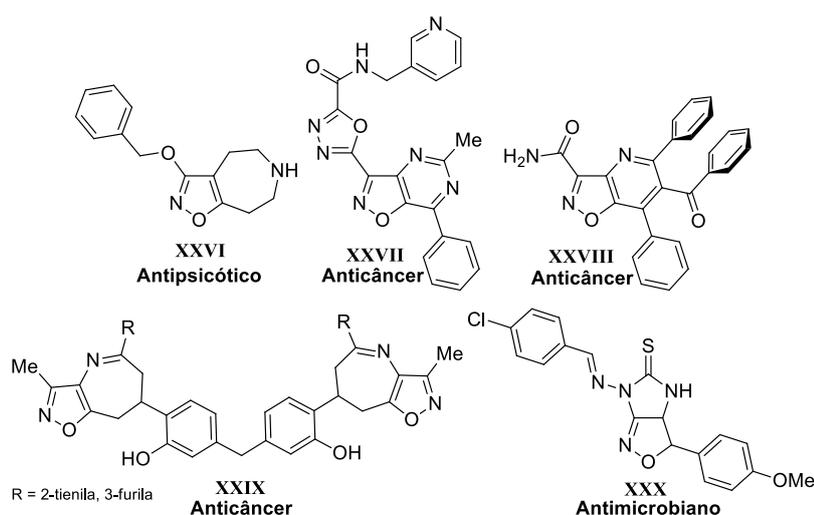
Isoxazóis têm sido relatados em uma série de compostos bioativos, com aplicação a diferentes categorias com diversas atividades terapêuticas, biológicas e medicinais.¹⁴ Compostos contendo este núcleo heterocíclico abrangem um amplo domínio de atividades farmacológicas, como antibacteriana, antiparasitária, antifúngica, antidiabética, anticancerígena, antituberculose, antiviral, antiinflamatório, etc., podendo desta forma serem utilizados na indústria farmacêutica para sintetizar vários medicamentos, como Valdecoxibe (analgésico), Isocarboxazida (antidepressivo), Risperidona (antipsicótico), Danazol (Anti-endometriose) (Figura 8).^{14,15,33}

Figura 8 – Medicamentos derivados de isoxazóis disponíveis comercialmente.



Desta forma diversos estudos sobre a obtenção de novos compostos contendo propriedades farmacológicas têm sido realizados, e um exemplo se dá através da ligação entre o anel isoxazolinico e outros farmacóforos, cujos heterociclos fundidos à porção isoxazol têm apresentado atividades biológicas diversificadas, como anticancerígenas, anti-Alzheimer, antimicrobianas, antiepilépticas, anti-inflamatórias, antivirais, anticonvulsivantes e antituberculares (Figura 9). Assim, os compostos isoxazolinicos fundidos, podem ser usados como uma classe promissora para a concepção e desenvolvimento de novos compostos de interesse biológico.^{14,15}

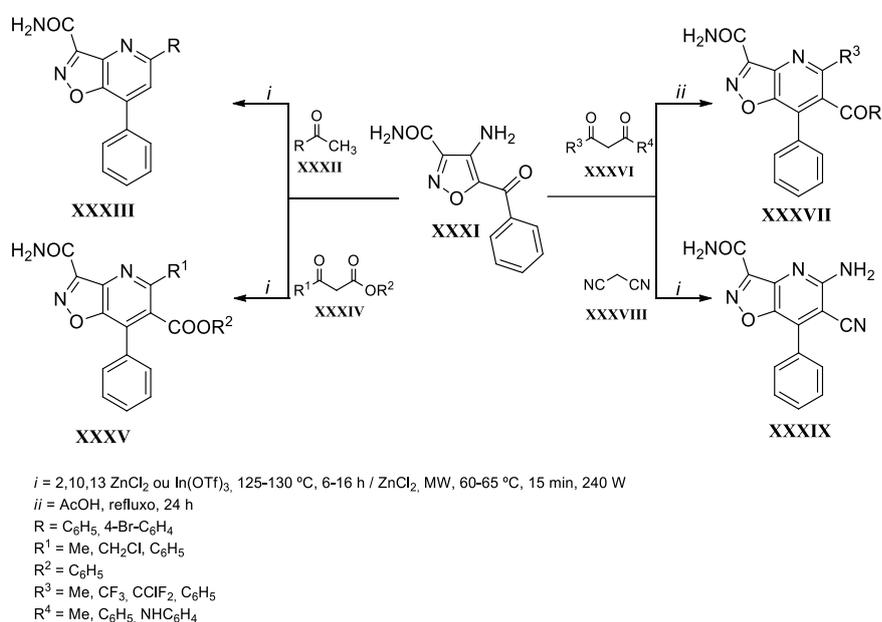
Figura 9 – Derivados isoxazolinicos conjugados com outros heterociclos farmacóforos e suas diferentes bioatividades.



Com base nesses fatos e na importância da pesquisa de derivados isoxazolinicos, diversos estudos sobre a relação estrutura-atividade têm sido realizados e os resultados demonstram a

necessidade de projetar e sintetizar novos compostos contendo propriedades farmacológicas, e um exemplo se dá através da união destes compostos com o anel piridínico (Esquema 7). Partindo destes motivos, o trabalho desenvolvido por Poręba e col.³⁴ descreve a obtenção através da utilização de reações via aquecimento convencional e por irradiação de micro-ondas, aplicando $ZnCl_2$ e $In(OTf)_3$ como ácidos de Lewis para a síntese de novos derivados de isoxazolo[4,5-*b*]piridinas, pela condensação de Friedländer e estudos biológicos preliminares investigando sua atividade antiproliferativa *in vitro* (Esquema 7).

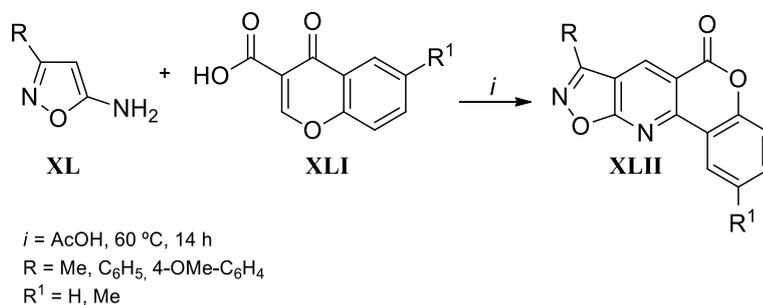
Esquema 7



Entre os compostos desenvolvidos pelos autores, apenas o contendo o substituinte 6-benzoil-5,7-difenilisoxazolo[4,5-*b*]piridina-3-carboxamida (**XXXVII**) preencheu os critérios de atividade biológica aceitável, sendo aquele que demonstrou o maior efeito citotóxico *in vitro* contra linhagens celulares de câncer de cólon, podendo assim ser selecionados para estudos *in vitro* mais avançados, usando diferentes linhagens de câncer humano de origem tecidual, e sua futura aplicação *in vivo*.³⁴

Ainda, utilizando uma diferente abordagem, Miliutina e col.³⁵ decidiram avaliar isoxazolo[5,4-*b*]piridinas (**XLI**) derivadas de cumarinas quanto ao potencial inibitório da ecto-5'-nucleotidase (e5'NT) e também suas propriedades de absorção e fluorescência, devido as suas aplicações potenciais em imagens de células vivas (Esquema 8).

Esquema 8



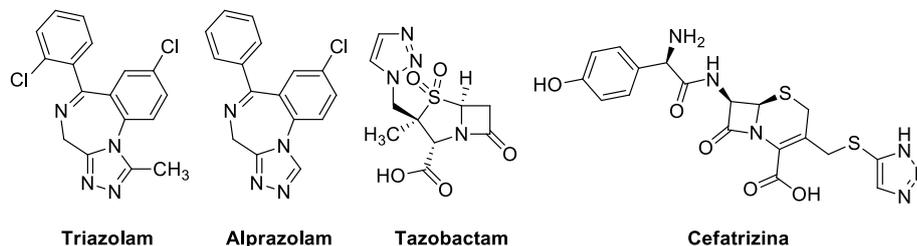
Neste estudo, foi percebido que os compostos investigados exibem fluorescência moderadamente forte e que alguns dos derivados sintetizados apresentaram forte atividade inibitória para ecto-5'-nucleotidasas h-e5'NT e r-e5'NT, respectivamente, cuja relação estrutura-atividade foi explicada com base em estudos de *docking molecular*.³⁵

2.3 1,2,3-TRIAZÓIS DERIVADOS

Os triazóis consistem em anéis heterocíclicos de cinco membros com três átomos de nitrogênio substituindo o carbono, podendo existir em duas formas, nomeadamente 1,2,4-triazol e 1,2,3-triazol, dos quais, os 1,2,3-triazóis substituídos de destacam por possuírem diversas metodologias sintéticas para o acesso regioselectivo em 1,4 e 1,5.^{16,36}

Os triazóis constituem uma classe importante de heterociclos devido às suas diversas atividades biológicas e fotofísicas.^{7,16,37} A partir da década de 1980, fármacos à base de triazol se difundiram e tiveram grande relevância, onde medicamentos como triazolam, alprazolam, tazobactam, cefatrizina e carboxiamidotriazol (Figura 10),^{7,16} iniciaram a ser amplamente comercializados, desta forma o desenvolvimento e a síntese de derivados de triazóis tem sido amplamente abordada, devido às suas diversas aplicações na química medicinal,¹⁶ estando presentes em uma grande variedade de moléculas bioativas como antifúngicos, agentes anti-inflamatórios, antibacterianos, anti-HIV e antituberculosos.⁷

Figura 10 – Heterociclos contendo triazóis com propriedades farmacológicas



Além disso, derivados triazolínicos demonstram aplicações como fluoróforos de baixo peso molecular, pois seu núcleo heterocíclico é um bloco de construção popular em aplicações de medicina, bioquímica e química de materiais, sendo utilizado como branqueadores ópticos, estabilizadores de luz, branqueadores fluorescentes, sensores e agentes retardadores de corrosão.^{37,38}

Outra característica ao qual os 1,2,3-triazóis é a sua utilização como ligantes ou espaçadores adequados em sistemas biológicos, por estes apresentarem elevada estabilidade à degradação metabólica e serem capazes de realizar ligações de hidrogênio ou ligação covalente a alvos de diversas biomoléculas.³⁸

A ampla disponibilidade de compostos iniciais, procedimentos sintéticos seguros, elevado rendimento e purificação simples dão a este método vantagens distintas sobre outros sistemas. Além disso, os métodos se mostram versáteis para a obtenção destes, pois tem-se a possibilidade de serem utilizados vários grupos funcionais e poderem ser introduzidos diferentes substituintes, atribuindo assim uma capacidade de ajustar facilmente o sistema de conjugação e estrutura eletrônica molecular, o que facilita a expansão e o ajuste das propriedades ópticas e físicas para aplicações práticas.³⁸

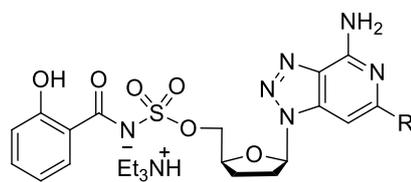
Várias subcategorias dos derivados de triazolínicos substituídos foram relatados entre as quais destacam-se triazolonas, triazolionas, triazóis fundidos, triazolonas fundidas, dentre outras.¹⁶ Além disso, as relações estrutura-atividade indicam que estas técnicas de hibridização reduzem os efeitos colaterais adversos e aumentam a seletividade, quando aplicados em sistemas biológicos,⁷ podendo existir diversos protocolos sintéticos relatados na literatura para a síntese dos mesmos.¹⁶

No entanto, no estudo de produtos farmacêuticos e agroquímicos, a introdução de um anel piridil em um composto original pode melhorar as propriedades e atividades biológicas dos compostos, e muitos compostos contendo o núcleo piridina também são conhecidos por

possuírem uma ampla gama de atividades biológicas e farmacológicas, bem como baixa toxicidade para mamíferos.³⁹

Como exemplo, trabalhos desenvolvidos por Aldrich e col.⁴⁰⁻⁴² estudaram a taxa de absorção específica (SAR) em análogos de 5'-O-[N-(salicyl)sulfamoil]adenosina (Sal-AMS). Os autores descreveram a síntese e a avaliação de diversos compostos isómeros contendo o núcleo base 8-aza-3-deazaadenina substituído, na avaliação da inibição enzimática e da atividade antituberculose (**XLII**, Figura 11). Nestes estudos, os compostos demonstraram várias vantagens frente a outros nucleosídeos de purina análogos, como propriedades fluorescentes melhoradas e elevada estabilidade à degradação de ciclonucleosídeos.⁴⁰⁻⁴² Os compostos desenvolvidos nestes estudos demonstraram menor atividade biológica quando comparados ao Sal-AMS, o que sugere que as 8-aza-3-deazaadenosinas não possuem uma boa interação com as proteínas que utilizam adenosina trifosfato (ATP), fato este explorado pelos autores para minimizar a toxicidade potencial fora do alvo;⁴² mas devido à alta estabilidade e boas propriedades fluorescentes, esses compostos ainda podem ser usados para avaliar o acúmulo e localização de micobactérias.⁴²

Figura 11 – 1,2,3-triazolopiridinas análogos da Sal-AMS com potencial inibição enzimática e atividade antitubercular



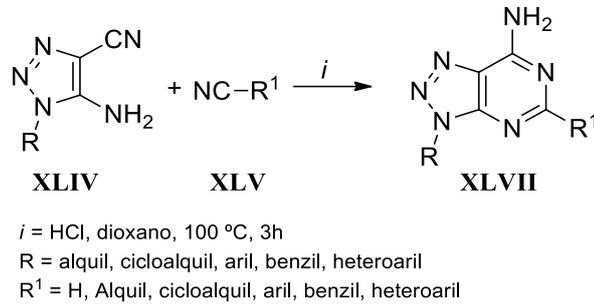
XLIII

R = C₆H₅, 4-Me-C₆H₄, 4-F-C₆H₄, 4-CF₃-C₆H₄, C₁₀H₇, 6-OMe-C₁₀H₆

Derivados de 1,2,3-triazolo-pirimidinas e 1,2,3-triazolo-pirimidinonas (azaguaninas) têm atraído o interesse devido à sua similaridade estrutural com guaninas, cujos derivados exibem boas atividades farmacêuticas, como atividades fungicidas, inseticida, antituberculosa, antiviral e anti-HIV.³⁹

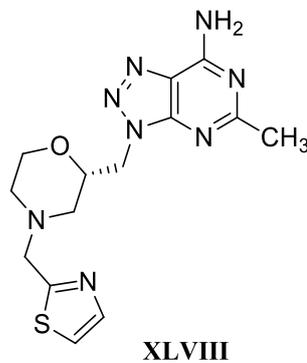
Um estudo contendo diferentes triazolopirimidinas foi desenvolvido por DeNinno e col.⁴³ (**XLVII**, Esquema 9), onde cerca de trinta análogos foram preparados e otimizados estruturalmente quanto à potência, seletividade e propriedades de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME), frente à enzima fosfodiesterase.

Esquema 9



Este sistema foi selecionado pois possui baixo peso molecular e três posições de derivatização (dois substituintes R e R¹ e um grupo amino passível à reações) com os quais os autores poderiam modular a potência, seletividade e propriedades ADME, através de diferentes substituintes. A substituição no heterociclo pirimidínico foi o fato que demonstrou maior tolerância pela enzima, porém não proporcionou benefício adicional, além do que poderia ser alcançado com pequenos substituintes alquila. De modo a contornar esta deficiência e permitir que uma maior diversidade de análogos fosse obtida, os autores utilizaram um protocolo de obtenção de outros derivados a partir de 2-amino-triazol-carbonitrilas com outros substituintes. A partir disto os autores chegaram ao composto **XLVIII** (Figura 12), como sendo o análogo da série que exibiu níveis mais elevados de potência e seletividade com boa biodisponibilidade para uso oral em ratos e cães, cujo composto passou para o desenvolvimento pré-clínico, porém foi interrompido devido a efeitos hemodinâmicos significativos em cães.⁴³

Figura 12 – 1,2,3-Triazolopirimidina com mais elevado nível de potência e seletividade em desenvolvimento pré-clínico para inibição da enzima fosfodiesterase



2.4 TACRINA: HISTÓRICO E MODIFICAÇÕES ESTRUTURAIS

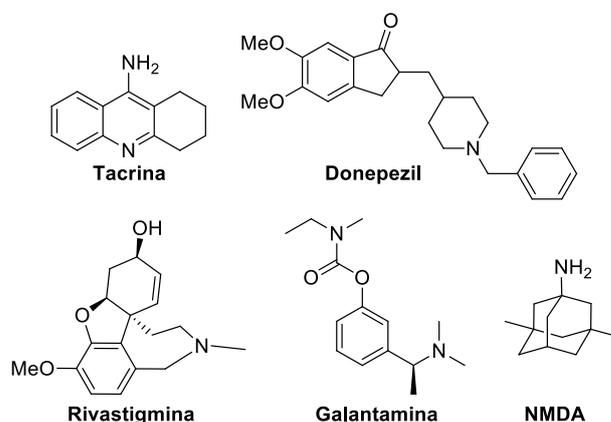
A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa relacionado à idade, resultando em declínio nas habilidades de linguagem, perda de memória e funções cognitivas e acompanhado de depressão e distúrbios comportamentais.^{17-19,44}

A deficiência de acetilcolina sináptica (ACh) é considerada uma das principais patogêneses da DA, sendo que a ACh é degradada pelas acetilcolinesterases (AChEs). Desta forma, a inibição da AChE tem sido a estratégia mais convencional para o tratamento clínico da DA,¹⁷ do mesmo modo que a inibição da butirilcolinesterase (BChE), pois ambas são responsáveis por afetarem a neurotransmissão colinérgica.^{17,19,44} Ao se aumentar os níveis de ACh no cérebro por meio da inibição dessas enzimas, é possível reduzir o declínio cognitivo, porém ainda não permitindo a recuperação ou interrupção da progressão desta doença.³

Atualmente, não existe um tratamento eficaz que permita a recuperação ou mesmo retarde a progressão da DA e os tratamentos clínicos têm apenas efeitos paliativos. Tais tratamentos incluem inibidores das AChEs, sendo divididos em quatro categorias químicas diferentes de inibidores da AChE em uso atualmente ou em ensaios clínicos. As substâncias usadas para isso incluem aminopiridinas, organofosfatos, carbamatos e outros.^{18,45}

O tratamento com inibidores das AChEs, tem-se empregado: tacrina, donepezil, rivastigmina, galantamina e memantina (a antagonista do receptor do ácido *N*-metil-D-aspártico, NMDA) (Figura 13). Esses inibidores restauram os déficits de neurotransmissores que são os responsáveis pela fase sintomática da doença após o início do processo neurodegenerativo, ou seja, déficits cognitivos, funcionais e neuropsiquiátricos.¹⁸

Figura 13 – Compostos aprovados para o tratamento da DA¹⁸



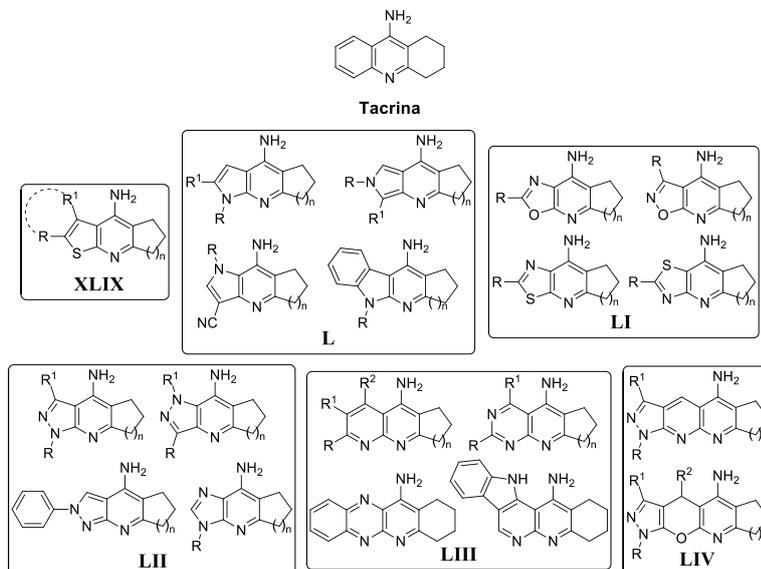
A tacrina (9-amino-1,2,3,4-tetra-hidroacridina ou THA) é um inibidor reversível da AChE e BChE, tendo esta demonstrado um perfil farmacológico muito mais amplo do que apenas a inibição da AChE.^{19,46} A THA foi o primeiro inibidor potente e clinicamente eficaz da AChE aprovado pelo FDA em 1993 para o tratamento da DA, no entanto, devido à sua hepatotoxicidade, esta droga foi logo retirada do mercado farmacêutico em 1998.^{18,19}

Devido à boa atividade anti-AChE, baixo peso molecular (MW: 198 g/mol, menor do que outros AChEIs aprovados), potencial atenuante da neurotoxicidade, elevada acessibilidade sintética e possibilidade de modificação estrutural, a THA tornou-se um tópico de pesquisa e muitos esforços têm se concentrado na síntese de derivados da THA para o tratamento da DA,¹⁷⁻¹⁹ uma vez que esta substância possui uma boa resistência para possíveis modificações estruturais, sendo este um composto interessante para o desenvolvimento de novas estruturas multifuncionais, com possíveis efeitos terapêuticos, com menor ou nenhuma hepatotoxicidade, de modo a atuar em múltiplos alvos neurais e bioquímicos os efeitos de comprometimento cognitivo, disfunção motora, depressão e neurodegeneração^{17,20}

Com o objetivo de aumentar a eficácia ou melhorar a segurança em relação aos medicamentos que abordam apenas um único alvo,^{18,47} pesquisas visam o desenvolvimento, síntese e avaliação de novas moléculas com efeitos benéficos no tratamento da DA. Desta forma, inibidores da AChE e compostos com propriedades anti-inflamatórias, planejados estruturalmente com base na relação bioisostérica de novos análogos da THA, tem aumentado a eficácia dos medicamentos e a redução de seus efeitos colaterais adversos.^{17,47}

Assim, a modificação da estrutura central da THA tem sido frequentemente usada para encontrar novos compostos com alta potência anticolinesterase e segurança tóxica aceitável. Várias modificações dizem respeito ao anel de benzênico na THA, as quais, tem realizado um aumento do número de anéis condensados, modificação de seu tamanho e a introdução de heteroátomos,⁴⁸ substituindo ou anulando efeitos com diferentes sistemas heterocíclicos.^{18,19,46} Por exemplo, diversos análogos de THA, conjugados com heterociclos como tiofenos (**XLIX**)⁴⁹⁻⁵¹, pirróis e indóis (**L**),⁵²⁻⁵⁴ oxazóis, isoxazóis e tiazóis (**LI**),⁵⁵⁻⁶¹ pirazóis e imidazóis (**LII**),^{59,62-65} piridinas, pirimidinas, quinoxalinas e indolopiridinas (**LIII**),⁶⁶⁻⁷³ e pirazolopiridinas e pirazolopiranos (**LIV**)^{62,63,74,75} derivados foram relatados como inibidores de AChE multi-direcionados para uso no tratamento da DA (Figura 14).¹⁹

Figura 14 – Estruturas análogas à tacrina com diferentes sistemas heterocíclicos

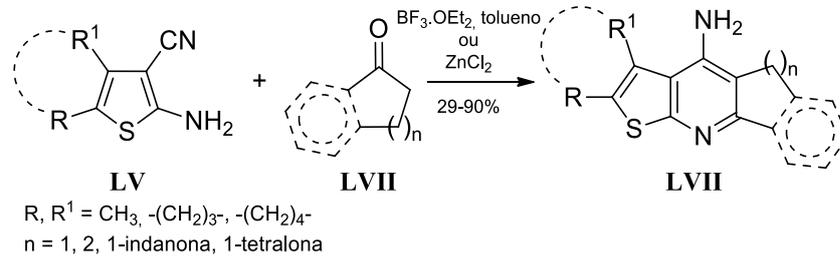


Desta forma, com o intuito de investigar a obtenção de inibidores da AChE e BChE mais potentes e seletivos, trabalhos tem sido direcionados para novos análogos de THA, modificando o anel benzênico, incorporando um sistema aromático de cinco membros.^{49-51,76,77}

Uma opção que tem sido aplicada é a substituição exploratória em drogas bem-sucedidas do anel de benzeno pela porção tiofeno, para a obtenção de tienopiridinas, que é amplamente reconhecida como bioisótero do anel quinolínico na THA. Esta tem sido uma estratégia no desenvolvimento de novas drogas, devido às suas interessantes atividades biológicas exibidas em uma ampla gama de classes terapêuticas, potencial inibitório da AChE.^{49,50,77} Desta forma, trabalhos substituindo o anel de benzeno na THA pelo anel tiofênico e isoxazolínico visa investigar os efeitos biológicos dessas modificações estruturais da THA.^{49,58}

Resultados obtidos por em 2010 por Badran e col.⁵¹ demonstraram atividade significativa para compostos derivados de tienopiridinas (**LVII**) em comparação com a THA, cujos resultados *docking molecular* revelaram que eles possuem interações comparáveis às da THA porém com melhor atividade biológica (Figura 15).⁵¹

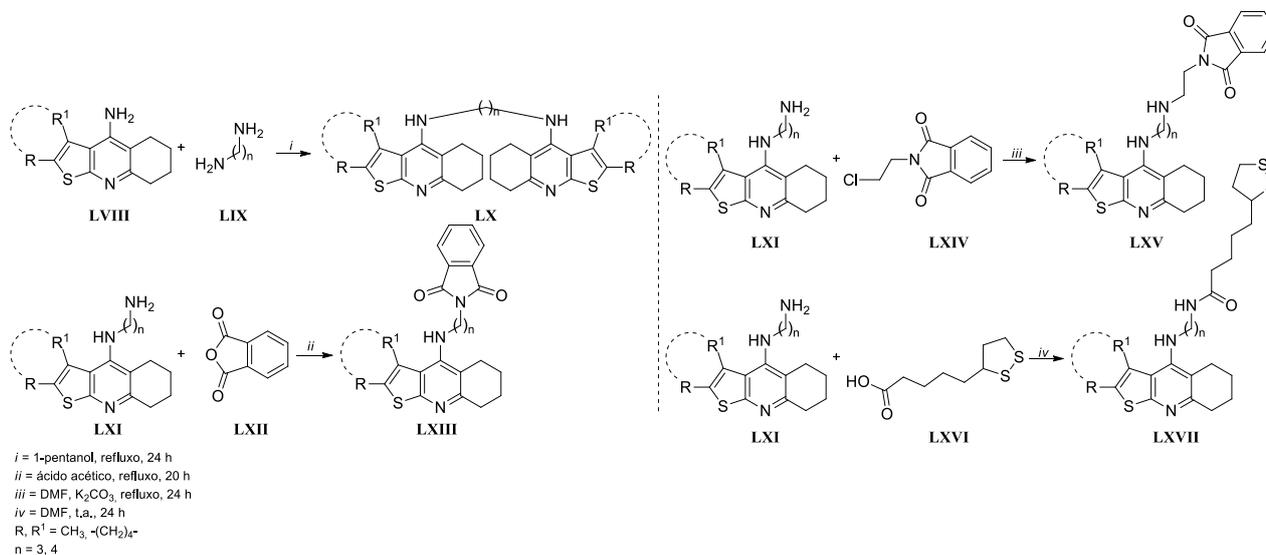
Figura 15 – Tienopiridinas análogas à THA com atividade inibitória de AChE



Composto		Inibição (%)
R, R ¹	n	
Controle		0
Tacrina		60,12
CH₃	1	35,86
	2	32,84
-(CH₂)₃-	1	53,13
	2	39,84
-(CH₂)₄-	1	15,62
	2	32,87
CH₃	1-indanona	31,17
	1-tetralona	34,38
-(CH₂)₃-	1-indanona	21,86

Em 2013, Badran e col.⁴⁹, demonstraram uma série de compostos contendo tienopiridina análogos da THA (**LX**, **LXIII**, **LXV** e **LXVII**), aplicando uma estratégia para a obtenção de moléculas híbridas baseada em diferentes farmacóforos. Neste estudo os resultados demonstraram que tais compostos possuíam atividade significativa em comparação com a THA; com uma atividade inibitória de boa a moderada (Figura 16).⁴⁹

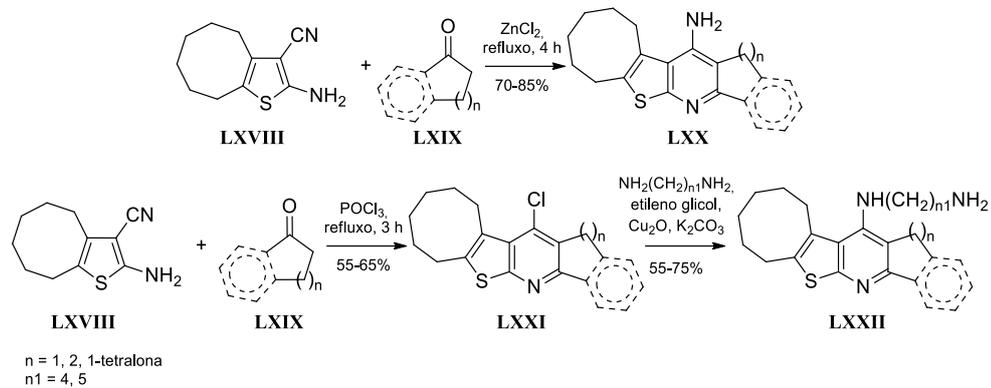
Figura 16 – Derivatizações em tienopiridinas análogas à THA com atividade inibitória de AChE



Composto		NR	Inibição (%)
R, R ¹	n		
		Controle	0
		Tacrina	54,91
CH₃	3	-	25,15
-(CH₂)₄	4	-	41,53
CH₃	3		46,20
	4	2-N-isoindolina-1,3-diona	55,56
	3		42,69
-(CH₂)₄	4		29,83
	3	2-(2-(N-amino)etil)isoindolina-1,3-diona	43,86
CH₃	4		45,03
	4	5-(1,2-ditiolan-3-il)-N-pentanamida	42,86
-(CH₂)₄	3		56,73
	4		21,41

Em 2019, El-Malah e col.⁵⁰ projetaram e sintetizaram novos análogos de THA derivados de tienopiridinas (**LXX** e **LXXII**), onde alguns dos compostos exibiram o perfil de inibição de acetilcolinesterase *in vivo* promissores e foram submetidos à determinação de IC_{50} *in vitro*. Destes, o composto derivado da 1-tetralona e a alquílica diamina com 4 átomos de carbono apresentou o melhor perfil com IC_{50} de cerca de 172 nM, sendo este derivado um composto potencial para o tratamento da DA (Figura 17).⁵⁰

Figura 17 – Tienopiridinas análogas à THA com atividade inibitória de AChE



Triagem *in vivo* para a inibição (%) da atividade da acetilcolinestrerase (AChE) pelos compostos recentemente sintetizados.

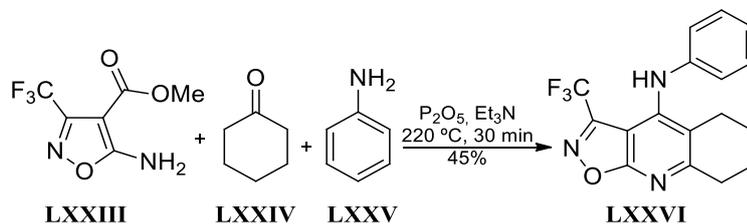
Composto		AChE (U/g)	Inibição (%)
n	n1		
Controle		1348,95±100,40	0
1		909,10±100,20	32,60
2	NH₂	1079,16±43,89	20,00
1-tetralona		1665,66±43,89	-23,48
1	4	1255,11±150,22	6,96
	5	1360,68±141,73	-0,87
2	4	1208,19±119,62	10,43
	5	1243,38±108,78	7,83
1-tetralona	4	1020,51±35,19	24,35
	5	1173,00±123,02	12,04

Atividade inibidora da acetilcolinestrerase (AChE) *in vitro* para os compostos expressa como valores de IC₅₀ e em comparação com a Tacrina como uma droga padrão

Composto		IC ₅₀ (nM) de inibição de AChE
n	n1	
1	NH₂	278,09±9,31
2		2541,96±87,10
1-tetralona	4	172,14±4,88
	5	196,83±7,22
Controle		67,63±2,76

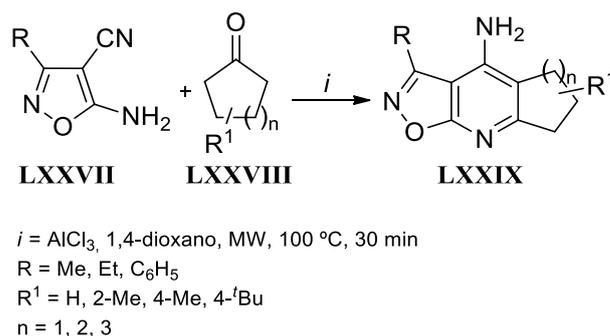
Tanaka e col.⁷⁸ avaliaram a estabilidade de isoxazoloazinas (**LXXIII**), na construção de isoxazolo[5,4-*b*]piridinas (**LXXVI**) contendo o grupo trifluormetila em sua estrutura, frente à misturas de pentóxido de fósforo e aminas, ao qual esperava-se que os isoxazóis fossem sensíveis a essas condições de reação, porém foi demonstrado que estes reagentes se mostraram úteis para a preparação dos compostos de interesse (Esquema 10).

Esquema 10



O trabalho desenvolvido por Cherif e col.,⁵⁸ por sua vez, desenvolveu isoxazotacrinas (**LXXIX**), visando a construção, avaliação biológica e o efeito da solubilidade dessas tacrinas, para a obtenção de resultados confiáveis e satisfatórios (Esquema 11).

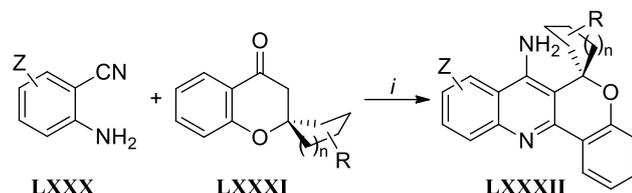
Esquema 11



Como resultado deste trabalho os autores identificaram o composto 3-fenil-5,6,7,8-tetrahydroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina como um análogo de tacrina não tóxico para células HepG2, com uma capacidade moderada e seletiva de inibição da butirilcolinesterase humana (hBChE). Com este estudo, percebeu-se também que os análogos de tacrina substituídos pelo substituinte R = C₆H₅, foram os que se mostraram menos tóxicos em relação à tacrina, mostrando uma atividade anti-butilcolinesterásica boa e seletiva, com valores de IC₅₀ na faixa de μM, resultando em uma droga promissora para desenvolvimentos futuros.⁵⁸

O grupo NUQUIMHE, por sua vez, através de diversos trabalhos desenvolvidos por Silva e col.²³⁻²⁷ obtiveram diferentes compostos análogos à tacrina (**LXXXII**). Nestes estudos, um núcleo base 7-amino-espiro[cromeno[4,3-*b*]quinolina-6,1'-cicloalcanos] foi obtido a partir de espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**LXXI**) em reações com 2-amino-benzonitrilas (**LXXX**) na presença de catálise ácida, com rendimentos de 30-65 % (Esquema 12).

Esquema 12

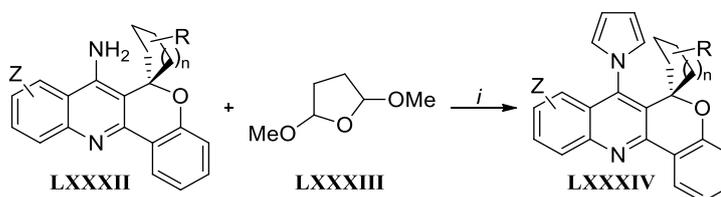


$i = (1) \text{ AlCl}_3, 110^\circ\text{C}, 24 \text{ h}; (2) \text{ NaOH } 2 \text{ M}, 110^\circ\text{C}, 24 \text{ h}.$
 $Z = \text{H}, 9\text{-Br}, 9\text{-Cl}, 10\text{-Cl}$
 $n = 1, 2, 3, 3(2\text{'-Me}), 3(3\text{'-Me}), 3(4\text{'-Me}), 3(4\text{'-tBu})$

Com base no estudo de *docking molecular* e nos ensaios *in vitro* de inibição da AChE para os compostos **LXXXII**, verificou-se que a atividade sobre a AChE diminuiu com o aumento do tamanho do ciclo da porção espirocarbocíclica, provavelmente devido ao efeito estérico do anel carbocíclico, conforme foi demonstrado pelos autores nos ensaios de interação com os resíduos de Tyr130 e Gly118 da enzima.^{23,26} Adicionalmente a presença de um átomo de cloro ou bromo nas posições 9 e 10 dos compostos não apresentaram um aumento no potencial anti-AChE desses compostos.²⁶

Como derivatização dos sistemas 7-amino-espiro[chromeno[4,3-*b*]quinolina-6,1'-cicloalcanos] (**LXXXII**) análogos à THA e visando explorar a baixa reatividade do grupo amino ligado a um sistema pentacíclico, foram realizadas reações do tipo Clauson-Kaas, para a formação de novos pirróis derivados (**LXXXIV**, Esquema 13).

Esquema 13

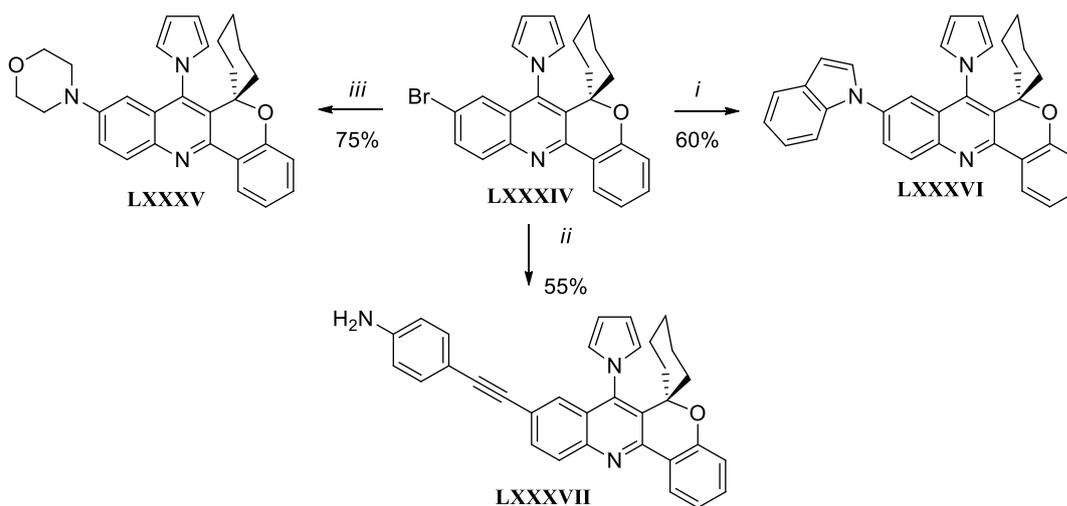


$i = \text{CH}_3\text{COOH} (7 \text{ mL}), 90^\circ\text{C}, 48 \text{ h}.$
 $Z = \text{H}, 9\text{-Br}, 9\text{-Cl}, 10\text{-Cl}$
 $n = 1, 2, 3, 3(4\text{'-tBu})$

Este método útil permitiu a síntese de uma nova série de 11 exemplos de estruturas espirohexacíclicas, cujo sistema contendo o átomo de bromo na posição 9 também demonstrou ser útil para o uso em reações de acoplamento cruzado CC e CN, fornecendo análogos de tacrina com propriedades fotofísicas interessantes devido aos efeitos eletrônicos dos novos

substituintes inseridos (**LXXXV-LXXXVII**), quando comparados com seus respectivos precursores (**LXXXIV**), demonstrando altos rendimentos quânticos de fluorescência (em solução) e moderados a altos deslocamentos de Stokes (Esquema 14).

Esquema 14



i = CuI (10 mol%), K₃PO₄ (3 equiv.), 1*H*-indol (1,4 equiv.), tolueno (6 mL/equiv.), DMEDA (20 mol%), 110 °C, 12 h

ii = Pd(OAc)₂ (2mol%), PPh₃ (6 mol%), CuI (2 mol%), DMF (3 mL/equiv.), fenilacetileno (3,2 equiv.), e Et₃N (7,2 equiv.), 110 °C, 8 h.

iii = Pd(OAc)₂ (2 mol%), XPhos (4 mol%), and NaO^tBu (3 equiv.), tolueno (6 mL/equiv.), morfolina (3 equiv.), 100 °C, 12 h

3 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

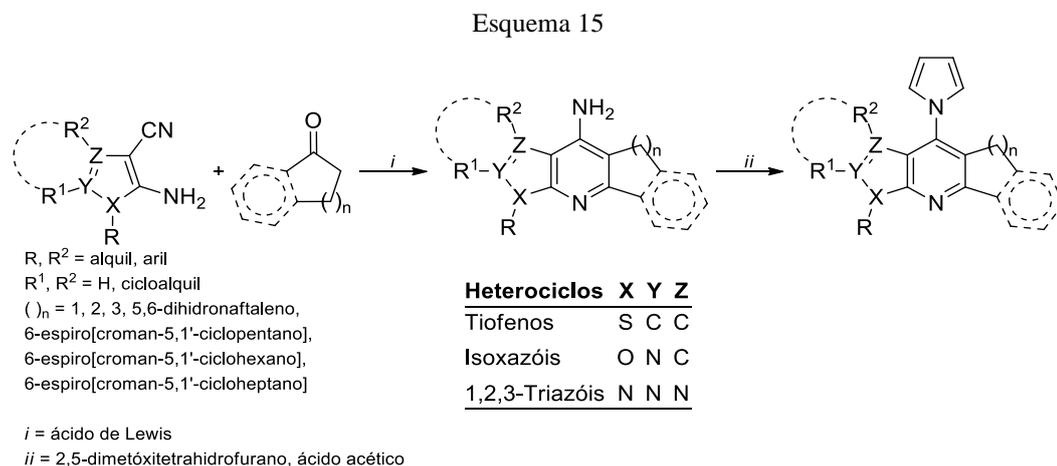
Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados pertinentes aos processos sintéticos propostos para esta tese, a numeração e nomenclatura dos compostos sintetizados, assim como, as rotas sintéticas propostas e desenvolvidas, incluindo a discussão da otimização das condições reacionais, a purificação dos produtos, a elucidação estrutural e identificação dos compostos isolados por técnicas espectroscópicas e espectrométricas, e os mecanismos propostos para a formação dos produtos.

Para a realização desta tese foram selecionados inicialmente três sistemas heterocíclicos de cinco membros, denominados, tiofeno-, isoxazol- e triazol-amino carbonitrilas, como blocos precursores para a síntese dos compostos análogos à tacrina. Desta forma, a apresentação dos compostos será realizada demonstrando os resultados obtidos para cada um dos blocos heterocíclicos selecionados.

Em cada seção referente ao sistema heterocíclico correspondente, será apresentada a síntese dos precursores referentes ao objetivo de interesse, assim como os dados espectrométricos e espectroscópicos de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C , ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC, Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS) e de difração de raios-X em monocristal, aos quais serão apresentados e discutidos.

Em sequência, em um capítulo único, serão abordados os resultados pertinentes à derivatização dos sistemas híbridos e análogos da tacrina, em reações envolvendo a formação de pirróis, cujas características espectrométricas e espectroscópicas também serão apresentadas e discutidas.

No Esquema 15 está representado a rota sintética adotada nesta tese.



3.1 NOMENCLATURA E NUMERAÇÃO DOS COMPOSTOS

As nomenclaturas adotadas para os compostos sintetizados seguiram as normas da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC). Na Tabela 1, estão representadas as estruturas, numeração dos compostos sintetizados, ao qual, optou-se por apresentar a nomenclatura através de exemplos representativos das séries já obtidas. As respectivas nomenclaturas, na sua forma individualizada e integral, estão apresentadas na parte experimental desta tese.

Tabela 1 – Exemplo de nomenclatura das séries sintetizadas

(continua)

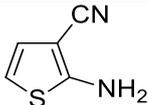
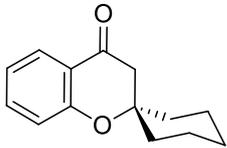
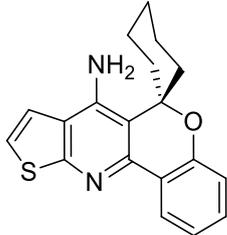
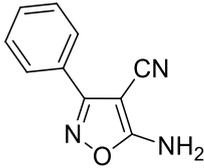
Representante da Série	Nome (IUPAC)
 <p>3</p>	2-aminotiofeno-3-carbonitrila
 <p>7a</p>	espiro[croman-2,1'-ciclohexan]-4-ona
 <p>8ba</p>	espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina
 <p>10a</p>	5-amino-3-fenil-isoxazol-4-carbonitrila

Tabela 1 – Exemplo de nomenclatura das séries sintetizadas

(continuação)

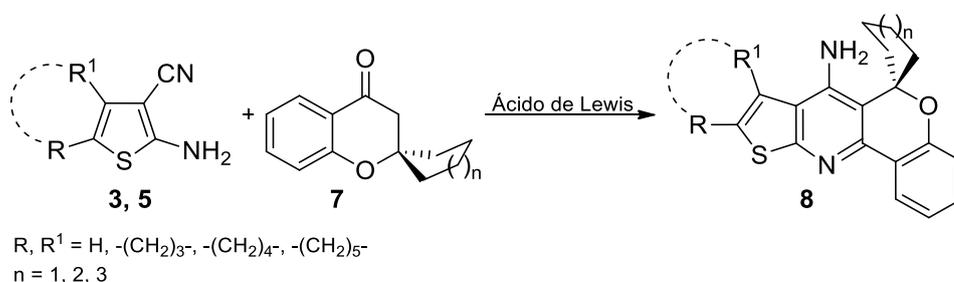
	3- fenil-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4- <i>b</i>]quinolin-4- amina
11ab	
	5-amino-1-benzil-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-carbonitrila
15a	
	3-benzil-5,6,7,8-tetrahidro-3 <i>H</i> -[1,2,3]triazolo[4,5- <i>b</i>]quinolin-9-amina
16ab	
	7-(1 <i>H</i> -pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3- <i>b</i>]tieno[3,2- <i>e</i>]piridina-6,1'-ciclohexano]
18ab	

3.2 REAÇÕES DE 2-AMINOTIOFENO-3-CARBONITRILAS (3, 5) COM ESPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOALCAN]-4-ONAS (7) NA SÍNTESE DE ESPIRO[CROMENO[4,3-*b*]TIENO[3,2-*e*]PIRIDINA-6,1'-CICLOHEXAN]-7-AMINA (8).

Para a realização do primeiro objetivo deste trabalho e considerando dados já relatados na literatura,¹⁻⁴ em que, as reações entre aminotiofeno-carbonitrilas e cicloalcanonas, permitiram a obtenção e o isolamento de hidrociclo-tieno-quinolinaminas/piridinaminas, o objetivo inicial desta tese, foi avaliar o potencial sintético das 2-aminotiofeno-3-carbonitrilas (3 e 5a-c) frente à diferentes espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (7), visando o isolamento

e elucidação estrutural das espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**) (Esquema 16).

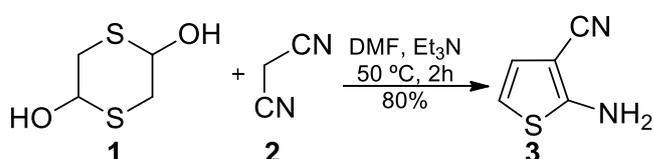
Esquema 16



3.2.1 Síntese de 2-aminotiofeno-3-carbonitrila (**3**)

Em passo reacional inicial, foi sintetizado o precursor 2-aminotiofeno-3-carbonitrila (**3**) conforme descrito na literatura⁷⁹, que consistiu em uma reação envolvendo 2,5-dihidróxi-1,4-ditiana (**1**) e malononitrila (**2**) em quantidades equimolares, utilizando DMF como solvente e Et₃N como base, a uma temperatura de 50 °C por 2 h. O tiofeno **3** foi identificado por ponto de fusão e RMN ¹H, cujo rendimento foi condizente conforme descrito na literatura⁷⁹, para posterior utilização em passo reacional subsequente (Esquema 17).

Esquema 17

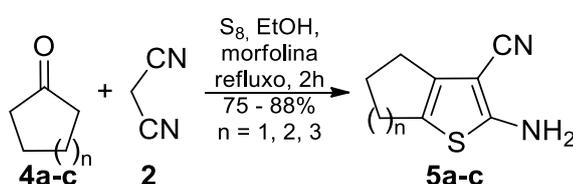


3.2.2 Síntese de 2-amino-cicloalcano[*b*]tienil-3-carbonitrilas (**5a-c**)

Ainda como parte do primeiro objetivo deste trabalho, foram sintetizados os precursores 2-amino-cicloalcano[*b*]tiofeno-3-carbonitrilas **5**, obtidos conforme descrito na literatura.⁸⁰ O procedimento empregou quantidades equimolares de ciclo-alcanonas (**4a-e**) e malononitrila (**2**), os quais foram dissolvidos em etanol absoluto, com adição de 1,1 equivalentes de enxofre

elementar em pó e 1 mL/mmol de morfolina. Para a síntese de **5a-c**, as misturas foram aquecidas a temperatura de refluxo e submetidas a agitação magnética, por 2 horas. Os produtos **5** foram então purificados por recristalização em etanol, com rendimentos de 75 – 88%, os quais foram condizentes com a literatura.⁸⁰ Os compostos **5**, após isolados e purificados, foram identificados por ponto de fusão e RMN ¹H, antes de sua utilização em reações posteriores (Esquema 18).

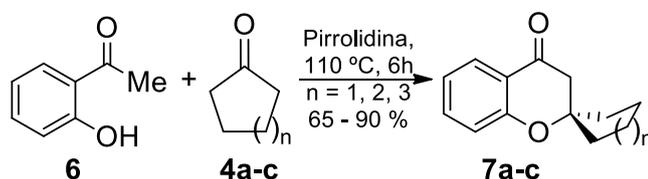
Esquema 18



3.2.3 Síntese de espiro[chroman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7a-c**)

As cetonas precursoras **7a-c**, ou seja, as espiro[chroman-2,1'-cicloalcan]-4-onas, foram sintetizadas conforme já descrito na literatura por Kabbe⁸¹⁻⁸³ e aperfeiçoado pelo grupo NUQUIMHE/UFSM.^{23,84} As reações consistiram em ciclo-condensações promovidas por pirrolidina e envolveram a 2-hidróxi-acetofenona (**6**) e as ciclo-alcanonas (**4a-c**). As condições reacionais utilizadas, bem como os rendimentos obtidos nesta tese, encontram-se representados no Esquema 19.

Esquema 19



As reações de ciclo-condensação foram conduzidas em quantidades de 50 mmol para cada cetona cíclica (**4a-c**) utilizando aquecimento convencional e agitação magnética, mantendo a mistura em 110 °C por 6 horas. Posteriormente o produto foi isolado mediante a uma destilação a pressão reduzida. As espiro-cromanonas (**7a-c**) foram obtidas como óleos amarelos em

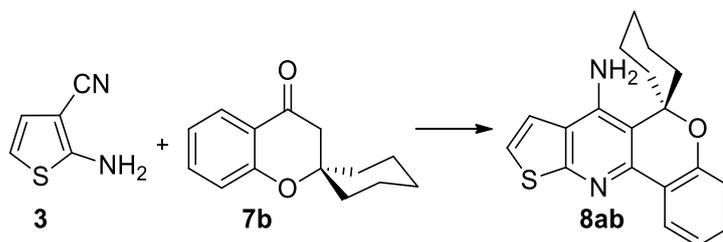
rendimentos semelhantes aos descritos na literatura e identificadas através de seus pontos de ebulição e RMN de ^1H .

3.2.4 Síntese de espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**)

Visando a síntese da série de espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**), de acordo com o primeiro objetivo apresentado nesta tese, descreve-se inicialmente a otimização das condições reacionais, buscando obter-se o melhor rendimento a partir da rota sintética proposta. As espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas foram obtidas através de uma reação de ciclocondensação entre espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7a-c**) e tienil-aminonitrilas (**3**, **5a-c**) na presença de um ácido de Lewis.

Devido à ampla variedade de atividades biológicas que os compostos derivados de tacrinas e hidrociclo-tieno-quinolinaminas/piridinaminas apresentam, a literatura é rica em escopo de métodos sintéticos utilizados para obtê-las^{49-51,76,85}. Desta forma, inicialmente foram utilizados os compostos **3** (R, R¹ = H) e **7a** (n = 2) como materiais de partida, visando estabelecer a melhor condição reacional para a obtenção dos heterociclos híbridos **8**.

Baseando-se em procedimentos experimentais já descritos na literatura^{49-51,76,85}, inicialmente foram realizados testes para uma escolha otimizada do solvente, do ácido de Lewis e da estequiometria mais adequada para esta transformação química (Tabela 2).

Tabela 2 – Otimização das condições reacionais para a síntese dos compostos **8**.

Entrada ^a	3 (mmol)	7b (mmol)	Solvente (mL/mmol)	Ácido de Lewis (mmol)	Rendimento ^b 8ab (%)
1	1	1	-	AlCl ₃ (1)	28
2 ^c	1	1	-	AlCl ₃ (1)	^d
3	1	1	Tolueno (5 mL)	AlCl ₃ (1)	25
4	1	1	Tolueno (0,3 mL)	AlCl ₃ (1)	26
5	1	1	Tolueno (1,2 mL)	AlCl ₃ (1)	15
6	1.2	1	-	AlCl ₃ (1)	18
7	1	1.2	-	AlCl ₃ (1)	11
8	1	1	-	AlCl ₃ (1,2)	11
9	1	1	-	InCl ₃ (1)	6
10	1	1	-	FeCl ₃ (1)	5
11	1	1	-	BF ₃ .OEt ₂ (1)	3
12	1	1	-	ZnCl ₂ (1)	^d
13 ^e	1	1	-	AlCl ₃ (1)	20

^aCondição reacional: (1) 110 °C, 24 h; (2) Sol. aq. NaOH 2M, 110 °C, 24 h. ^bRendimento obtido após purificação via coluna cromatográfica; ^cReação realizada por irradiação de microondas. ^dDegradação dos materiais de partida e obtenção apenas do intermediário não ciclizado; ^e Reação realizada sob atmosfera de argônio.

Inicialmente, com base em trabalhos desenvolvidos por Bonacorso e col.,⁸⁵ foi empregado o uso de uma quantidade equimolar (1 mmol) dos materiais de partida tiofeno-aminonitrila (**3**) e espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-ona (**7b**), assim como, 1 mmol de AlCl₃ como ácido de Lewis e na ausência de qualquer solvente. Estas condições forneceram o composto **8ab** em um rendimento de somente 28%.

Como a literatura descreve a obtenção de estruturas semelhantes usando irradiação de micro-ondas,^{58,86-88} seguimos a mesma relação estequiométrica quando usamos o aquecimento térmico convencional, no tempo de 30 min; a reação foi realizada seguindo as condições

descritas na literatura,⁸⁸ cujos resultados foram insatisfatórios e resultaram na degradação dos materiais de partida e obtenção apenas do intermediário não cíclico (Tabela 2, entrada 2).

Dado o uso generalizado de tolueno como solvente para obter compostos semelhantes aos pretendidos⁵¹, foram realizados testes variando a quantidade de solvente utilizada (Tabela 2, entradas 3-5), visando o aumento de rendimento. Entretanto, tal fato não ocorreu, percebendo-se um decréscimo ou estabilização no valor de rendimento (15-26%). Como a presença de solvente não apresentou um acréscimo no valor de rendimento, decidiu-se avaliar individualmente a estequiometria dos materiais de partida e ácido de Lewis (Tabela 2, entradas 6-8), porém, tais tentativas não mostraram efeitos positivos para a elevação do rendimento.

Foram avaliados ainda diferentes tipos de ácidos de Lewis (AlCl_3 , InCl_3 , FeCl_3 , $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ e ZnCl_2 , Tabela 2, entradas 1 e 8-11, respectivamente) na síntese do composto **8ab**. Entre todos os ácidos de Lewis testados na ausência de solvente, o AlCl_3 foi o que se mostrou mais eficiente na síntese do composto de interesse, com rendimento de 28%. Ainda, considerando a possibilidade da reação entre a umidade do ar com os ácidos de Lewis, avaliou-se a presença de atmosfera de argônio, como fato que poderia ser positivo na elevação de rendimento, porém tal efeito não foi observado (Tabela 2, entrada 13).

Desta forma, estabeleceu-se que a melhor condição reacional para a obtenção dos compostos **8**, foi através da metodologia que emprega quantidades equimolares de tienil-aminonitrila (**3** e **4a-c**), espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7a-c**) e de AlCl_3 , sob agitação e aquecimento de 110 °C por 24 h, seguido da adição de uma solução aquosa de NaOH 2M (6 mL/mmol), por adicionais 24 h à 110 °C. Assim, esta metodologia foi estendida para a obtenção de uma série inédita de doze exemplares para os compostos **8**, variando substituintes R e R¹ e o número de unidades metilênicas (n) da porção espiro-carbocíclica. Os rendimentos, após o isolamento dos produtos, variaram na faixa de 20-33% (Tabela 3).

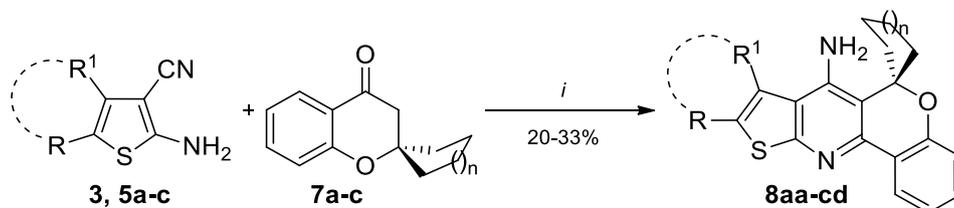
Os baixos valores de rendimento (20–33%) podem ser inicialmente atribuídos à alta complexidade estrutural dos compostos desejados **8**. A literatura não traz valores tão altos para compostos semelhantes contendo a porção espiro (30– 65%).²³ Além disso, quando tiofenos são utilizados para hibridização em sistemas poliheterocíclicos para obter análogos de tacrina, como tetrahidropiridina e dihidroquinolina, também foram relatados baixos valores de rendimentos (62 e 29%, respectivamente).⁸⁹ Assim, apesar dos baixos rendimentos obtidos (20–33%), a variação dos substituintes R e R¹ e do número de unidades metilênicas (n) na porção espirocarbocíclica foram necessárias para o presente estudo avaliar a influência do efeito do substituinte e tamanho das cadeias metilênicas na atividade anti-ChE.

3.2.5 Purificação dos compostos espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**)

Para a purificação os compostos **8**, inicialmente, após transcorrido o tempo reacional, a mistura foi arrefecida até a temperatura ambiente e então extraída com clorofórmio (3 x 25 mL), lavada com água destilada (2 x 50 mL) e com uma solução aquosa de cloreto de sódio saturada (50 mL). A fase orgânica foi então tornada anidra com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, empregando acetato de etila e hexano como eluentes e em proporções que variaram de acordo com o substituinte. As principais impurezas observadas foram a existência de traços dos materiais de partida, produtos de degradação e de intermediários reacionais.

Os compostos resultantes apresentaram-se na forma de sólidos beges, amarelos ou marrons, dependendo do substituinte. Os valores de rendimento, ponto de fusão e características físicas dos compostos obtidos nesta tese, encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**): Características físicas, Pontos de fusão, rendimentos e HRMS.



R, R¹ = H (**3**, **8aa-ca**), -(CH₂)₃- (**5a**, **8ab-cb**), -(CH₂)₄- (**5b**, **8ac-cc**), -(CH₂)₅- (**5c**, **8ad-cd**)
 n = 1 (**7a**, **8aa-ad**), 2 (**7b**, **8ba-bd**), 3 (**7c**, **8ca-cd**)

i = 1) **3**, **5a-c** (1 mmol), **7a-c** (1 mmol), AlCl₃ (1 mmol), 110 °C, 24h; 2) NaOH (6 M, 6mL/mmol), 110 °C, 24h

Composto	R, R ¹	n	Rend. ^a (%)	Característica física	P.F. (°C)	Fórmula Molecular	HRMS
							Cal./Exp. [M+H] ⁺
8aa	H, H	1	20	Sólido marrom	162-166	C ₁₈ H ₁₆ N ₂ OS	309,1056/
							309.1028
8ab	-(CH ₂) ₃ -		24	Sólido bege	184-188	C ₂₁ H ₂₀ N ₂ OS	349.1369/ 349.1358

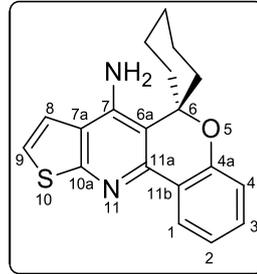
8ac	-(CH ₂) ₄ -	32	Sólido amarelo	149-151	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ OS	363.1526/ 363.1507
8ad	-(CH ₂) ₅ -	24	Sólido amarelo	145-148	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ OS	377.1668/ 377.1650
8ba	H, H	28	Sólido marrom	161-166	C ₁₉ H ₁₈ N ₂ OS	322.1213/ 322.1209
8bb	-(CH ₂) ₃ -	26	Sólido amarelo	203-206	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ OS	363.1526/ 363.1512
8bc	-(CH ₂) ₄ -	33	Sólido bege	212-217	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ OS	377.1682/ 377.1686
8bd	-(CH ₂) ₅ -	24	Sólido amarelo	154-157	C ₂₄ H ₂₆ N ₂ OS	391.1839/ 391.1816
8ca	H, H	20	Sólido bege	154-158	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ OS	359.1189/ 359.1209 ^b
8cb	-(CH ₂) ₃ -	22	Sólido amarelo	194-199	C ₂₃ H ₂₄ N ₂ OS	377.1682/ 377.1675
8cc	-(CH ₂) ₄ -	23	Sólido amarelo	160-163	C ₂₄ H ₂₆ N ₂ OS	391.1839/ 391.1854
8cd	-(CH ₂) ₅ -	20	Sólido amarelo	169-171	C ₂₅ H ₂₈ N ₂ OS	427.1815/ 427.1849 ^b

^a Rendimento isolado. ^b [M+Na]⁺.

3.2.6 Espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (8): Identificação Estrutural por espectroscopia de RMN e Difração de raios-X

A identificação dos compostos **8** foi realizada através das técnicas de RMN de ¹H e ¹³C. Também foi necessário a utilização da espectroscopia de RMN bidimensional de ¹³C-¹H HMBC e HSQC para uma correta atribuição dos deslocamentos químicos (sinais) relativos aos compostos obtidos. Em sequência, foi realizada a análise por difração de raio-X em monocristal de um exemplo da série, para a identificação estrutural inequívoca das moléculas inéditas **8**. Nesta seção, serão apresentados e discutidos os dados de RMN para o composto **8ba** (R=R¹=H, n = 2, Figura 18), como um exemplo estrutural selecionado para a atribuição de sinais da série **8**. Os dados espectroscópicos de RMN para as demais moléculas da série **8** serão apresentados na parte experimental e nos anexos desta tese.

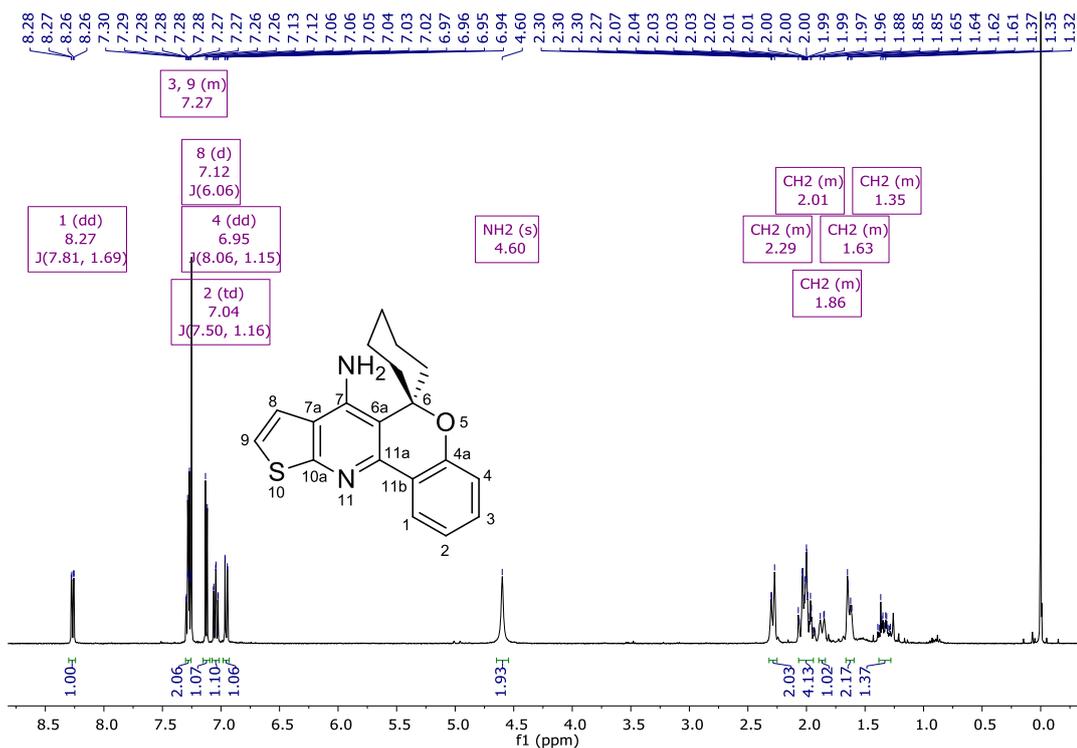
Figura 18 – Fórmula estrutural e a numeração dos átomos principais para o heterociclo **8ba**



3.2.6.1 RMN de ^1H , ^{13}C , ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC de espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**):

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para as séries de compostos **8** foram registrados em CDCl_3 utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. As atribuições dos sinais foram baseadas em dados publicados na literatura para compostos semelhantes^{49–51,76,85} e em experimentos de correlação bidimensionais, ou seja, RMN 2D de ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC.

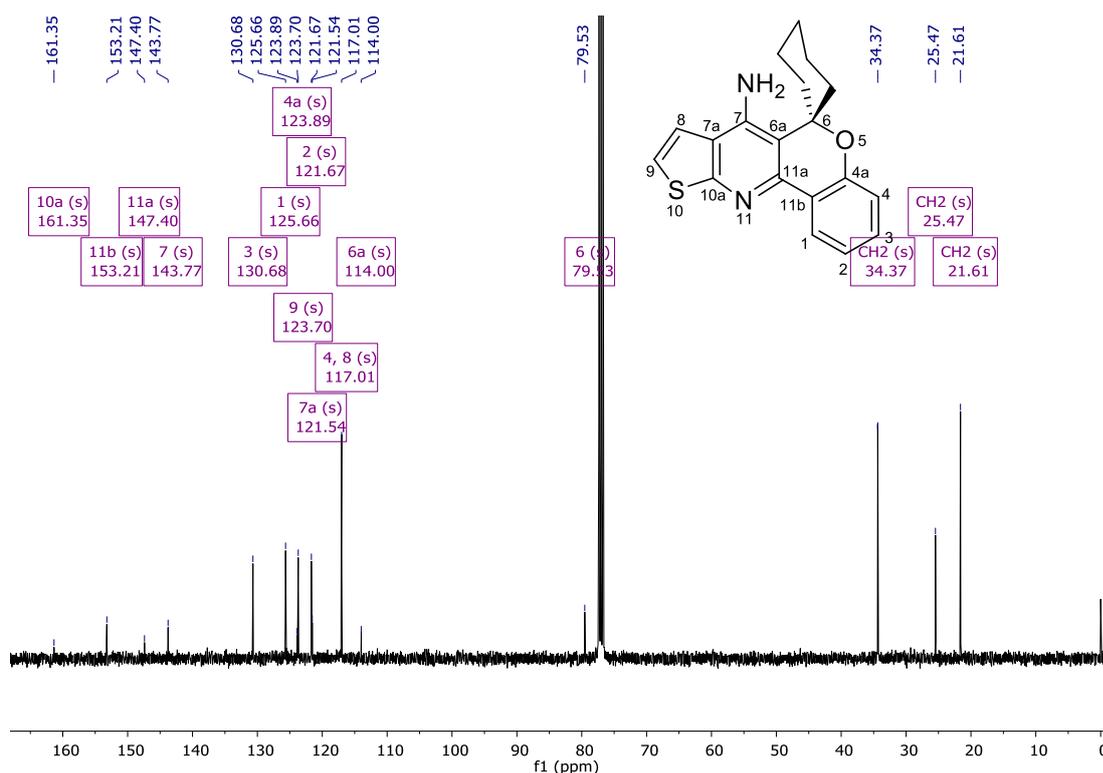
Figura 19 – Espectro de RMN de ^1H à 600 MHz, em CDCl_3 do composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)



Observa-se no espectro de RMN de ^1H , para a molécula da espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**) (Figura 19) que: na região de 8,27 ppm tem-se um sinal relativo a um duplo duplo e referente ao hidrogênio H-1, do anel cromano, com $J = 7,81$ e $1,69$ Hz. Estes acoplamentos se devem à interação com os demais hidrogênios do respectivo anel. Em 7,27 ppm pode-se observar um multipletto referente aos hidrogênios H-3 (do anel cromano) e H-9 (do anel tiofeno). Em 7,12 ppm é possível observar um dupletto referente ao H-8 com $J = 6,06$ Hz referente à porção heterocíclica do tiofeno. A região de 7,04 ppm apresenta um tripletto referente ao hidrogênio H-2 do anel cromano, além de um duplo dupletto em 7,49 ppm, referente ao hidrogênio H-4 do anel cromano e com $J = 8,06$ e $1,15$ Hz. A região de 4,60 ppm apresenta um sinal em forma de um simpleto característico e referente ao deslocamento dos dois hidrogênios ligados ao átomo de nitrogênio (grupo NH_2).

Observa-se ainda que, com menor deslocamento químico, com desdobramento sob forma de multipletos, 10 hidrogênios (5 unidades CH_2), referentes à porção espiro-cicloexílica ligada ao espiro C-6 do anel cromano, com deslocamentos químicos de 2,29, 2,01, 1,86, 1,63 e 1,36 ppm.

Figura 20 – Espectro de RMN de ^{13}C à 150 MHz, em CDCl_3 , do composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)



O espectro de RMN de ^{13}C desacoplado obtido para o composto **8ba** (Figura 20) observa-se um sinal referente ao carbono C-10a em 161,35 ppm, carbono este mais desblindado por estar vizinho ao átomo de nitrogênio da piridina e do enxofre do tiofeno; em 153,21 ppm o carbono C-11b; em 147,40 ppm o sinal referente ao carbono C-11a, carbono vizinho ao átomo de nitrogênio da piridina e do anel cromano; em 143,77 ppm o sinal referente ao carbono C-7, carbono ligado ao átomo de nitrogênio (NH_2), que causa a desblindagem deste sinal para tal região característica; em 130,68, 125,66 e 123,89 ppm têm-se os sinais referentes aos carbonos C-3, C-1 e C-4a do anel cromano, respectivamente; em 123,70 ppm observa-se o sinal referente ao carbono C-9 do anel tiofeno; em 121,67 ppm o sinal referente ao carbono C-2 do anel cromano; em 121,54 ppm apresenta-se o sinal referente ao carbono C-7a; em 117,01 ppm observam-se dois sinais sobrepostos, referentes aos carbonos C-4 e C-8, tal fato identificado através dos experimentos de RMN em duas dimensões (^{13}C - ^1H HMBC e HSQC) e em 114,00 ppm apresenta-se o sinal referente ao carbono C-6a. O sinal referente ao carbono espiro C-6, apresenta um deslocamento químico de 79,53 ppm. Com menor deslocamento químico, os sinais referentes aos carbonos da porção espiro-carbocíclica (CH_2), são observados com deslocamentos químicos de 34,37, 25,47 e 21,61 ppm.

De modo a complementar e realizar a atribuição correta dos sinais nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foi realizado o experimento de RMN em duas dimensões de HSQC de modo a atribuir os carbonos hidrogenados do composto **8ba** (Figura 21).

Figura 21 – Espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HSQC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)

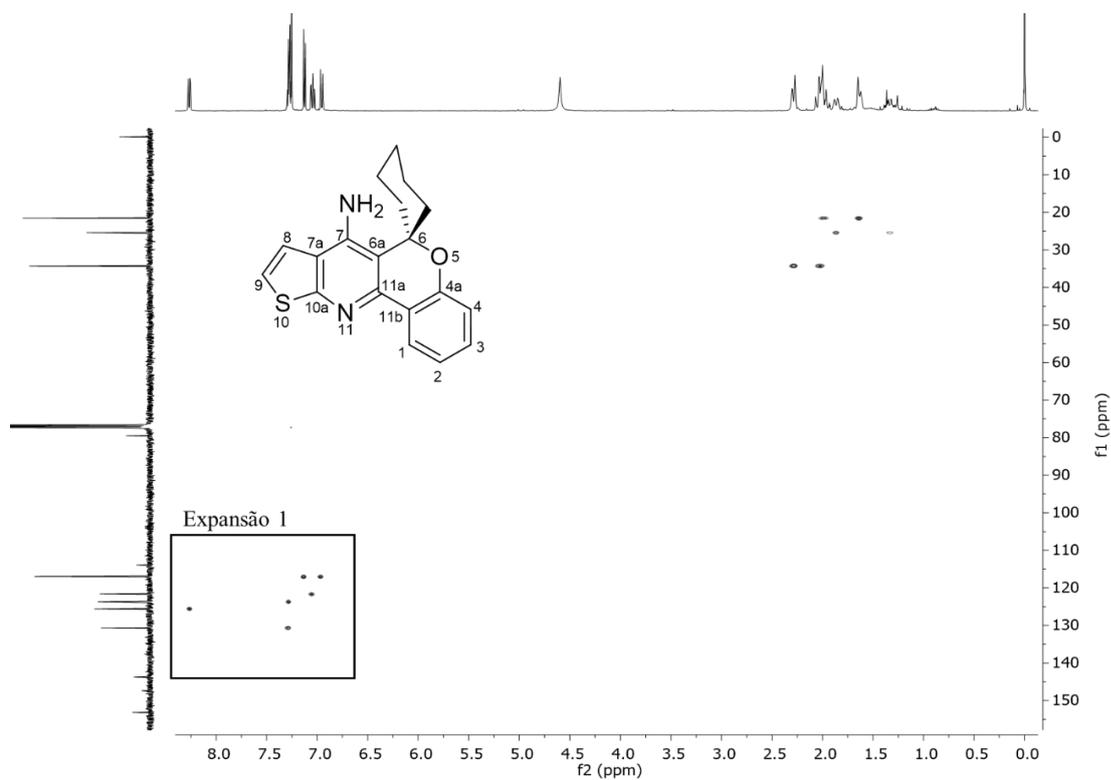
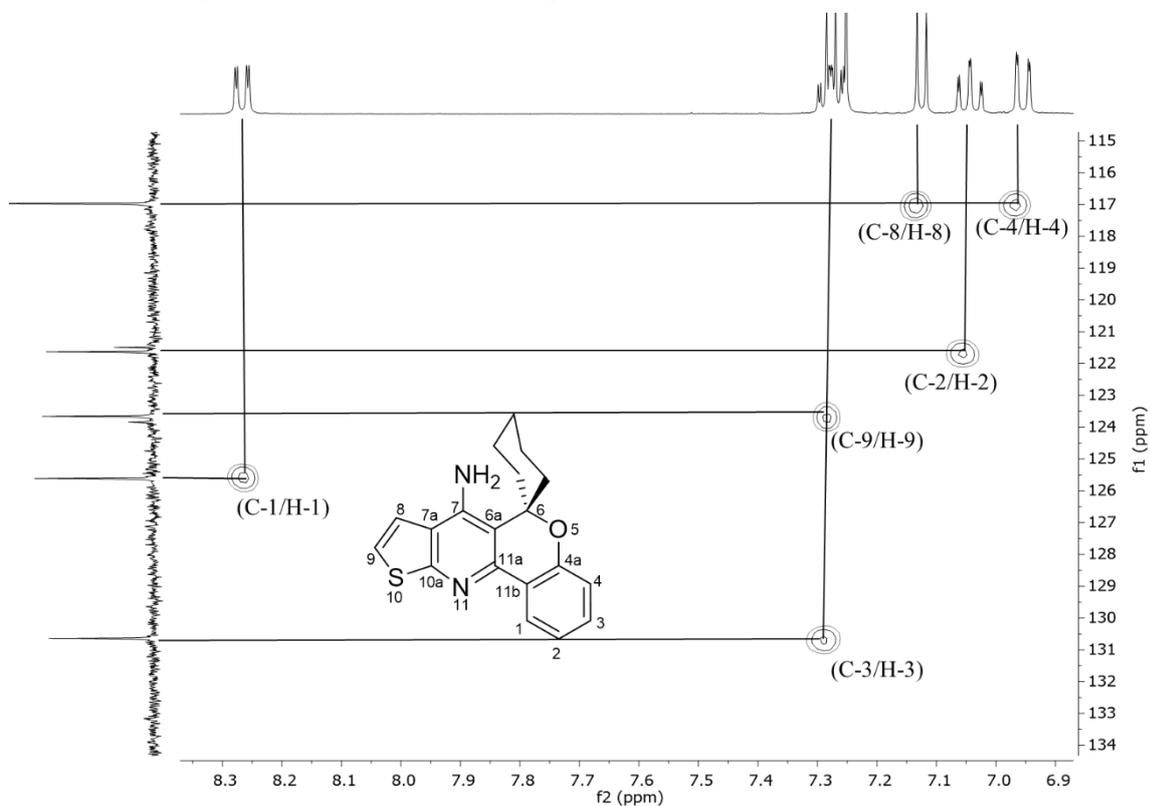


Figura 22 – Expansão 1 do espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HSQC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)



Utilizando o espectro de HSQC, expansão 1 (Figura 22), observou-se a interação entre o duplo duplete em 8,27 ppm ($J = 7,81$ e $1,69$ Hz) referente ao H-1 com seu respectivo carbono C-1 em 125,66 ppm. Foi possível observar também a confirmação dos sinais referentes aos hidrogênios H-3 e H-9, que se encontram sobrepostos em 7,27 ppm, e que no espectro de carbono estão em regiões e desdobramentos bem característicos para os carbonos C-3 (130,69 ppm) e C-9 (123,7 ppm). Foi possível realizar ainda a confirmação dos sinais referentes aos carbonos C-4 e C-8, em 117,01 ppm, que se encontram sobrepostos, e que no espectro de hidrogênio estão em regiões bem definidas, com o hidrogênio H-8 na forma de um duplete em 7,12 ppm, com $J = 6,06$, e em 6,95 Hz, o hidrogênio H-4, como um duplo duplete, com $J = 8,06$ e $1,15$ Hz. Também foi possível confirmar os sinais referentes ao H-2 e C-2, que se desdobra na forma de um triplo duplete em 7,04 ppm, com $J = 7,50$ e $1,16$, no espectro de hidrogênio, como o seu respectivo carbono em 121,27 ppm

Desta forma, para complementar a atribuição dos sinais foi realizado uma análise de RMN em duas dimensões, tipo HMBC, que correlaciona hidrogênios e carbonos a duas e três ligações de distância (Figura 23). O espectro para o composto **8ab** bem como as regiões do espectro foram expandidas para uma maior clareza da análise.

Figura 23 – Espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HMBC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)

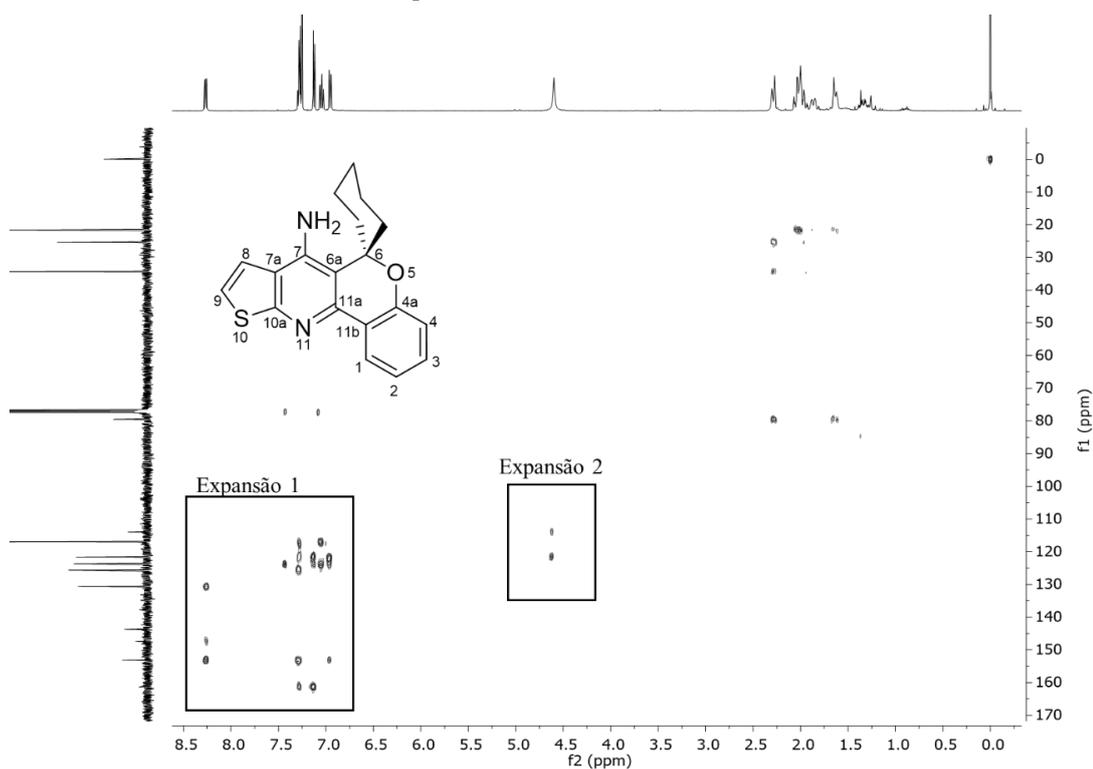
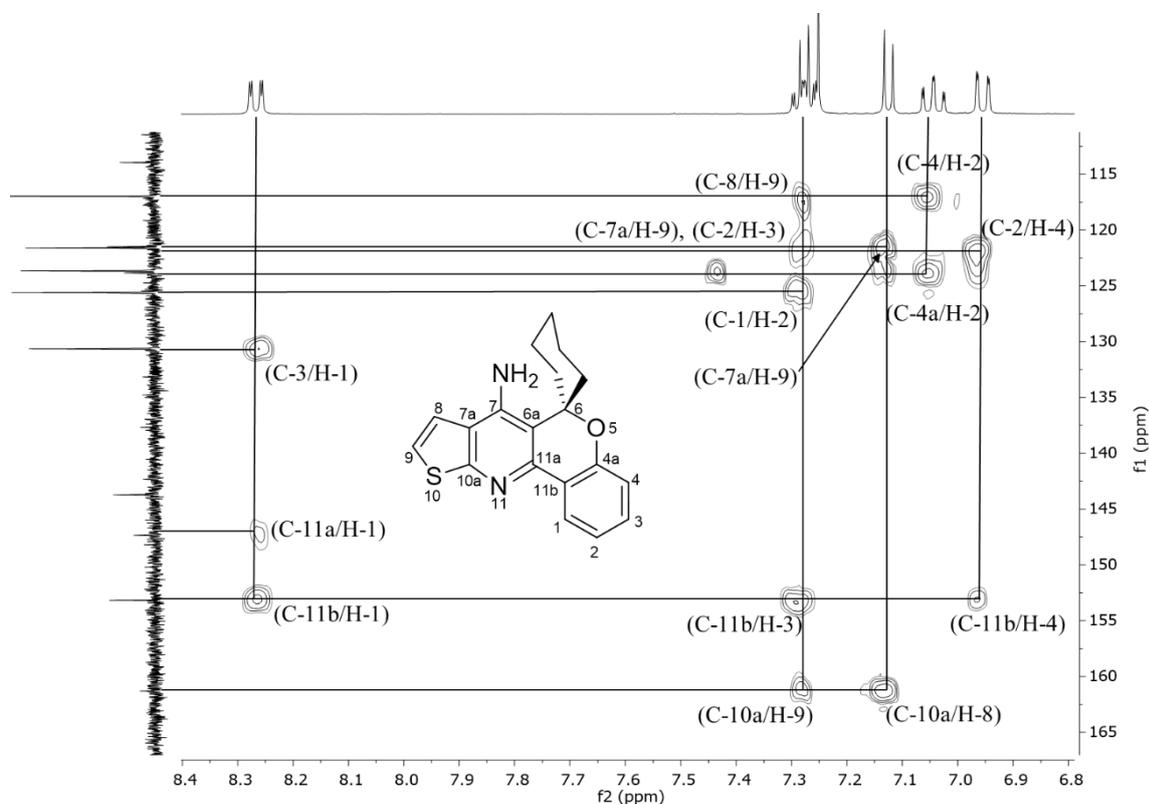
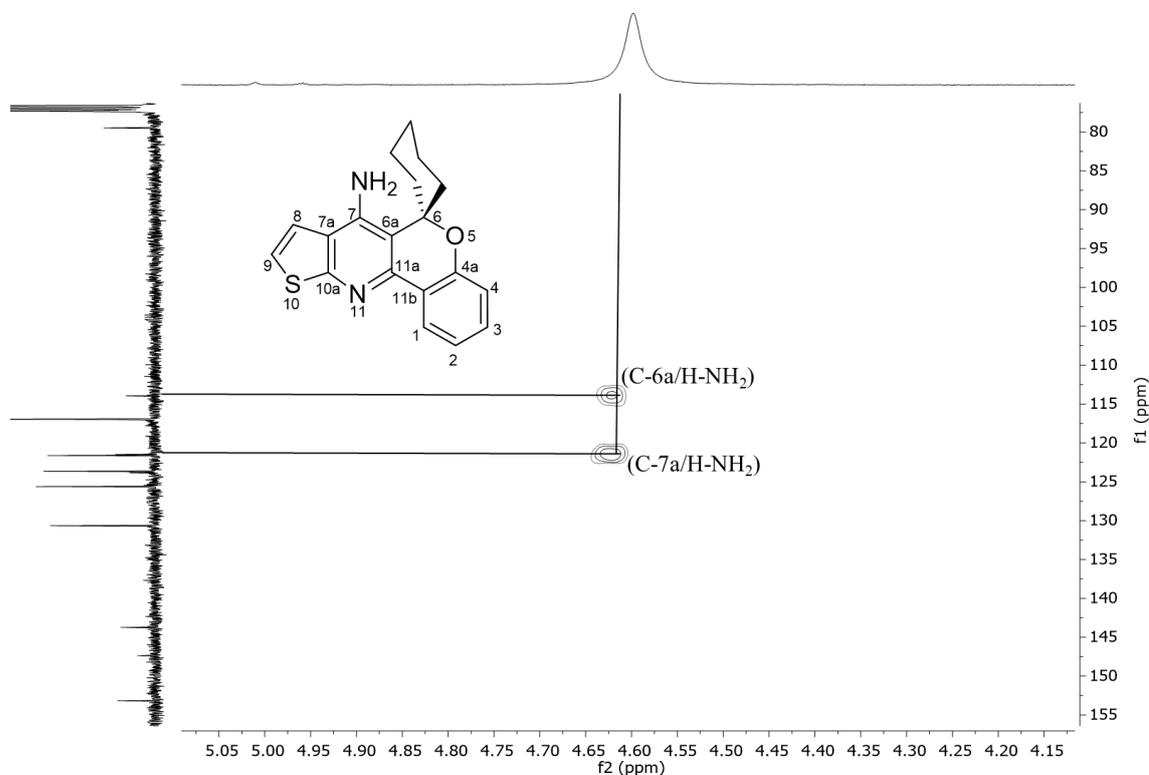


Figura 24 – Expansão 1 do espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HMBC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)



Na expansão 1 (Figura 24) é possível observar o acoplamento do hidrogênio H-1 com os carbonos C-3 e C-11b a duas ligações de distância e a três ligações com o carbono C-11a. Observa-se também que os acoplamentos entre o hidrogênio H-4 a duas ligações com o carbono C-2 e a três ligações com o carbono C-11b. É possível se observar o acoplamento entre o hidrogênio H-2 a duas ligações com o carbono C-4 e a três ligações com o carbono C-4a, fica evidenciada também a interação do hidrogênio H-8 com os carbonos C-7a e C-10a, a três ligações de distância. Observa-se ainda os acoplamentos entre os hidrogênios H-2 e H-9, que se encontram sobrepostos, em que o hidrogênio H-3 interage com os carbonos C-2, a duas ligações, e C-11b, a três ligações, e o hidrogênio H-9 interage com os carbonos C-7a e C-8, a duas ligações, e C-10a, a três ligações.

Figura 25 – Expansão 2 do espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HMBC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)



Na expansão 2 (Figura 25) é possível observar os acoplamentos entre os hidrogênios, ligados ao átomo de nitrogênio do grupo amino (NH_2) com os átomos de carbonos a três ligações adjacentes C-6a e C-7a.

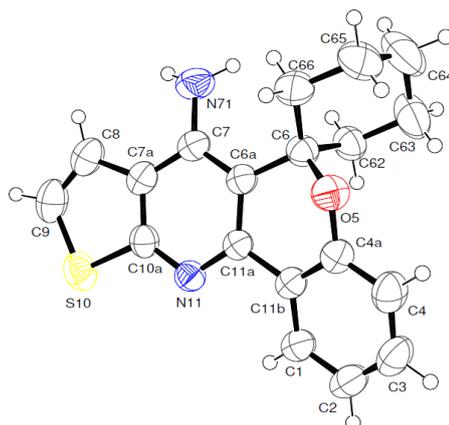
Os dados e os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos demais compostos **8aa-cd** encontram-se nos anexos desta tese, cujas variações nos deslocamentos químicos encontradas para os demais compostos foram atribuídas levando em consideração o efeito do substituinte R, os quais demonstraram pequenas variações.

3.2.6.2 Análise por Difração de Raio-X em monocristal para o composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)

De modo a complementar a caracterização das espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**), foi realizado a determinação por difração de raio-X em monocristal (Figura 26) para o composto **8ba**, visando determinar a estrutura molecular e conformação real dos compostos em fase sólida. Através dos monocristais obtidos para o

composto **8ba**, gerados através da evaporação lenta em clorofórmio, à temperatura ambiente, foi possível a aquisição dos dados cristalográficos do composto **8ba** e a elucidação estrutural do mesmo, conforme pode-se verificar no ORTEP apresentado na Figura 26.

Figura 26 – ORTEP obtido para o composto espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**)



A partir dos dados de refinamento do composto **8ba**, pôde-se confirmar a obtenção do composto de interesse, através da formação do sistema híbrido espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina constituído pela fusão direcionada entre um tiofeno, uma piridina e um cromeno conforme projetado teoricamente.

O ângulo de torção C8-C7a-C10a-N11 para o composto **8ba** é $179,91^\circ$, o que indica que os anéis tiofeno e piridina apresentam coplanaridade. A coplanaridade também é confirmada pelo ângulo diedro de $2,34^\circ$ entre os átomos do anel piridínico N11-C10a-C7a-C7 e $1,38^\circ$ para os átomos tiofeno S10-C10a-C7a-C8. Uma pesquisa na literatura também mostrou que a geometria espacial observada para esta fração da nova tacrina **8ba** é bastante semelhante a alguns sistemas de tienopiridinas aromáticas.^{90,91}

O composto **8ba** apresenta um ângulo de torção observado de $15,45^\circ$ para a sequência atômica N11-C11a-C11b-C, indicando que o anel benzênico fundido a C4a-C11b do heterociclo pirano não aromático não é coplanar à porção tienopiridina.

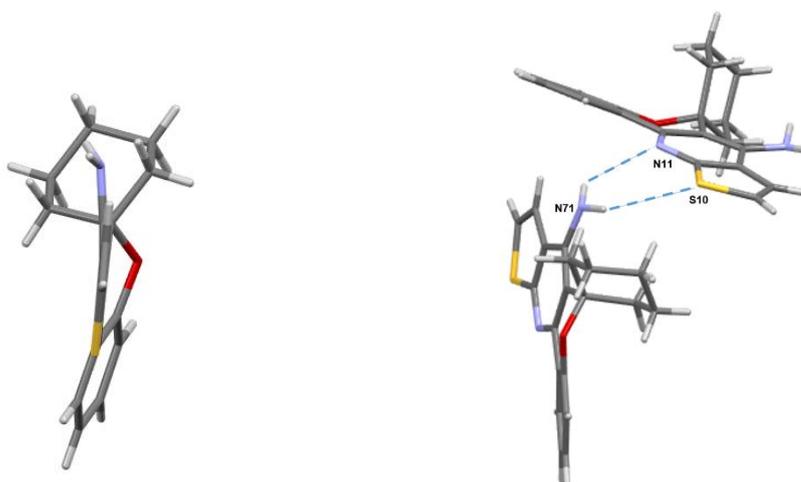
O ângulo de ligação de $109,57^\circ$ observado para O5-C6-C6a indica uma geometria tetraédrica para o átomo de carbono espiro C(6), cujo comprimento de ligação de $1,459 \text{ \AA}$ para C6-O5 é esperado e semelhante para uma ligação carbono-oxigênio com hibridização sp^3 para ambos os átomos e em uma conformação cadeira já esperada.⁹²

Os dados de difração de raio-X em monocristal também mostram que o átomo de nitrogênio N71 no grupo NH₂ tem uma geometria piramidal ligeiramente distorcida, fato observado em outros trabalhos contendo compostos semelhantes ao desenvolvido.⁹³

Este fato pode ter ocorrido devido ao composto apresentar uma forte ligação de hidrogênio N71-H71a...N11, com distância interatômica de 3,205 Å entre os átomos N71...N11, e uma ligação de hidrogênio fraca entre os átomos N71-H71A...S10, com uma distância interatômica de 3,679 Å entre os átomos N71...S10. Juntas, essas duas interações sugerem que o composto **8ba** atua de forma bidentada como doador e acceptor de prótons, formando um pseudo-anel de seis membros semelhante a compostos descritos na literatura.⁹⁰ (Figura 27)

Figura 27 – (a) Vista lateral e (b) projeção das pontes de hidrogênio no empacotamento cristalino do composto

8ba



Os dados cristalográficos mais detalhados para análises de maior interesse estrutural encontram-se nos anexos desta tese.

3.2.7 Atividade inibitória *in vitro* de AChE e BChE

Um dos tratamentos da DA mais amplamente utilizados é baseado em medicamentos inibidores da AChE, como tacrina, donepezil, galantamina e rivastigmina, que, ao inibir a enzima, aumentam a transmissão de impulsos elétricos no sistema colinérgico.⁹⁴ Desta forma, devido à similaridade estrutural dos compostos **8aa-cd** e visando verificar a capacidade inibitória destes, a série de compostos **8** foram avaliados como possíveis novos inibidores de

Homo sapiens AChE e BChE de eritrócitos e plasma, respectivamente, na concentração de 10 μM . Os compostos **8aa**, **8ba** e **8ca**, todos estes contendo substituintes R, $\text{R}^1 = \text{H}$ na porção do anel tiofênico e com diferentes números de unidades metilênicas ($n = 1, 2$ e 3), inibiram significativamente a ação de BChE (77, 76 e 83%, respectivamente; $p\text{-value} < 0,0001$; Figura 28) em uma faixa semelhante aos análogos 7-amina-espiro[cromeno[4,3-*b*]quinolina-6,1'-cicloalcanos] já descritos pelo grupo NUQUIMHE.²⁶ Os demais compostos não apresentaram capacidade inibitória significativa. O teste enzimático com a AChE revelou uma incapacidade dos compostos em inibir esta enzima (Figura 29), sugerindo uma possível seletividade dos compostos para BChE. Este fato se torna interessante, pois em casos avançados de DA, os níveis de BChE aumentam consideravelmente e gradualmente, enquanto os níveis de AChE diminuem até 85% em algumas áreas do cérebro,⁹⁵ além disso, há evidências de uma relação entre altos níveis de BChE e maior densidade e patogenicidade da placa β -amilóide em pacientes com DA,⁹⁶ e compostos que apresentem esta característica podem atuar como agentes seletivos à DA. Os compostos **8aa**, **8ba** e **8ca** foram aparentemente melhores inibidores de BChE do que compostos cicloalquiltieno[2,3-*b*]quinolina/piridina,⁹⁷ e estão na mesma faixa de inibição das espirocromeno[4,3-*b*]quinolinas²⁶ relatadas anteriormente. Em contraste com os análogos de tienopiridina-tacrina,⁹⁸ as moléculas aqui estudadas não são inibidores potentes de AChE, sugerindo que a porção espiro pode afetar sua ação. Nesse sentido, esses dados preliminares sugerem que os híbridos de tacrina espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina]-7-amina (**8**) são inibidores promissores de BChE podendo ser melhor estudados como potenciais drogas para tratar a DA em estágios avançados.

Tabela 4 – Relação dos compostos **8** utilizados nos ensaios de atividade inibitória de AChE e BChE

Composto	R, R ¹	n
8aa	H, H	1
8ab	-(CH ₂) ₃ -	
8ac	-(CH ₂) ₄ -	
8ad	-(CH ₂) ₅ -	
8ba	H, H	2
8bb	-(CH ₂) ₃ -	
8bc	-(CH ₂) ₄ -	
8bd	-(CH ₂) ₅ -	
8ca	H, H	3
8cb	-(CH ₂) ₃ -	
8cc	-(CH ₂) ₄ -	
8cd	-(CH ₂) ₅ -	

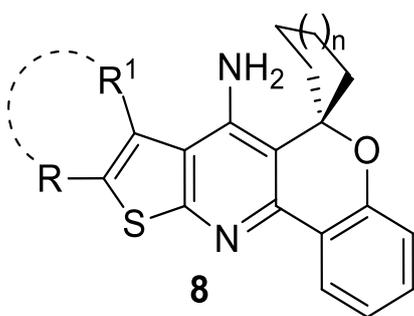


Figura 28 – Ensaio de atividade inibitória de AChE para compostos **8aa-cd**. Os dados foram expressos como média \pm SEM, n= 9, **p-value* < 0.0001; ASCh = iodeto de acetiltiocolina.

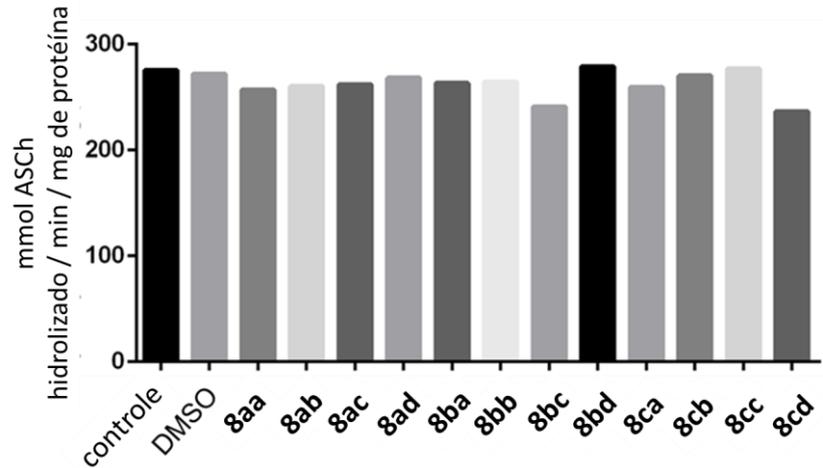
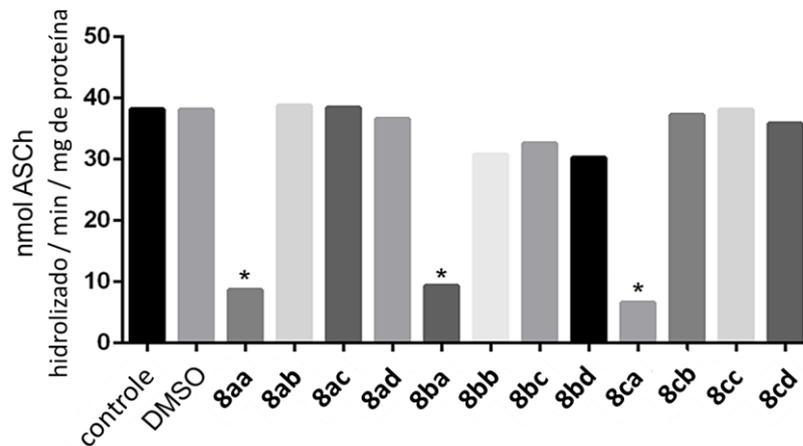


Figura 29 – Ensaio de atividade inibitória de BChE para os compostos **8aa-cd** (10 μ M). Os dados foram expressos como média \pm SEM, n= 3, **p-value* < 0.0001; ASCh = iodeto de acetiltiocolina.



3.2.8 Análise *in silico* de AChE e BChE por *docking molecular*

Realizou-se também a análise *in silico* de *docking molecular* de modo a entender acerca das interações entre os compostos **8aa-cd** e as enzimas AChE e BChE. Os dados *in vitro* demonstraram que as moléculas **8aa-cd** foram incapazes de inibir a AChE, e as simulações de *docking* indicam que elas interagem na região superficial do sítio ativo (Figura 30 e Figura 31) no subsítio aniônico periférico, fazendo interações hidrofóbicas com o resíduo Trp286 (Figura 31), sugerindo ser inibidores fracos. No entanto, os híbridos de tacrina **8aa-cd** se ligam na região inferior do sítio ativo de BChE (Figura 30 e Figura 32). Os compostos **8aa**, **8ba** e **8ca** demonstraram ser inibidores de BChE, e a posição de ligação prevista obtida a partir do *docking*

molecular mostrou claramente uma conformação distinta entre os compostos inibidores e não inibidores (Figura 31 e Tabela 5). Os compostos **8aa**, **8ba** e **8ca**, que não possuem substituintes no anel tiofeno ($R, R^1 = H$), adotam uma conformação semelhante, onde o grupo tiofeno interage com o Trp231 da cavidade de ligação acila, a porção cromeno interage com o Trp82 do subsítio aniônico e o grupo amina fez uma ligação de hidrogênio com o resíduo Pro285. As demais moléculas **8** apresentam conformações diferentes, possivelmente devido a um maior impedimento estérico dos anéis alifáticos, e as interações ocorrem principalmente entre a porção cromeno e Trp231. Os dados sugerem que a cavidade de ligação e as interações adotadas por **8aa**, **8ba** e **8ca** são essenciais para a inibição de BChE nesta classe molecular e, de fato, as interações químicas com Trp231, Trp82 e Pro285 já foram relatadas para inibidores de BChE.^{99,100}

Figura 30 – Estruturas AChE e BChE com composto **8aa** (molécula representativa) em seus sítios ativos

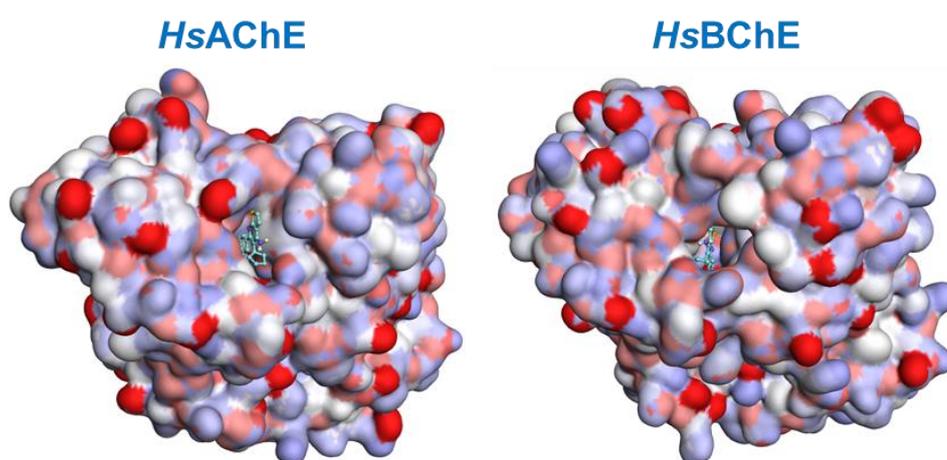


Figura 31 – Interações de **8aa** (A), **8ab** (B), **8ac** (C), **8ad** (D), **8ba** (E), **8bb** (F), **8bc** (G), **8bd** (H), **8ca** (I), **8cb** (J), **8cc** (K), e **8cd** (L) com o sítio ativo da AChE.

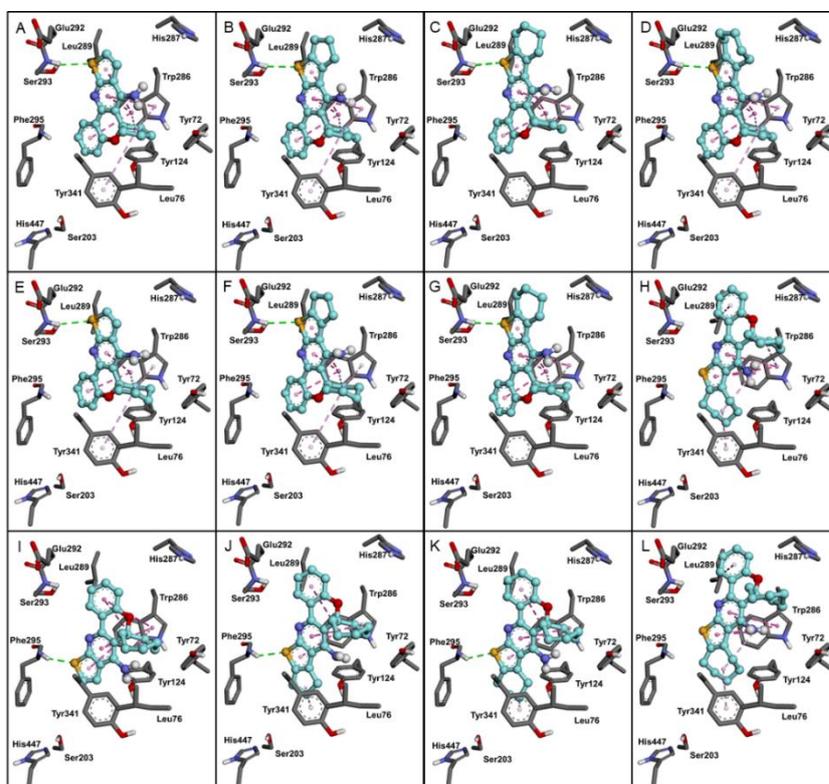


Figura 32 – Interações de **8aa** (A), **8ab** (B), **8ac** (C), **8ad** (D), **8ba** (E), **8bb** (F), **8bc** (G), **8bd** (H), **8ca** (I), **8cb** (J), **8cc** (K), e **8cd** (L) com o sítio ativo da BChE.

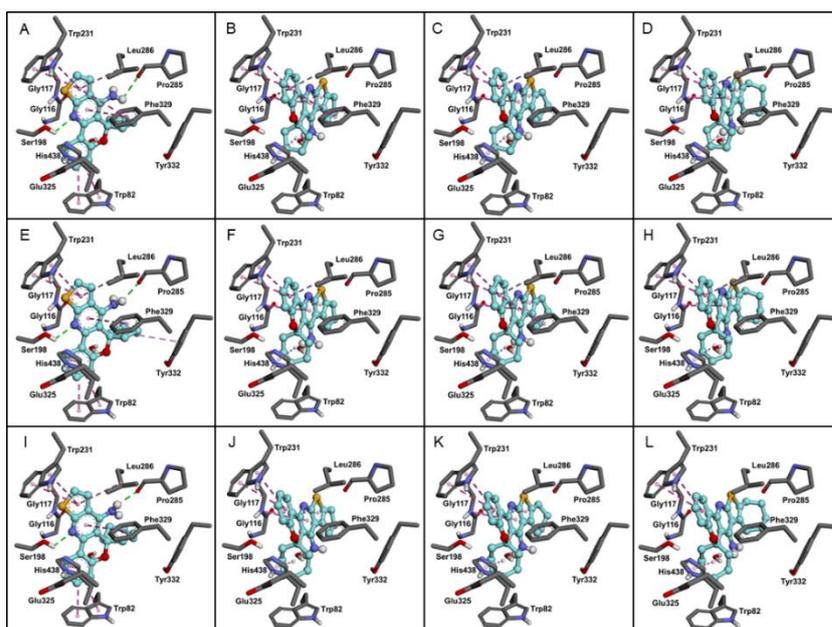


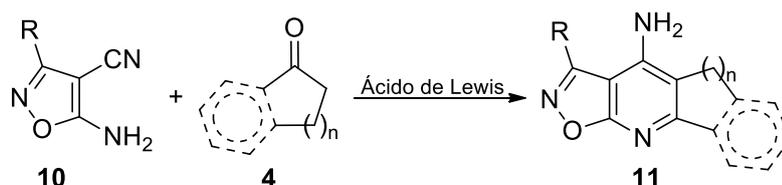
Tabela 5 – Interações e ΔG previsto (kcal/mol) entre BChE e **8aa–cd**

Resíduo	Tipo	8aa	8ab	8ac	8ad	8ba	8bb	8bc	8bd	8ca	8cb	8cc	8cd
Trp82	π - π	5,0	-	-	-	4,9	-	-	-	5,0	-	-	-
	π - π	5,3	-	-	-	5,2	-	-	-	5,2	-	-	-
Gly116	π -amida	-	5,3	5,1	5,0	-	5,1	5,2	4,9	-	5,1	4,9	5,0
	π -amida	-	4,2	4,1	4,0	-	4,2	4,2	4,0	-	4,1	4,0	4,1
Trp231	π - π	4,9	4,9	4,9	4,8	5,0	4,9	4,9	4,8	4,9	5,1	4,9	5,0
	π - π	4,9	4,9	4,8	4,8	5,1	4,9	4,9	4,8	5,0	5,2	5,1	5,2
Leu286	π -alquil	5,3	5,0	5,0	5,0	5,4	5,0	5,0	5,0	5,4	5,4	5,4	5,4
Phe329	π - π	5,2	5,3	5,4	5,4	5,1	5,4	5,3	5,4	5,2	5,3	5,4	5,4
	π - π	5,6	-	-	-	5,5	-	-	-	5,6	-	-	-
His438	π -alquil	-	4,9	4,9	5,2	-	4,9	5,0	5,2	-	5,2	5,2	5,4
Ser198	H-bond	2,7	-	-	-	2,6	-	-	-	2,7	-	-	-
Pro285	H-bond	2,7	-	-	-	2,4	-	-	-	2,3	-	-	-
ΔG	kcal/mol	-8,5	-10,6	-10,9	-11,0	-10,1	-10,9	-11,2	-11,2	-10,2	-10,7	-10,9	-10,9

3.3 REAÇÕES DE 5-AMINO-3-ARIL/HETEROARIL-ISOXAZOL-4-CARBONITRILAS (**10a-h**) COM CICLO-ALCANONAS (**4a-e**)

Para a realização do segundo objetivo deste trabalho e considerando dados já relatados na literatura, em que, reações entre alguns exemplos de aminoisoxazóis-carbonitrilas e cicloalcanonas,⁵⁸ permitiram a obtenção e o isolamento de hidrociclo-isoxazoloquinolinaminas/piridinaminas, esta seção tem como objetivo avaliar o potencial sintético das 5-amino-3-aril/heteroaril-isoxazol-4-carbonitrilas (**10a-h**) frente à diferentes ciclo-alcanonas (**4a-e**), visando o isolamento e elucidação estrutural das hidrociclo-isoxazoloquinolinaminas/piridinaminas (**11**) (Esquema 20).

Esquema 20



R = aril, heteroaril
n = 1, 2, 3, 5,6-dihidronaftaleno

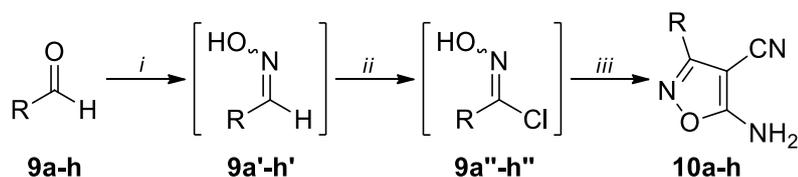
3.3.1 Síntese de 5-amino-3-aryl/heteroaryl-isoxazol-4-carbonitrilas (10a-h)

Como parte do segundo objetivo deste trabalho, inicialmente realizou-se a síntese dos diferentes precursores 5-amino-3-aryl/heteroaryl-isoxazol-4-carbonitrilas (**10a-h**), de acordo com procedimentos descritos na literatura.^{101,102}

Para a obtenção dos materiais de partida de interesse, inicialmente, fez-se necessário a obtenção do intermediário oxima **9'**, obtido através da reação entre diferentes aldeídos arílicos (**9**) e cloridrato de hidroxilamina, e utilizando carbonato de potássio como base e metanol como solvente, a temperatura ambiente por 3 h. Decorrido o tempo reacional, o solvente foi removido sob pressão reduzida, água foi então adicionada ao resíduo e o sistema de mistura foi extraído com acetato de etila, cujas oximas **9'**, foram utilizadas na etapa posterior sem purificação.¹⁰¹ De posse das oximas **9'**, em dimetilformamida, foram adicionados 1,1 mmol de *N*-clorossuccinimida (NCS), em pequenas porções e sob baixa temperatura. Após isso, a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 16 h e, terminado o tempo reacional, o conteúdo foi vertido em água fria, a solução foi extraída com éter dietílico e utilizada diretamente na próxima etapa sem purificação adicional.¹⁰²

Por fim, de modo a obter as 5-amino-3-aryl/heteroaryl-isoxazol-4-carbonitrilas (**10a-h**) de interesse, preparou-se primeiramente uma solução de etóxido de sódio (5 mmol de Na^o em etanol), ao qual, foi adicionado uma solução de malononitrila (5 mmol em THF), lentamente à temperatura ambiente. À mistura reacional foi adicionada uma solução do intermediário **9''** em etanol, lentamente e em banho de gelo e que, passada a adição, foi agitada à temperatura ambiente por 1 h e a 45 °C por mais 1 h. A mistura foi então concentrada, adicionado água destilada e extraída com acetato de etila, lavada com uma solução aquosa de cloreto de sódio saturada (3 × 50 mL), fase orgânica foi então tornada anidra com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida e o produto bruto foi purificado por recristalização, empregando etanol como solvente, com rendimentos condizentes com a literatura,¹⁰³⁻¹⁰⁵ cujos compostos obtidos foram ainda identificados por ponto de fusão e RMN ¹H, para posterior utilização em passo reacional subsequente¹⁰² (Esquema 21), em que, aqueles que são inéditos e não possuem seus dados descritos, encontram-se apresentados na seção experimental desta tese.

Esquema 21



R = C₆H₅, 4-OMeC₆H₄, 4-MeC₆H₄, 4-FC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 4-NO₂C₆H₄, 5-Cl-2-furil, 2-tienil

i = NH₂OH.HCl, K₂CO₃, MeOH, t.a., 4h

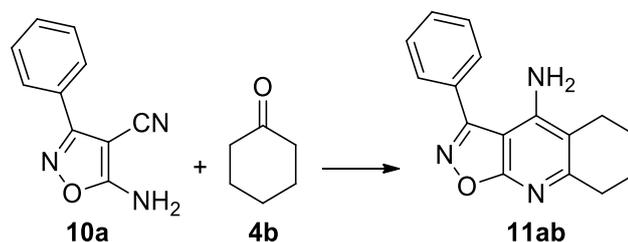
ii = NCS, DMF, t.a., *overnight*

iii = (2) malononitrila, Na⁰, EtOH, THF, t.a., 1h; (2) 45 °C, 1h

3.3.2 Síntese de 3/8-aryl/heteroaryl-hidro-ciclo-isoxazolo[5,4-b]quinolinaminas(piridinaminas) (11)

Visando a síntese da série de 3/8-aryl/heteroaryl-hidro-ciclo-isoxazolo[5,4-b]quinolinaminas/piridinaminas (11), descreve-se inicialmente a otimização das condições reacionais, buscando obter-se o melhor rendimento a partir da rota sintética proposta. Inicialmente foram utilizados os compostos **10a** (R= C₆H₅) e **4b** (n = 2) como material de partida, para estabelecer a melhor condição reacional, para a obtenção dos novos compostos **11**.

Baseado em procedimentos experimentais descritos na literatura,^{58,85} inicialmente foram realizados testes para uma escolha otimizada da presença de solvente, da estequiometria mais adequada dos reagentes utilizados para esta transformação química e o método de obtenção dos mesmos (Tabela 6).

Tabela 6 – Otimização das condições reacionais para a síntese dos compostos **11**

Entrada	10a (mmol)	4b (mmol)	AlCl ₃ (mmol)	1,4-Dioxano (mL)	Temp. (° C)	Tempo (min.)	Potência (W)	Conversão 11ab (%) ^c
1 ^a	1	1,5	1,5	7	100	30	250	50 (45) ^d
2 ^b	1	1,5	1,5	7	100	1440	-	50 (46) ^d
3	1	1,5	1,5	7	100	30	100	40
4	1	1,5	1,5	7	100	30	200	33
5	1	1,5	1,5	7	100	30	300	23
6	1	1,5	1,5	7	90	30	250	15
7	1	1,5	1,5	7	110	30	250	33
8	1	1,5	1,5	7	100	45	250	15
9	1	1,5	1,5	7	100	15	250	57
10	1	1,5	1,5	7	100	10	250	10
11	1	1,5	1,5	3	100	15	250	57
12	1	1,5	1,5	1	100	15	250	80
13	1	1,5	1,5	0,5	100	15	250	90
14	1	1,5	1,5	-	100	15	250	>95 (89) ^d
15	1	1	1,5	-	100	15	250	85
16	1	1,5	1	-	100	15	250	80

^a reações realizadas por irradiação de microondas; ^b reações conduzidas por aquecimento convencional, condição reacional (1) 110 °C, 24 h, (2) NaOH 2M, 110 °C, 24 h; ^c Determinada por RMN de ¹H; ^d rendimento obtido após recristalização em EtOH.

Devido a dois compostos da série **11** já serem descritos por Cherif e col.,⁵⁸ (**11ab** e **11ac**), Inicialmente foi utilizada a mesma metodologia descrita na literatura, baseando-se nestes compostos, o 5-amino-isoxazol-4-carbonitrila (**10**, 1,0 mmol) foi dissolvido em 1,4-dioxano anidro, em seguida o AlCl₃ como ácido de Lewis (1,5 mmol) e cicloalcanona (**4b**, 1,5 mmol) foram adicionados a esta solução. A mistura de reação foi aquecida a 100°C sob irradiação de micro-ondas por 30 min. A mistura reacional foi diluída com uma solução de clorofórmio/água (1/1) e tratada com uma solução aquosa de hidróxido de sódio (10% m/V) até pH 11–12. Após agitação durante 30 min, a mistura foi extraída com CHCl₃, em que se obteve uma conversão

de 50 % ao produto de interesse, determinada por RMN de ^1H e um rendimento isolado, obtido após recristalização em EtOH, de 45 % (Tabela 6, entrada 1).

Estudos para a síntese de estruturas semelhantes às desenvolvidas neste trabalho mostram que a utilização do aquecimento térmico convencional também é uma possibilidade para a obtenção destes compostos,⁸⁵ portanto, utilizando a mesma relação estequiométrica, quando realizada via irradiação por microondas, no entanto em 1440 min (24 h) (Tabela 6, entrada 2); o resultado mostrou equivalente ao da técnica via microondas, com uma conversão de 50 % e um rendimento isolado de 46 %, se mostrando então como mais viável o método por microondas, por demandar menos tempo e condições mais brandas.

Sendo assim, visou-se uma otimização dos parâmetros experimentais da técnica via microondas, uma vez que, os resultados obtidos não se mostraram condizentes aos obtidos por Cherif e col.,⁵⁸ para o composto **11ab**, onde então foram avaliados os parâmetros de potência (Tabela 6, entradas 3-5), temperatura (Tabela 6, entradas 6 e 7) e temperatura (Tabela 6, entradas 8-10), onde percebeu-se que, na entrada 9, com a diminuição do tempo para 15 min., a conversão ao produto elevou-se para 57 %

Como a presença de solvente nem sempre se faz necessário para a obtenção destes compostos, como já demonstrado em trabalhos desenvolvidos por Bonacorso e col.,⁸⁵ foram realizados testes diminuindo a quantidade de 1,4-dioxano utilizado (Tabela 6, entradas 11-14), visando o aumento de rendimento. Através disso, percebeu-se um aumento no valor de conversão à medida que foi diminuindo a quantidade deste, alcançando uma conversão >95 % e um rendimento isolado de 89 %, se mostrando então como mais viável a ausência deste para a obtenção do composto **11ab**.

Por fim, visando o aumento de rendimento, realizou-se também testes avaliando a estequiometria dos materiais de partida e de AlCl_3 (Tabela 6, entradas 15 e 16), em que, percebeu-se um decréscimo na conversão ao produto, quando reduzido as quantidades de cicloalcanona (**4b**) e AlCl_3 .

Desta forma, estabeleceu-se que a melhor condição reacional para a obtenção dos compostos **11**, foi através da metodologia que emprega 1 mmol de 5-amino-isoxazol-4-carbonitrila (**10**) e quantidades equimolares (1,5 mmol) de cicloalcanona (**4**) e AlCl_3 , sob irradiação de microondas, cujos parâmetros experimentais estabelecidos foram à 100 °C, 15 min. e 250 W, seguido da diluição com uma solução de clorofórmio/água (1/1) e tratada com uma solução aquosa de hidróxido de sódio (10% m/V) até pH 11–12, sob agitação durante 30 min. Assim, esta metodologia foi estendida para a obtenção dos demais compostos da série **11**,

variando substituintes R e o número de unidades metilênicas (n) da porção carbocíclica, cujos rendimentos variaram na faixa de 15-88 % (Tabela 7).

A variação dos substituintes R e número de unidades metilênicas (n) na porção carbocíclica foram realizadas com o intuito de avaliar a influência do efeito substituinte e tamanho das cadeias metilênicas na atividade anti-ChE.

Se percebeu que, quando se submeteu a reação à sistemas poliheterocíclicos nas unidades metilênicas, como o precursor espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7**), não se percebeu a formação do composto de interesse **11**, fato que pode ser justificado, pois quando são utilizados ciclos de maior complexidade estrutural na hibridização em sistemas poliheterocíclicos, para obtenção de tacrina análogos, como pirazol com biciclo[3.3.1]nonanos (33-41%)⁶¹ e pirazolo[3,4-*b*]piridinas com ciclohexanona (8-18%),⁶² por exemplo, mostra uma tendência para diminuir os estes valores.

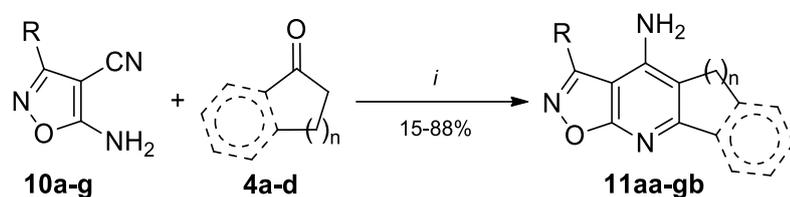
A presença de grupos doadores de elétrons ligados à porção oxadiazol também influenciaram consideravelmente o valor de rendimento, onde se pôde observar que quando há substituintes que aumentem a conjugação eletrônica, como 4-OMeC₆H₄ e 1-naftil, por exemplo, não foi possível se obter os compostos **11**.

3.3.3 Purificação dos compostos 3/8-aril/heteroaril-hidrociclo-isoxazolo[5,4-*b*]quinolinaminas/piridinaminas (11**)**

Para a purificação os compostos **11**, inicialmente, após transcorrido o tempo reacional, a mistura foi arrefecida até a temperatura ambiente e então extraída com clorofórmio (3 x 25 mL), lavada com água destilada (2 x 50 mL) e com uma solução aquosa de cloreto de sódio saturada (50 mL). A fase orgânica foi então tornada anidra com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por recristalização, empregando etanol como solvente, cujas soluções resultantes foram submetidas à temperatura de -7 a 0 °C durante o período de 24 horas. Após, os precipitados foram filtrados sob pressão reduzida, lavados com etanol gelado e tornado anidros a pressão reduzida, resultando em sólidos brancos, beges, marrons ou laranjas, dependendo do substituinte.

Os valores de rendimento, ponto de fusão e características físicas dos compostos obtidos nesta tese encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7 – Hidrociclo-isoxazolo-quinolinaminas/piridinaminas (**11**): Características físicas, Pontos de fusão, rendimentos e HRMS.



R = C₆H₅, 4-OMeC₆H₄, 4-MeC₆H₄, 4-FC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 4-NO₂C₆H₄, 5-Cl-2-furil, 2-tienil
n = 1, 2, 3, 5,6-dihidronaftaleno

i = 1) **10a-g** (1 mmol), **4a-d** (1,5 mmol), AlCl₃ (1,5 mmol), MW (250 W, 100 °C, 15 min.)
2) NaOH (10 %, pH 10-11), t.a., 30 min.

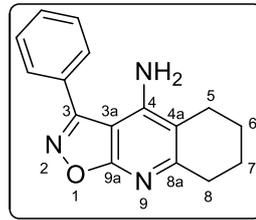
Composto	R	n	Rend. ^a (%)	Característica física	P.F. (°C)	Fórmula Molecular	HRMS (g/mol)
							Cal./Exp. [M+H] ⁺
11aa	C ₆ H ₅	1	15	Sólido bege	246-248	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O	252.1131/252.1127
11ab ^b	C ₆ H ₅	2	89	Sólido marrom	252-256	C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O	^b
11ac ^b	C ₆ H ₅	3	55	Sólido branco	275-277	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O	^b
11ad	C ₆ H ₅	dihidronaftaleno	88	Sólido marrom	192-195	C ₂₀ H ₁₅ N ₃ O	314.1288/314.1282
11bb	4-MeC ₆ H ₄	2	35	Sólido bege	225-227	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O	280.1444/280.1525
11cb	4-FC ₆ H ₄	2	42	Sólido branco	293-296	C ₁₆ H ₁₄ FN ₃ O	284.1194/284.1210
11db	4-BrC ₆ H ₄	2	50	Sólido bege	252-255	C ₁₆ H ₁₄ BrN ₃ O	344.0393/344.0410
11eb	4-NO ₂ C ₆ H ₄	2	72	Sólido marrom	195-197	C ₁₆ H ₁₄ N ₄ O ₃	311.1139/311.1148
11fb	5-Cl-fur-2-il	2	25	Sólido laranja	102-105	C ₁₄ H ₁₂ ClN ₃ O ₂	290.0691/290.0710
11gb	2-tienil	2	36	Sólido bege	172-176	C ₁₄ H ₁₃ N ₃ OS	272.0852/272.0861

^aRendimento isolado; ^bDescrito por Cherif e col.⁵⁸

3.3.4 3(8)-Aрил/heteroaril-isoaxazolo[5,4-*b*]quinolinaminas(piridinaminas) (**11**): Identificação Estrutural por espectroscopia de RMN

A identificação dos compostos **11** foi realizada através das técnicas de RMN de ¹H e ¹³C. Nesta seção, serão discutidos os dados obtidos para o composto **11** (R= C₆H₅ e n = 2, Figura 33), sendo que para as demais moléculas da série estas informações serão apresentadas na parte experimental e nos anexos desta tese. Devido a dois compostos da série **11** já serem descritos por Cherif e col.,⁵⁸ (**11ab** e **11ac**), a elucidação estrutural se fez baseada nos dados descritos na literatura, baseando-se nestes compostos.

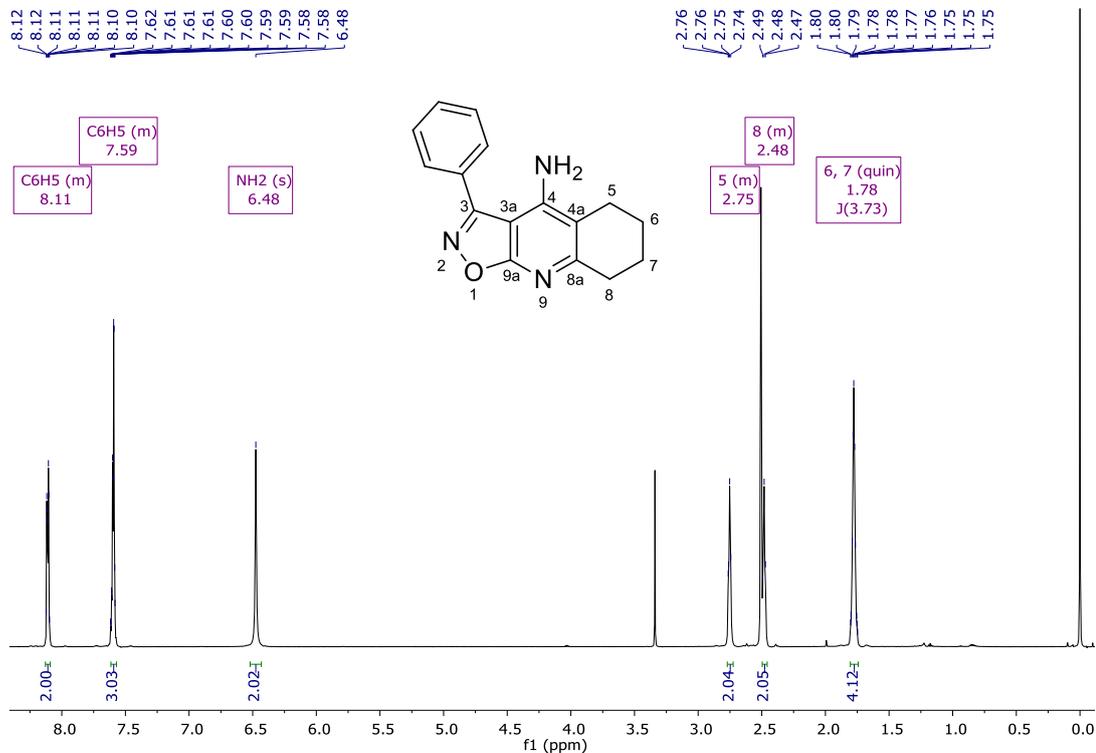
Figura 33 – Fórmula estrutural e a numeração dos átomos principais para o heterociclo **11ab**



3.3.4.1 RMN de ^1H , ^{13}C de 3(8)-aril/heteroaril-isoxazolo[5,4-*b*]quinolinaminas(piridinaminas) **(11)**

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para as séries de compostos **11** foram registrados em $\text{DMSO-}d_6$ utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. As atribuições dos sinais foram baseadas em dados publicados na literatura para compostos semelhantes.^{58,78}

Figura 34 – Espectro de RMN de ^1H à 600 MHz, em $\text{DMSO-}d_6$, do composto 3-fenil-5,6,7,8-tetrahydroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (**11ab**)

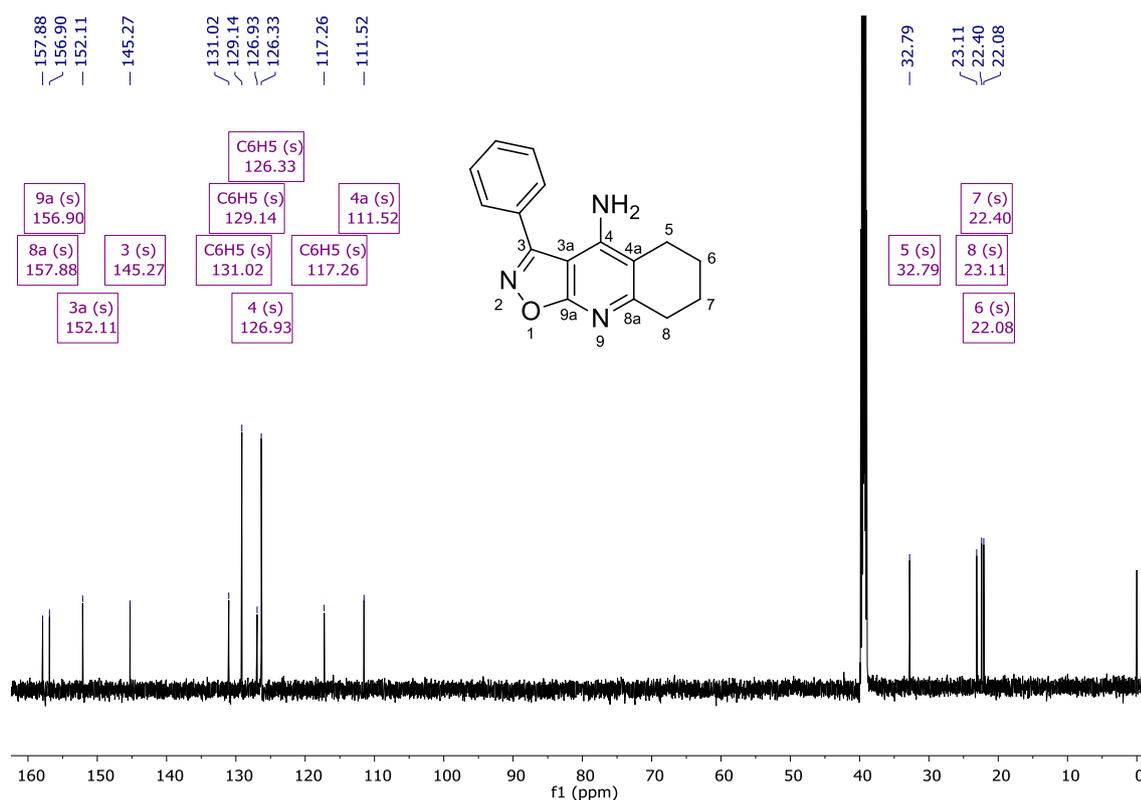


No espectro de RMN de ^1H , 3-fenil-5,6,7,8-tetrahydroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (**11ab**) (Figura 34) observa-se que nas regiões de 8,11 e 7,59 ppm, os 5 hidrogênios aromáticos

referentes ao substituinte R= C₆H₅, sob a forma de dois multipletos. Ainda, na região de 6,48 ppm, apresenta-se um simpleto alargado característico referente ao deslocamento dos dois hidrogênios ligados ao átomo de nitrogênio (grupo NH₂), que evidencia claramente a obtenção do produto.

Nas regiões de menor deslocamento químico, observa-se ainda, dois sinais referentes aos 8 hidrogênios (4 unidades CH₂), referentes à porção carbocíclica, onde: em 2,75 ppm tem-se um multipeto, referente aos dois hidrogênios H-5; em 2,48 ppm um multipeto, referente aos dois hidrogênios H-8; e em 1,78 ppm um quinteto, referente aos quatro hidrogênios H-6 e H-7, que se sobrepõem, com $J = 3,73$ Hz.

Figura 35 – Espectro de RMN de ¹³C do composto 3-fenil-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (**11ab**) à 150 MHz, em DMSO-*d*₆.



Com relação ao espectro de RMN de ¹³C desacoplado obtido para o composto **11ab** (Figura 35), foi possível observar o sinal referente ao carbono C-8a, em 157,88 ppm, carbono vizinho ao átomo de nitrogênio da piridina e do anel carbocíclico insaturado; em 156,90 ppm, apresenta-se o sinal referente ao carbono C-9a, carbono este vizinho aos átomos de nitrogênio da piridina e do isoxazol. Os demais carbonos referentes ao anel piridínico C-9a e C-8a

encontram-se em 143,06 e 108,83 ppm, respectivamente; e em 145,27 ppm o sinal referente ao carbono C-4, carbono ligado ao átomo de nitrogênio (NH₂).

Além disso, os sinais, com menor deslocamento químico, pertencentes aos carbonos C-5, C-8, C-7 e C-6, referentes à porção carbocíclica, com deslocamentos químicos de 32,79, 23,11, 22,40 e 22,08 ppm, respectivamente.

Os dados e os espectros de RMN de ¹H e ¹³C dos demais compostos **11** encontram-se nos anexos desta tese, cujas variações nos deslocamentos químicos encontradas para os demais compostos foram atribuídas levando em consideração o efeito do substituinte R, os quais demonstraram pequenas variações.

3.3.5 Atividade inibitória *in vitro* de AChE e BChE

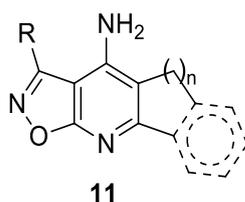
Devido à similaridade estrutural dos compostos **11aa-gb** com medicamentos inibidores das enzimas colinesterásicas, como descrito para os compostos **8**, e como já demonstrado por Cherif e col.⁵⁸ que as moléculas **11ab** e **11ac**, ao qual percebeu-se também que os análogos de THA substituídos pelo substituinte R = C₆H₅, demonstraram uma boa e seletiva atividade anti-BChE, verificou-se a atividade inibitória frente à AChE e BChE da nova série de compostos sintetizadas **11**, aril substituídas.

Os ensaios de inibição das enzimas colinesterásicas demonstraram que os novos híbridos de tacrina **11**, apresentaram uma baixa atividade inibitória de AChE e BChE, sendo exceção os compostos **11aa**, **11ad** e **11gb**, que apresentaram % de inibição para BChE interessantes (Tabela 8).

Com os dados de % de inibição para BChE, percebeu-se que o tamanho da porção carbocíclica não foi um fator de relevância para inibição, pois quando se comparam os valores de **11aa-da**, percebeu-se que, grupos menores e mais volumosos ligado ao composto **11** (derivado de cicloentanona – **11aa** – e tetralona – **11ad**) foram os compostos que demonstraram uma inibição enzimática elevada (% de inibição para BChE de 57,71 e 79,89, respectivamente), sugerindo que a inibição de BChE não está diretamente afetada pelo tamanho das porções de cicloalcano para os compostos **11**.

Ao avaliar-se ainda a influência do substituinte R pode-se observar que o composto **11gb** (R = 2-tienil) apresentou elevada atividade inibitória, com % de inibição para BChE de 71,85.

Em geral, as moléculas testadas têm valores atividade inibitória aproximadas a outros derivados de tacrina encontrados na literatura.⁵⁸

Tabela 8 – Ensaio de atividade inibitória de AChE e BChE para os compostos **11aa-gb**.

Composto (25 μ M)	R	n	% de inibição	
			AChE ^a	BChE ^b
11aa	C ₆ H ₅	1	25.86	57.71
11ab	C ₆ H ₅	2	18.57	6.70
11ac	C ₆ H ₅	3	1.03	14.08
11ad	C ₆ H ₅	dihidronaftaleno	0.86	79.89
11bb	4-MeC ₆ H ₄	2	10.84	4.10
11cb	4-FC ₆ H ₄	2	10.01	5.20
11db	4-BrC ₆ H ₄	2	0.00	4.30
11eb	4-NO ₂ C ₆ H ₄	2	0.86	13.52
11fb	5-Cl-fur-2-il	2	0.00	22.30
11gb	2-tienil	2	20.05	71.85
Tacrina*	-	-	92.68	97.68

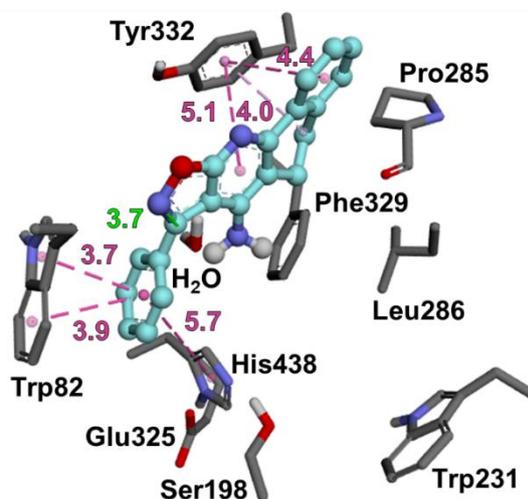
^a AChE de eritrócitos humanos. ^b BChE de Plasma de sangue humano. *Tacrina à 6.25 μ M.

3.3.6 Análise *in silico* de AChE e BChE por *docking molecular*

As simulações de *docking molecular* foram aplicadas para entender as interações de ligação dos ligantes com os alvos macromoleculares. Nesse sentido, como percebido pela avaliação da capacidade inibitória dos compostos **11** utilizando as enzimas AChE e BChE humana, infelizmente nenhum dos compostos inibiram significativamente a AChE, mas por outro lado, a molécula **11ad** inibiu 80% da atividade da BChE. A simulação de *docking* do composto **11ad** demonstrou que este se liga no sítio ativo da BChE através de interações hidrofóbicas com os resíduos Trp82, Tyr332 e His438, além de uma ligação de hidrogênio com uma molécula de água (Figura 36), de maneira semelhante a outros inibidores.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸

Figura 36 – Resultados de *docking molecular* de BChE para os compostos **11ad**. Apenas os principais resíduos envolvidos nas interações são mostrados como bastões. Os inibidores são mostrados no modelo bola e

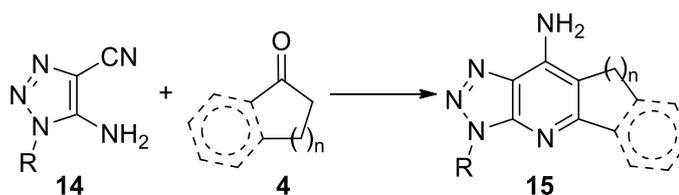
bastão, com os átomos de carbono na cor ciano. As ligações H e as interações hidrofóbicas são mostradas como linhas pontilhadas verdes e rosa, respectivamente, com as distâncias em Å.



3.4 REAÇÕES DE 5-AMINO-1-ALQUI(BENZIL/ARIL)-1*H*-1,2,3-TRIAZOL-4-CARBONITRILAS (**15a-k**) COM CICLO-ALCANONAS (**4a-e**)

Para a realização do terceiro objetivo deste trabalho e considerando dados já relatados na literatura, em que, amino-1,2,3-triazóis-carbonitrilas utilizados para a construção de novos heterociclos com potenciais propriedades biológicas e sintéticas,^{7,9,109,11,16,36-39,42,43} nesta seção avaliou-se o potencial sintético das 5-amino-1-alkil(benzil/aril)-1*H*-1,2,3-triazolil-4-carbonitrilas (**15a-k**) frente à diferentes ciclo-alcansonas (**4a-e**), visando o isolamento e elucidação estrutural das 3/10-alkil(benzil/aril)-hidro-[1,2,3]triazoloquinolinaminas/piridinaminas (**15**) (Esquema 22).

Esquema 22



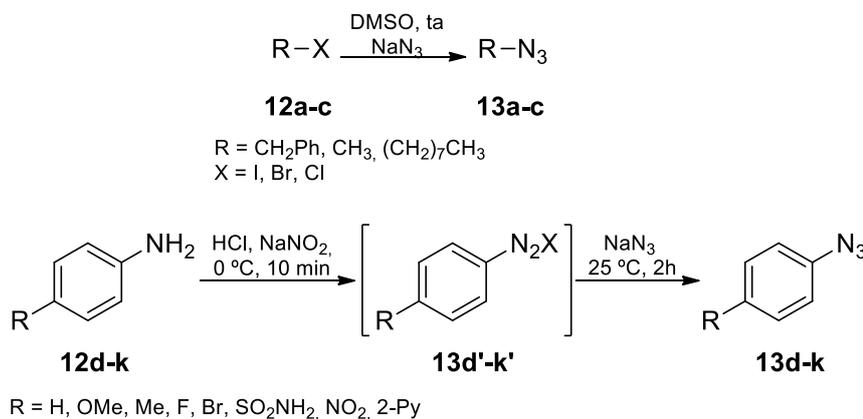
R = alkil, aril, heteroaril
n = 1, 2, 3, 5,6-dihidronaftaleno

3.4.1 Síntese de 5-amino-1-alqui(benzil/aryl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrilas (**14a-k**)

Como parte do terceiro objetivo deste trabalho, inicialmente realizou-se a síntese dos diferentes precursores 5-amino-1-alqui(benzil/aryl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrilas (**14a-k**).

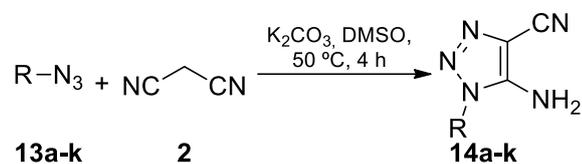
Inicialmente se fez necessária a obtenção das azidas arílicas, benzílicas e alquílicas. Desta forma, as azidas benzílicas e alquílicas utilizadas neste trabalho foram obtidas através da reação substituição nucleofílica alifática com seus respectivos cloretos ou brometos com azida de sódio utilizando DMSO como solvente a temperatura ambiente, seguindo metodologia descrita na literatura.¹¹⁰ As aril azidas, por sua vez, foram sintetizadas através da reação de formação de sal de diazônio seguido de substituição por azida de sódio em água, seguindo metodologia descrita na literatura (Esquema 23).¹¹¹ Em ambos os casos as azidas sintetizadas foram obtidas em rendimentos similares a literatura e utilizadas sem prévia purificação.

Esquema 23



De posse das azidas orgânicas, foram sintetizados os precursores derivados de triazóis de interesse para o trabalho, sendo obtidos conforme descrito na literatura^{103,112}, em que, quantidades equimolares da azida orgânica (**13a-k**) e malononitrila (**2**) foram dissolvidos em DMSO, juntamente com 3 mmol de K₂CO₃ anidro e a mistura foi agitada a 40-50 ° C por 4h . Após decorrido o tempo reacional, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente, vertida em água fria e o conteúdo filtrado sob pressão reduzida. O produto foi então purificado por recristalização em etanol, com rendimentos condizentes com a literatura, cujos compostos obtidos foram ainda identificados por ponto de fusão e RMN ¹H (Esquema 24). Aqueles que são inéditos e não possuem seus dados descritos, encontram-se apresentados na seção experimental desta tese.

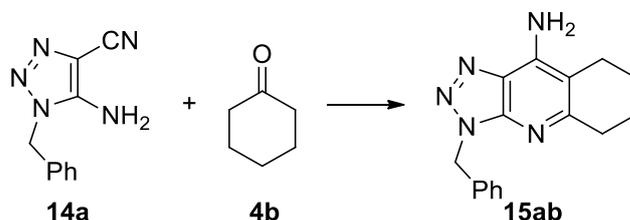
Esquema 24.



3.4.2 Síntese de 3/10-alkil(benzil/aryl)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (15)

Visando a síntese da série de 3-alkil(benzil/aryl)-hidrociclo-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas/piridinaminas (**15**), descreve-se inicialmente a otimização das condições reacionais, buscando-se obter o melhor rendimento a partir da rota sintética proposta. Inicialmente foram utilizados os compostos **13a** (R= CH₂C₆H₅) e **4b** (n = 2) como material de partida, para estabelecer a melhor condição reacional, para a obtenção dos novos compostos **15**.

Baseado em procedimentos experimentais descritos na literatura,^{20,21,47,48,85,113} inicialmente foram realizados testes para uma escolha otimizada do solvente, do ácido de Lewis e da estequiometria mais adequada para esta transformação química (Tabela 9).

Tabela 9 – Otimização das condições reacionais para a síntese dos compostos **15**

Entrada ^a	14a (mmol)	4b (mmol)	Tolueno (mL/ mmol)	Ácido de Lewis (mmol)	Rendimento ^b 15ab (%)
1	1	1	1 mL	AlCl ₃ (1)	40
2	1	2	1 mL	AlCl ₃ (1)	20
3	1	1	2 mL	AlCl ₃ (1)	20
4	1	1	1 mL	AlCl ₃ (2)	57
5	1	1	1 mL	AlCl ₃ (3)	40
6 ^c	1	1	1 mL	AlCl ₃ (2)	d
7	1	1	1 mL	InCl ₃ (2)	15
8	1	1	1 mL	FeCl ₃ (2)	d
9	1	1	1 mL	BF ₃ .OEt ₂ (2)	d
10	1	1	1 mL	ZnCl ₂ (2)	18
11 ^c	1	1	1 mL	AlCl ₃ (1)	36

^a Condição reacional: (1) 110 °C, 24 h; (2) Sol. aq. NaOH 2M, 110 °C, 24 h. ^b Rendimento isolado; ^c Reação realizada por irradiação de microondas. ^d Degradação dos materiais de partida e obtenção apenas do intermediário não ciclizado; ^e Reação realizada sob atmosfera de argônio.

Inicialmente foi utilizada a mesma metodologia descrita na literatura,⁸⁵ empregando-se uma quantidade equimolar (1 mmol) dos materiais de partida 5-amino-1-alkil(benzil/aril)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrila (**14a**) e cicloalcanona (**4b**), assim como 1 mmol de AlCl₃ como ácido de Lewis, utilizando 1 mL/mmol de tolueno como solvente, em que se obteve um rendimento de 40%, para o composto **15ab**.

Visando o aumento de rendimento, realizou-se testes dobrando individualmente a estequiometria dos materiais de partida e de AlCl₃, além do volume de solvente utilizado (Tabela 9, entradas 2-4), em que, percebeu-se um decréscimo no rendimento quando foram elevadas as quantidades de cicloalcanona (**4b**) e do volume de solvente, ambos 20%, já, quando

a estequiometria de AlCl_3 , foi dobrada, o rendimento se estabeleceu em 57%. Desta forma, verificou-se se 3 mmol de AlCl_3 (Tabela 9, entrada 5), teriam um efeito positivo no acréscimo de rendimento, fato este que não se demonstrou positivo, decaindo o valor de rendimento para 40%.

Estruturas semelhantes às desenvolvidas neste trabalho mostram a utilização da irradiação por microondas como possibilidade de redução do tempo de reação,^{58,86-88} portanto, utilizando a mesma relação estequiométrica, quando realizada via aquecimento térmico convencional, em 30 min; no entanto, o resultado foi insatisfatório, resultando na degradação dos materiais de partida e obtendo apenas o intermediário não ciclizado (Tabela 9, entrada 6).

Foi avaliado ainda diferentes tipos de ácido de Lewis (AlCl_3 , InCl_3 , FeCl_3 , $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ e ZnCl_2 , Tabela 9, entradas 5 e 7-10, respectivamente) na síntese do composto **15ab**, ao qual, dos ácido de Lewis testados, o AlCl_3 foi o que se mostrou, novamente, mais eficiente na síntese do composto de interesse, com rendimento de 57%. Por fim, considerando a possibilidade da reação entre a umidade do ar com os ácidos de Lewis, avaliou-se a presença de atmosfera de argônio, como fato que poderia ser positivo na elevação de rendimento, porém tal efeito não foi observado (Tabela 9, entrada 11).

Desta forma, estabeleceu-se que a melhor condição reacional para a obtenção dos compostos **16**, foi através da metodologia empregando quantidades equimolares de partida 5-amino-1-alkil(benzil/aryl)-1H-1,2,3-triazol-4-carbonitrila (**14a**) e cicloalcanona (**4b**), 2 mmol de AlCl_3 e na presença de 1 mL/mmol de tolueno como solvente, sob agitação e aquecimento de 110 °C por 24 h, seguido da adição de uma solução de NaOH 2M (6 mL/mmol), por adicionais 24 h à 110 °C. Assim, esta metodologia foi estendida para a obtenção dos demais compostos da série **15**, variando substituintes R e o número de unidades metilênicas (n) da porção carbocíclica, cujos rendimentos variaram de 8-57% (Tabela 10).

A variação dos substituintes R e número de unidades metilênicas (n) na porção carbocíclica foram realizadas com o intuito de avaliar a influência do efeito do substituinte e do tamanho das cadeias metilênicas na atividade anti-ChE.

Se percebeu fato semelhante ocorrido aos isoxazolo derivados (**11**), seção 1.3.2 desta tese, porém, quando se utilizou o mesmo precursor 1-tetranola (**4c**), a presença de sistemas policiclo na unidade metilênicas diminuíram o valor de rendimento (**15ad**-4%) para os derivados de triazol, e quando utilizado sistemas poliheterocíclicos, como o precursor espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7**), não se percebeu a formação do composto de interesse **15**, podendo ser justificado pelo mesmo fato apresentado na seção 1.3.2, baseados em fatos descritos na literatura.^{61,62}

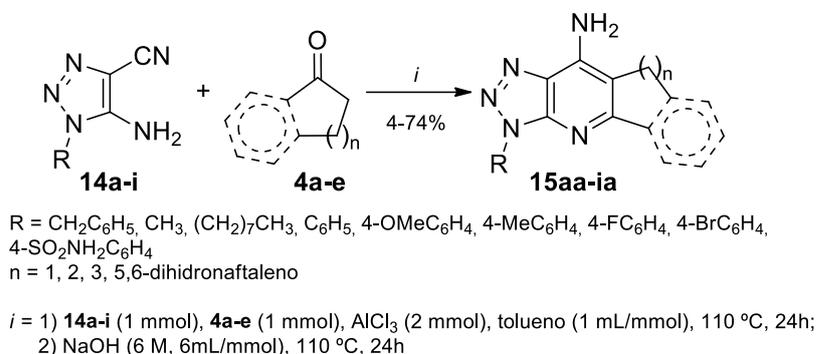
A presença de grupos retiradores de elétrons ligados à porção 1,2,3-triazol também influenciou consideravelmente o valor de rendimento, onde se pode observar que quando há substituintes halogenados, como 4-FC₆H₄ e 4-BrC₆H₄, os valores diminuem para 27 e 25%, respectivamente, e quando fortes grupos retiradores de eletrons estão presentes, como 4-SO₂NH₂C₆H₄, 4-NO₂C₆H₄ e 2-Py, os valores diminuem para 8, 0 e 0%, respectivamente. Esse fato pode ser devido a uma possível diminuição da nucleofilicidade do grupo amino, responsável pelo primeiro ataque ao grupo carbonila, proposto no mecanismo de obtenção de compostos análogos à tacrina.^{64,114}

3.4.3 Purificação dos compostos 3/10-alkuil(benzil/aril)-[1,2,3]triazoloquinolinaminas(piridinaminas) (15)

Para a purificação dos compostos **15**, inicialmente, após transcorrido o tempo de reacional, a mistura foi arrefecida até a temperatura ambiente e então extraída com clorofórmio (3 x 25 mL), lavada com água destilada (2 x 50 mL) e com uma solução aquosa de cloreto de sódio saturada (50 mL). A fase orgânica foi então tornada anidra com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por recristalização, empregando etanol como solvente, cujas soluções resultantes foram submetidas à temperatura de -7 a 0 °C durante o período de um dia. Após, os precipitados foram filtrados sob pressão reduzida, lavados com etanol gelado e tornado anidros a pressão reduzida, resultando em sólidos marrons.

Os valores de rendimento, ponto de fusão e características físicas dos compostos obtidos nesta tese encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10 – 3(10)-alquil(benzil/aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas (piridinaminas) (**15**): Características físicas, Pontos de fusão, rendimentos e HRMS.



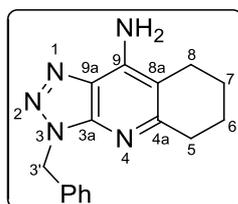
Composto	R	n	Rend. ^a (%)	Característica física	P.F. (°C)	Fórmula Molecular	HRMS (g/mol)
							Cal./Exp. [M+H] ⁺
15aa	CH ₂ Ph	1	38	Sólido bege	184-189	C ₁₅ H ₁₅ N ₅	266.1400/266.1406
15ab	CH ₂ Ph	2	57	Sólido marrom	214-217	C ₁₆ H ₁₇ N ₅	280.1557/280.1559
15ac	CH ₂ Ph	3	40	Sólido branco	180-184	C ₁₇ H ₁₉ N ₅	294.1713/294.1711
15ad	CH ₂ Ph	dihidronaftaleno	4	Sólido marrom	124-126	C ₂₀ H ₁₇ N ₅	328.1557/328.1565
15ba	CH ₃	2	74	Sólido bege	189-192	C ₁₀ H ₁₃ N ₅	204.1244/204.1250
15ca	(CH ₂) ₇ CH ₃	2	52	Sólido bege	88-91	C ₁₇ H ₂₇ N ₅	302.2339/302.2347
15da	C ₆ H ₅	2	42	Sólido vermelho	173-176	C ₁₅ H ₁₅ N ₅	266.1400/266.1407
15ea	4-OMeC ₆ H ₄	2	42	Sólido bege	190-193	C ₁₆ H ₁₇ N ₅ O	296.1506/296.1511
15fa	4-MeC ₆ H ₄	2	44	Sólido rosa	193-196	C ₁₆ H ₁₇ N ₅	280.1557/280.1564
15ga	4-FC ₆ H ₄	2	27	Sólido bege	177-180	C ₁₅ H ₁₄ FN ₅	284.1306/284.1312
15ha	4-BrC ₆ H ₄	2	25	Sólido laranja	201-204	C ₁₅ H ₁₄ BrN ₅	344.0505/344.0498
15ia	4-SO ₂ NH ₂ C ₆ H ₄	2	8	Sólido bege	210-213	C ₁₅ H ₁₆ N ₆ O ₂ S	345.1128/345.1140

^aRendimento isolado.

3.4.4 3(10)-Alquil(aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (**15**): Identificação Estrutural por Espectroscopia de RMN e Difração de Raios-X

A identificação dos compostos **16** foi realizada através das técnicas de RMN de ¹H e ¹³C. Também foi necessário a utilização da espectroscopia de RMN bidimensional de ¹³C-¹H HMBC e HSQC para uma correta atribuição dos deslocamentos químicos (sinais) relativos aos compostos obtidos. Em sequência, foi realizado da análise por difração de raio-X em monocristal de um exemplo da série, para a identificação estrutural inequívoca das moléculas inéditas **15**. Nesta seção, serão apresentados e discutidos os dados de RMN para o composto **15ab** (R= CH₂C₆H₅, n = 2, Figura 37), como um exemplo estrutural selecionado para a atribuição de sinais da série **15**. Os dados espectroscópicos de RMN para as demais moléculas da série **15** serão apresentados na parte experimental e nos anexos desta tese.

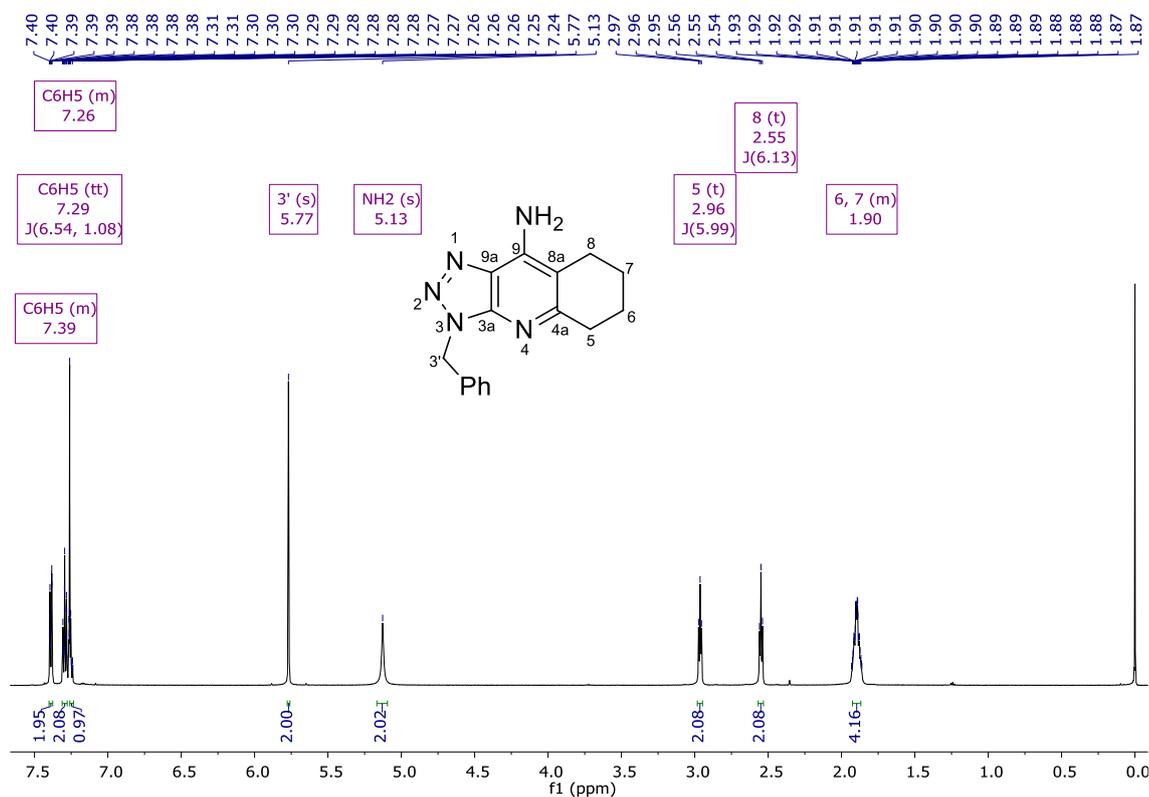
Figura 37 – Fórmula estrutural e a numeração dos átomos principais para o heterociclo **15ab**



3.4.4.1 RMN de ^1H , ^{13}C , ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC de 3(10)-alquil(aril)-[1,2,3]triazoloquinolinaminas(piridinaminas) (**15**)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para as séries de compostos **15ab** foram registrados em CDCl_3 utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. As atribuições dos sinais foram baseadas em dados publicados na literatura para compostos semelhantes^{20,21,47,48,85,113} e em experimentos de correlação bidimensionais, ou seja, RMN 2D de ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC.

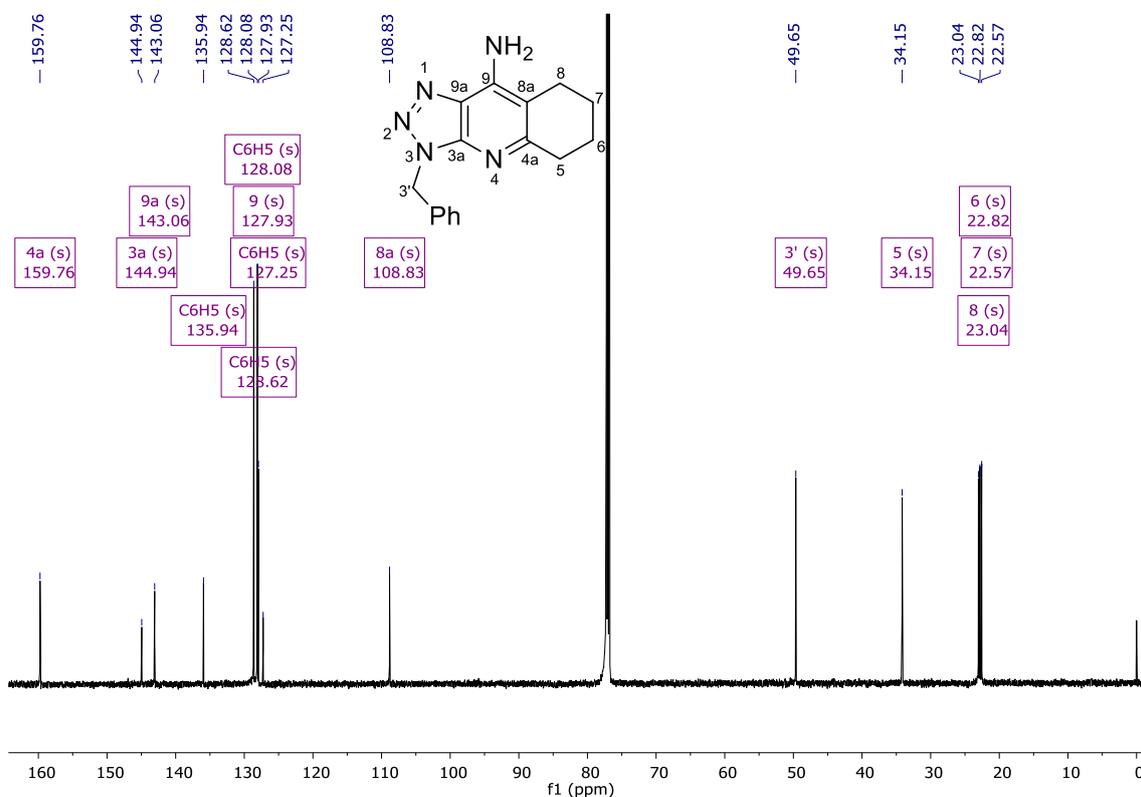
Figura 38 – Espectro de RMN de ^1H , do composto 3-benzil-5,6,7,8-tetrahydro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (**15ab**) à 600 MHz, em CDCl_3 .



Pode-se observar no espectro de RMN de ^1H da 3-benzil-5,6,7,8-tetraidro-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]quinolin-9-amina (**15ab**) (Figura 38) que nas regiões de 7,39, 7,29 e 7,26 ppm os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos do substituinte $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$, ligados à porção benzila do triazol. Ainda, referente à esta porção do composto, observa-se em 5,77 ppm os hidrogênios H-3' (CH_2), com na forma de um simpleto. A região de 5,13 ppm apresentou um simpleto alargado característico referente ao deslocamento dos dois hidrogênios ligados ao átomo de nitrogênio (NH_2).

Nas regiões de campo mais alto, observa-se ainda, três sinais referentes a 8 hidrogênios (4 unidades CH_2), da porção carbocíclica, onde: em 2,96 ppm tem-se um tripleto, referente aos dois hidrogênios H-5, com $J = 5,99$ Hz; em 2,55 ppm um tripleto, referente aos dois hidrogênios H-8, com $J = 6,13$ Hz; e em 1,90 ppm um multipletto, referente aos quatro hidrogênios H-6 e H-7, que se sobrepõem.

Figura 39 – Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3-benzil-5,6,7,8-tetraidro-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]quinolin-9-amina (**15ab**) à 150 MHz, em CDCl_3 .

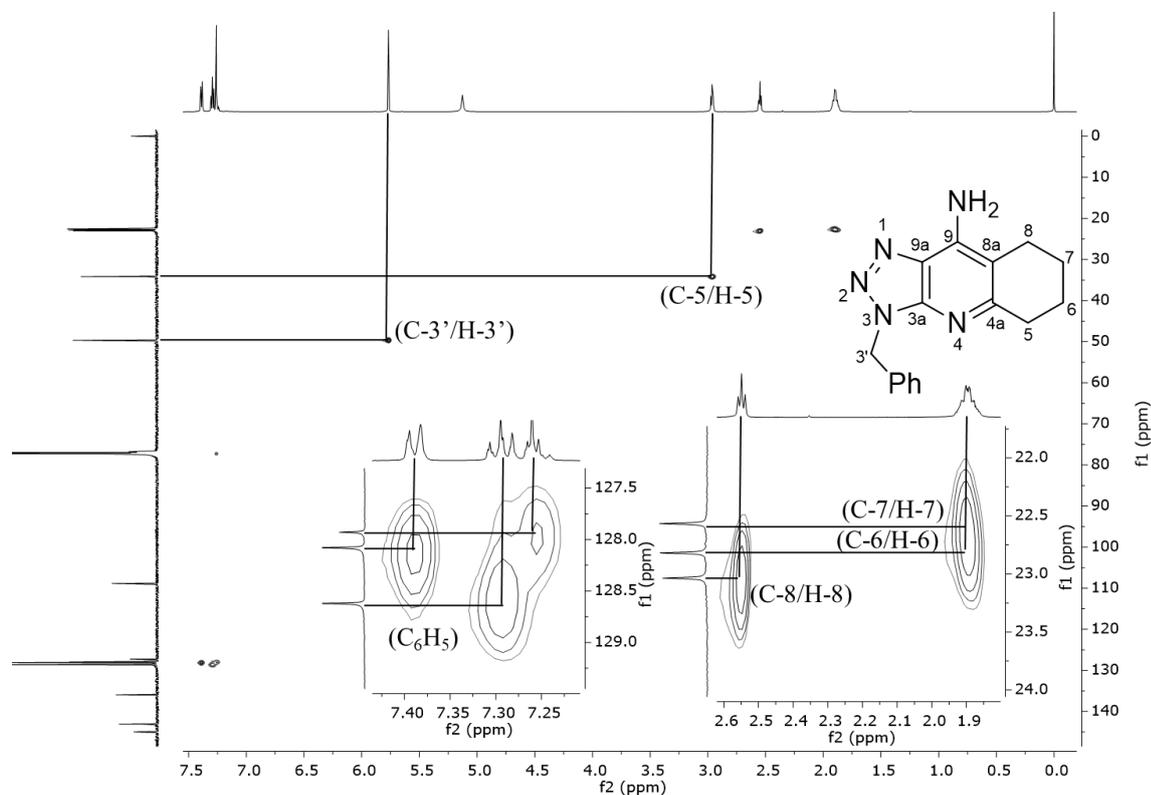


No espectro de RMN de ^{13}C desacoplado obtido para o composto **15ab** (Figura 39) foi observado o sinal referente ao carbono C-4a em 159,76 ppm, em 144,94 o carbono C-3a, ambos mais desblindados por estarem vizinhos ao átomo de nitrogênio da piridina. Em 143,06 e 108,83 ppm, encontram-se os demais carbonos C-9a e C-8a, respectivamente, e em 127,93 ppm o sinal referente ao carbono C-9, carbono ligado ao átomo de nitrogênio (NH_2), sendo estes referentes aos carbonos pertencentes ao anel da piridina. E em 135,94, 128,62, 128,08 e 127,25 ppm encontram-se ainda os sinais dos carbonos aromáticos pertencentes aos substituintes $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$.

Em campo mais alto, observa-se os sinais referentes aos carbonos CH_2 C-3' em 49,65 ppm, ligados à porção benzila do triazol, e os carbonos C-5, C-8, C-6 e C-7, referentes à porção carbocíclica, com deslocamentos químicos de 34,15, 23,04, 22,82 e 22,57 ppm, respectivamente.

De modo a complementar a atribuição dos sinais nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foi realizado um espectro de RMN em duas dimensões de HSQC de modo a atribuir os carbonos hidrogenados do composto **15ab**.(Figura 40)

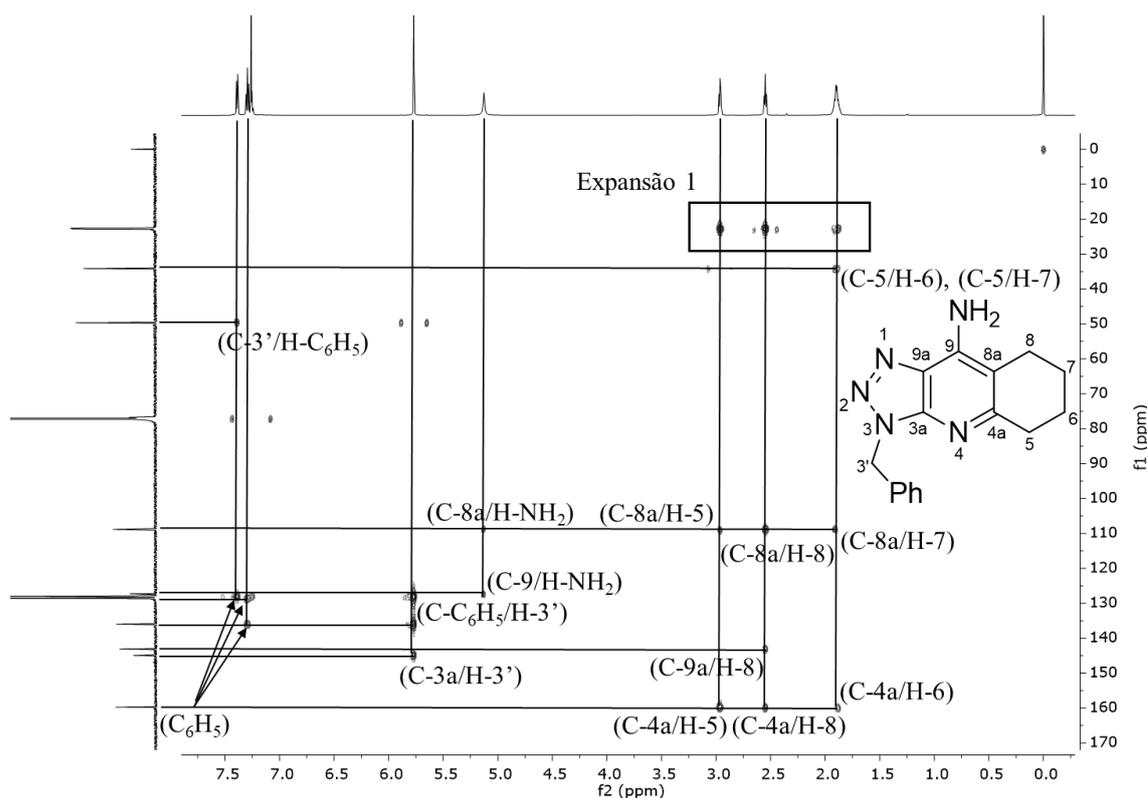
Figura 40 – Espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HSQC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto 3-benzil-5,6,7,8-tetrahydro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (**15ab**)



No espectro de HSQC (Figura 40) observa-se a interação entre o simpleto em 5,77 ppm referente aos hidrogênios H-3' com seu respectivo carbono C-3' em 49,65 ppm. Em campo mais alto, em ambos os espectros (^1H e ^{13}C), foi possível observar também a confirmação dos sinais referentes à porção carbocíclica da estrutura, tendo as interações dos sinais referentes aos H-5, 6, 7 e 8, com seus respectivos carbonos. E fica demonstrado também a interação entre os hidrogênios e carbonos respectivos da porção aromática do substituinte $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$.

Desta forma, para complementar a atribuição dos sinais foi realizado uma análise de RMN em duas dimensões HMBC que correlaciona hidrogênios e carbonos a duas e três ligações de distância (Figura 41). O espectro para o composto **15ab** bem como as regiões do espectro foram expandidas para uma maior clareza da análise.

Figura 41 – Espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HMBC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto 3-benzil-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (**15ab**)



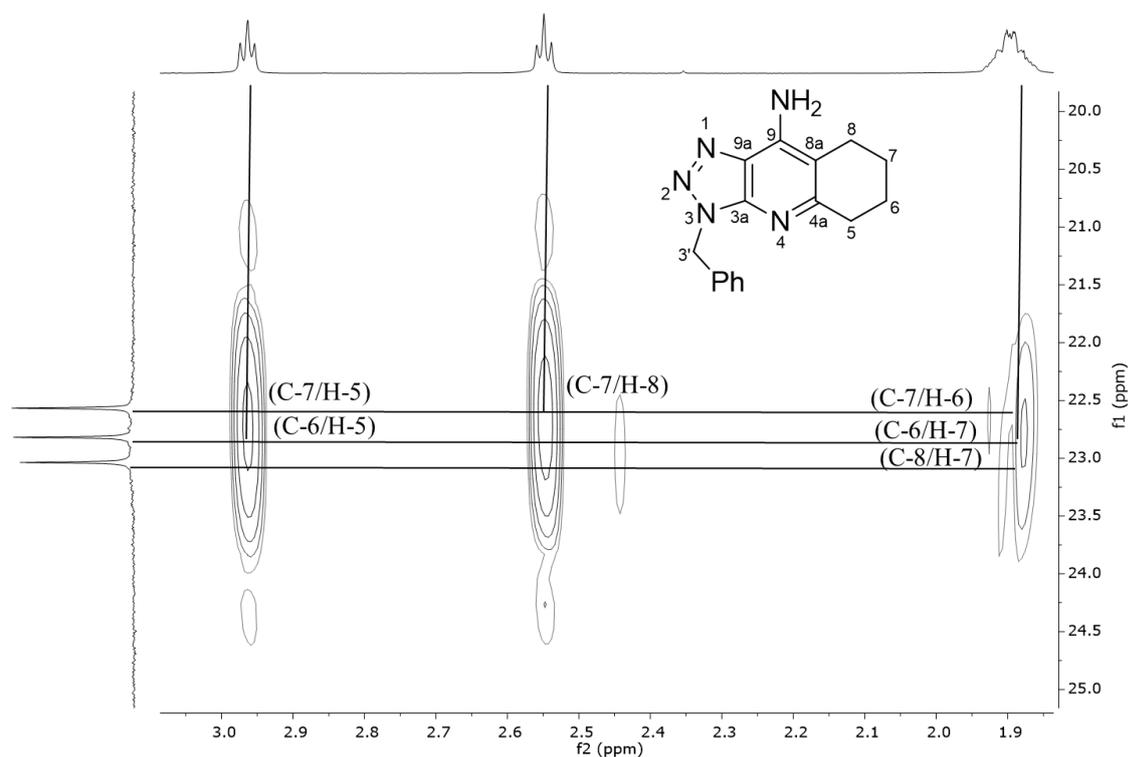
No espectro de HMBC (Figura 41) é possível observar o acoplamento dos hidrogênios aromáticos pertencentes ao substituinte $\text{R} = \text{C}_6\text{H}_5$ com o carbono C-3', além dos acoplamentos entre os hidrogênios e carbonos da porção aromática do substituinte R. É possível se observar

o acoplamento entre os hidrogênios H-3' com os carbonos aromáticos pertencentes ao substituinte R = C₆H₅ e, a três ligações de distância, com o carbono C-3a.

Observa-se ainda, os acoplamentos entre os hidrogênios, ligados ao átomo de nitrogênio do grupo amina (NH₂) com os átomos de carbonos C-9a a duas ligações de distância e três ligações, o acoplamento com o carbono C-8a.

Foi possível observar também a interação entre os hidrogênios da porção carbocíclica: H-5, com os carbonos C-4a e C-8a, a duas e três ligações de distância, respectivamente; H-8, com os carbonos C-4a, C-8a e C-9a; H-7 com o carbono C-8a, a duas ligações; e H-6 com o carbono C-4a, a duas ligações.

Figura 42 – Expansão 1 do espectro de RMN 2D ¹³C-¹H HMBC, 600 MHz, em CDCl₃, do composto 3-benzil-5,6,7,8-tetrahydro-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]quinolin-9-amina (**15ab**)



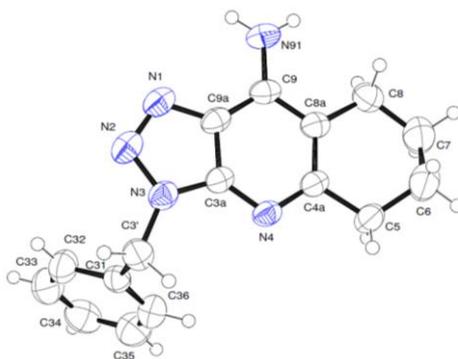
Na expansão 1 (Figura 42) é possível observar os acoplamentos entre os hidrogênios e carbonos da porção carbocíclica, onde, o hidrogênio H-5 acopla com os carbonos C-6 e C-7, a duas e três ligações, respectivamente; o hidrogênio H-8 acopla com o carbono C-7, a duas e três ligações; e os hidrogênios que se encontram sobrepostos, H-6 e H-7, interagem com os carbonos C-7 (H-6), C-6 (H-7) e C-8 (H-6 e H-7).

Os dados e os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos demais compostos **15** encontram-se nos anexos desta tese, cujas pequenas variações nos deslocamentos químicos encontradas para os demais compostos foram atribuídas levando em consideração o efeito do substituinte R.

3.4.4.2 Análise por Difração de Raio-X em monocristal para o composto 3-benzil-5,6,7,8-tetrahidro-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]quinolin-9-amina (**15ab**)

De modo a complementar a caracterização das 3(10)-alquil(aril)-[1,2,3]triazoloquinolinaminas(piridinaminas) (**15**), foi realizada a determinação estrutural por difração de raio-X em monocristal para o composto **15ab**, visando determinar a estrutura molecular e conformação real deste composto em fase sólida. Através dos monocristais obtidos para o composto **15ab**, gerados através da evaporação lenta em etanol, à temperatura ambiente, foi possível a aquisição dos dados cristalográficos do composto **15ab** e a elucidação estrutural do mesmo, conforme pode-se verificar no ORTEP apresentado na Figura 43.

Figura 43 – ORTEP obtido para o composto 3-benzil-5,6,7,8-tetrahidro-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]quinolin-9-amina (**15ab**)



A partir dos dados de refinamento do composto **15ab**, pôde-se confirmar a obtenção do composto de interesse, através da confirmação da formação do sistema híbrido constituído pela fusão direcionada entre um 1,2,3-triazol e uma piridina conforme projetado teoricamente. De posse dos dados cristalográficos foi possível verificar que o ângulo de torção N2-N3-C3a-N4 para o composto **15ab** é de $0,7^\circ$, o que indica que os anéis triazólicos e piridínicos apresentam coplanaridade. A coplanaridade também é confirmada pelo ângulo diedro de $0,9^\circ$ entre os átomos do anel piridínico N4-C3a-C9a-N1. O composto **15ab** apresenta um ângulo diedro

observado de $22,55^\circ$ para a sequência atômica N4-C4a-C5-C6, indicando que o anel piridina fundido a C4a-C8a do anel ciclohexeno não aromático não é coplanar à porção triazolopiridina.

Os dados cristalográficos mais detalhados para análises de maior interesse estrutural encontram-se nos anexos desta tese.

3.4.5 Atividade inibitória *in vitro* de AChE e BChE

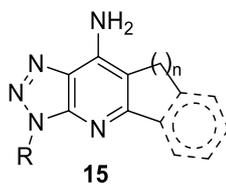
Devido à similaridade estrutural dos compostos **15aa-ib** com medicamentos inibidores das enzimas colinesterásicas, como descrito para os compostos **8**, e com o intuito de verificar a capacidade inibitória da nova série de compostos sintetizadas **15**.

Os ensaios de inibição das enzimas colinesterásicas demonstraram que os novos híbridos de tacrina **15** contendo substituintes R na posição 3 mais volumosos apresentaram uma atividade inibitória de AChE reduzida (Tabela 11 e Tabela 12).

De fato, o composto **15bb**, um derivado da ciclohexanona, que possui um substituinte R = CH₃ na porção triazólica, demonstrou ser o melhor inibidor de AChE da série, com % de inibição de 85,10 e IC₅₀ de 12,01 μM. Embora as porções cicloalcano de **15aa-ib** pareçam ser menos importantes para a atividade de AChE do que os substituintes R, o grupo volumoso ligado ao composto **15ad** (derivado de tetralona) mostrou uma inibição enzimática mais baixa (% de inibição de 5,91).

Avaliando a inibição da BChE, pode-se observar que o composto **15ib** apresentou a melhor atividade de inibição, apesar de apresentar um substituinte R volumoso (R = *p*-NH₂SO₂C₆H₄). Além disso, percebeu-se que a inibição de BChE é afetada pelo tamanho das porções de cicloalcano para a sequência de compostos **15aa-ai**, sugerindo que, neste caso, a porção cicloalcano interfere claramente no potencial de inibição do BChE. O melhor inibidor de AChE, **15bb**, neste caso, não demonstrou uma inibição significativa de BChE. A mesma observação pode ser observada para o melhor inibidor de BChE **15ib**.

Possivelmente, essas observações podem estar relacionadas ao formato do sítio ativo AChE/BChE e ao modo de ligação das moléculas **15** nos respectivos sítios ativos.¹¹⁵ De fato, é bem conhecido que o sítio ativo da AChE é menor que o BChE, o que poderia explicar a causa dos compostos contendo substituintes mais volumosos serem melhores inibidores de BChE do que AChE.^{115,116} Em geral, as moléculas testadas têm valores de IC₅₀ na mesma faixa (μM) que outros derivados de tacrina publicados anteriormente.¹¹⁷

Tabela 11 – Ensaio de atividade inibitória de AChE e BChE para os compostos **15aa-ib**.

Composto (25 μ M)	R	n	% de inibição	
			AChE ^a	BChE ^b
15aa	CH ₂ Ph	1	10,68	88,89
15ab	CH ₂ Ph	2	19,53	19,52
15ac	CH ₂ Ph	3	10,13	14,59
15ad	CH ₂ Ph	dihidronaftaleno	5,91	79,13
15bb	CH ₃	2	85,10	22,04
15cb	(CH ₂) ₇ CH ₃	2	26,82	65,47
15db	C ₆ H ₅	2	6,83	20,24
15eb	4-OMeC ₆ H ₄	2	13,04	19,63
15fb	4-MeC ₆ H ₄	2	21,34	11,44
15gb	4-FC ₆ H ₄	2	11,23	78,44
15hb	4-BrC ₆ H ₄	2	13,29	65,06
15ib	4-SO ₂ NH ₂ C ₆ H ₄	2	30,98	94,46
Tacrina*	-	-	94,91	99,68

^a AChE de eritrócitos humanos. ^bBChE de Plasma de sangue humano. *Tacrina à 6,25 μ M.

Tabela 12 –Valores de IC₅₀ para ensaios de atividade inibitória de AChE e BChE para os compostos **15**.

Composto	R	n	IC ₅₀ AChE ^a	IC ₅₀ BChE ^b
15aa	CH ₂ Ph	1	nd	3,06 \pm 1,60 μ M
15ad	CH ₂ Ph	dihidronaftaleno	nd	4,53 \pm 2,58 μ M
15bb	CH ₃	2	12,01 \pm 1,36 μ M	nd
15cb	(CH ₂) ₇ CH ₃	2	nd	13,05 \pm 1,87 μ M
15gb	4-FC ₆ H ₄	2	nd	6,11 \pm 1,85 μ M
15hb	4-BrC ₆ H ₄	2	nd	12,15 \pm 1,90 μ M
15ib	4-SO ₂ NH ₂ C ₆ H ₄	2	40,35 \pm 2,02 μ M	1,78 \pm 1,20 μ M
Tacrina	-	-	49,38 \pm 0,80 nM	9,59 \pm 0,50 nM

^a AChE de eritrócitos humanos. ^bBChE de Plasma de sangue humano. IC₅₀ = concentração do inibidor que inibe 50% das atividades de AChE ou BChE (média \pm DP). nd = não determinado.

3.4.6 Análise *in silico* de AChE and BChE por *docking molecular*

As simulações de *docking molecular* foram aplicadas para entender as interações de ligação dos ligantes com os alvos macromoleculares. Nesse sentido, foram selecionados os compostos **15bb**, **15ib** (melhores inibidores), **15ab** (exemplo de inibidor fraco) e tacrina (controle positivo). **15bb** é a melhor inibição da AChE, entre as outras moléculas testadas, provavelmente porque sua cavidade de ligação e interações são semelhantes à tacrina (um clássico inibidor da AChE) (Figura 44), sugerindo que o tamanho da molécula desempenha um papel essencial na AChE. Alguns estudos já relataram observações semelhantes para derivados de tacrina.^{23,108,117} Ambas as moléculas interagem na parte inferior do sítio ativo da AChE, perto da tríade catalítica (Ser203, His447 e Glu334), fazendo interações hidrofóbicas com Trp86, Tyr124 e Tyr337. Esses resíduos têm sido relatados como importantes para a estabilização do complexo enzima-inibidor.^{107,108} A fração triazol de **15bb** tem o mesmo tipo de interação que a fração benzeno da tacrina (empilhamento π - π) e o grupo metil (posição 3) não apresentam nenhum impedimento estérico observável com o sítio ativo. Por outro lado, as moléculas **15ab** e **15ib**, que são maiores que **15bb**, possuem um modo de interação diferente, ligando-se no subsítio aniônico periférico (PAS), fazendo interações hidrofóbicas com o resíduo Trp286. Ambas as moléculas possuem uma interação de empilhamento π - π entre o triazol e os anéis indol, sugerindo desfavorável, uma vez que são inibidores fracos.

Para o BChE, apesar da interação **15ab** e **15bb** estar no mesmo sítio de interação que a tacrina (Figura 45), eles não são fortes inibidores do BChE como tacrina e **15ig**. Possivelmente, as interações de ligação de hidrogênio (*H-bonds*) entre a porção triazol e o resíduo Gly117 não são favoráveis, diminuindo a inibição de BChE. Por outro lado, **15ig** apresenta uma cavidade de ligação e interações distintas com BChE, apresentando interações hidrofóbicas com os resíduos Gly117, Thr120, Trp231, Leu286 e Phe329, além de *H-bonds* com Ile69 e uma molécula de água. Provavelmente a presença de um grupo doador de ligação H na posição para do anel benzênico, ou seja, a benzenossulfonamida, aumenta as interações com a enzima e conseqüentemente as inibe. De fato, foi relatado que a interação com Ile69 é importante para a inibição de BChE.^{118,119} As energias de ligação previstas (ΔG , em kcal/mol) para AChE (**15ab** = -8,6; **15bb** = -7,6; **15ib** = -8,2; tacrina = -7,9) e BChE (**15ab** = -9,4; **15bb** = -7,3; **15ib** = -9,3; tacrina = -8,2) não estão correlacionados com a atividade biológica, no entanto, indica que a posição de ligação prevista é termodinamicamente favorável. Em ambos os casos, simulações de *docking* de AChE e BChE, o inibidor de tacrina apresentou uma cavidade de ligação e interações de acordo com dados teóricos e experimentais anteriores,¹⁰⁶⁻¹⁰⁸ reforçando a precisão

do método aplicado neste estudo. Os dados aqui apresentados estão de acordo com um estudo anterior, no qual o análogo triazólico de tacrina e donepezil foi menos ativo contra AChE e BChE quando comparado com os medicamentos padrão.¹²⁰

Figura 44 – Resultados de *docking molecular* de AChE para os compostos **15ab** (A), **15bb** (B), **15ib** (C) e THA (D). Apenas os principais resíduos envolvidos nas interações são mostrados como bastões. Os inibidores são mostrados no modelo bola e bastão, com os átomos de carbono na cor ciano. As ligações H e as interações hidrofóbicas são mostradas como linhas pontilhadas verdes e rosa, respectivamente, com as distâncias em Å.

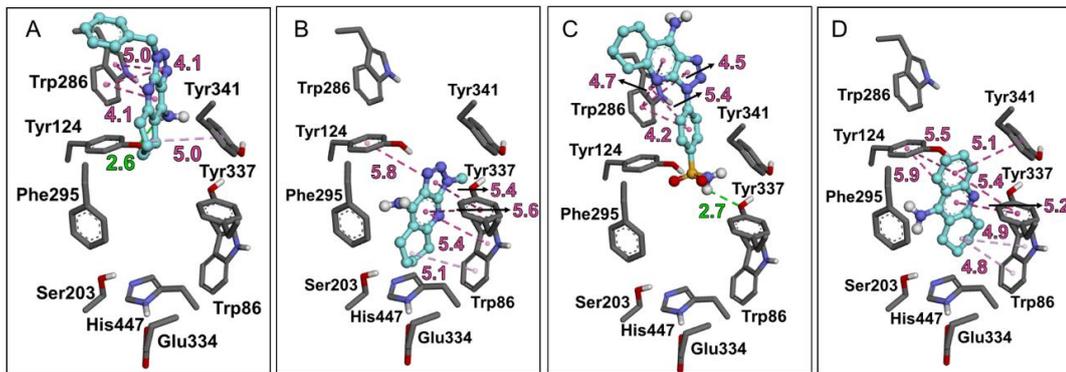
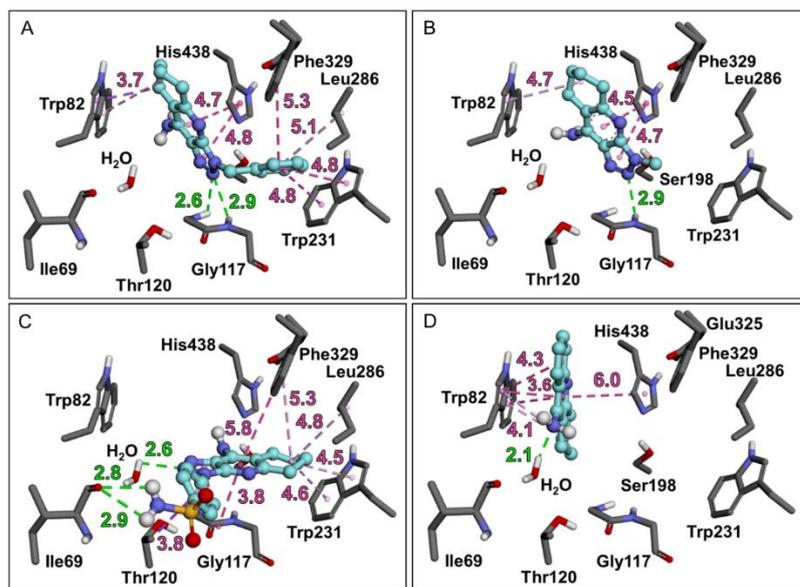


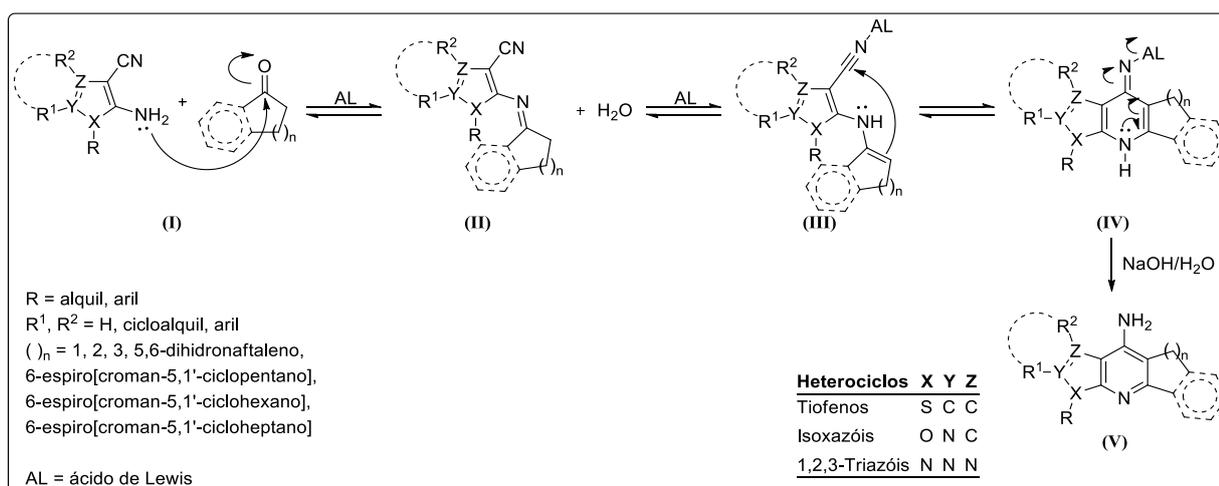
Figura 45 – Resultados de *docking molecular* de BChE para os compostos **15ab** (A), **15bb** (B), **15ib** (C) e THA (D). Apenas os principais resíduos envolvidos nas interações são mostrados como bastões. Os inibidores são mostrados no modelo bola e bastão, com os átomos de carbono na cor ciano. As ligações H e as interações hidrofóbicas são mostradas como linhas pontilhadas verdes e rosa, respectivamente, com as distâncias em Å.



3.5 MECANISMO REACIONAL GERAL PROPOSTO PARA A SÍNTESE DOS COMPOSTOS ANÁLOGOS À TACRINA (8, 11 E 15)

O mecanismo geral proposto, para a síntese dos compostos **8**, **11** e **15** (Esquema 25) é representado de forma genérica, porém abrange todas as séries de compostos análogos à tacrina desenvolvidas neste trabalho. Desta forma, através de mecanismos já propostos na literatura para esta classe de compostos^{21,46,121}, sugere-se inicialmente, uma adição nucleofílica do grupo amino, sobre o grupo carbonílico (**I**), formando uma imina (**II**), que por sua vez, está em equilíbrio com uma enamina (**III**). Em seguida, a nitrila ativada sofre uma adição intramolecular da enamina (**IV**), e essa após hidrólise alcalina da origem aos compostos de interesse **8**, **11** e **15** (**V**).

Esquema 25



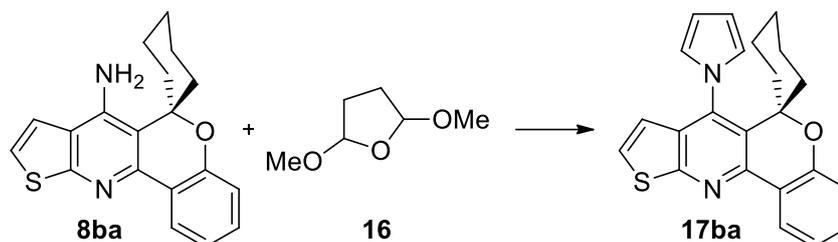
3.6 REAÇÕES DE DERIVATIZAÇÃO DOS COMPOSTOS 8

A fim de estudar a reatividade e potencializar as possíveis bioatividades dos compostos desenvolvidos nesta tese, nesta seção serão apresentados os compostos sintetizados a partir de reações de derivatização do grupo amino (NH₂) que está ligado diretamente ao anel piridínico, uma vez que, considerando compostos descritos na literatura, tais transformações em estruturas semelhantes às propostas, demonstraram um amplo espectro de atividades biológicas.^{27,122}

3.6.1 Síntese de 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (**17**)

Visando a síntese da série de 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (**17**), de acordo com o quarto objetivo apresentado nesta tese, descreve-se inicialmente a otimização das condições reacionais, buscando obter-se o melhor rendimento a partir da rota sintética proposta. Os compostos **17**, foram obtidos através de uma reação de Clauson-Kaas na presença de ácido acético glacial, entre as espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8aa-cd**) e 2,5-dimetóxi-tetrahydrofurano (2,5-DMOTHF, **16**), em que, inicialmente, foi utilizado o composto **8ba** (R, R¹ = H e n = 2) como materiais de partida, visando estabelecer a melhor condição reacional, para a obtenção dos novos compostos heterocíclicos híbridos **17aa-cd**.

Baseado em procedimentos experimentais descritos na literatura,²⁷ inicialmente foram realizados testes para escolha otimizada da estequiometria, volume de solvente e temperatura mais adequadas para esta transformação química (Tabela 13).

Tabela 13 – Otimização das condições reacionais para a síntese dos compostos **17**

Entrada ^a	2,5-DMOTHF (16) (mmol)	AcOH (mL/mmol)	Tempo (h)	Rendimento ^b (17ba) (%)
1	2	5	48	81
2	2	5	24	95
3	2	5	16	82
4	1,5	5	24	55
5	2	2	24	79

^a Condição reacional: **8ba** (1,0 mmol), 90 °C; ^b Rendimento obtido após purificação via coluna cromatográfica.

Inicialmente, com base em trabalhos desenvolvidos por Bonacorso e col.²⁷, os quais, utilizam as 7-amino-espiro[cromeno[4,3-*b*]quinolina-6,1'-cicloalcanos] como materiais de partida, na obtenção de novos pirróis derivados, foi empregado o uso de uma proporção 1:2 de espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8ba**) em relação ao 2,5-DMOTHF, em 5 mL de ácido acético glacial, à 90 °C pelo período de 48 h, em que se obteve um rendimento de 81%.

Devido ao longo período de tempo reacional estabelecido pela literatura, avaliou-se se, em um menor período, este seria satisfatório (Tabela 13, entradas 1-3), ao qual verificou-se que e 24 h, esta foi a que apresentou um maior acréscimo no valor de rendimento (95%).

Foram avaliados ainda, a estequiometria dos materiais de partida e o volume de solvente utilizados (Tabela 13, entradas 4 e 5), porém tais tentativas não mostraram-se efetivas para um acréscimo no rendimento.

Assim, de acordo com os procedimentos experimentais otimizados para a síntese dos compostos **17**, estabeleceu-se que a melhor condição reacional para a obtenção dos compostos **17**, foi através da metodologia que emprega uma proporção 1:2 de espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8aa-cd**) em relação ao 2,5-DMOTHF, sob agitação e aquecimento de 90 °C por 24 h Assim, esta metodologia foi estendida para a obtenção de uma série inédita de doze exemplares para os compostos **17**, variando substituintes R e R¹ e

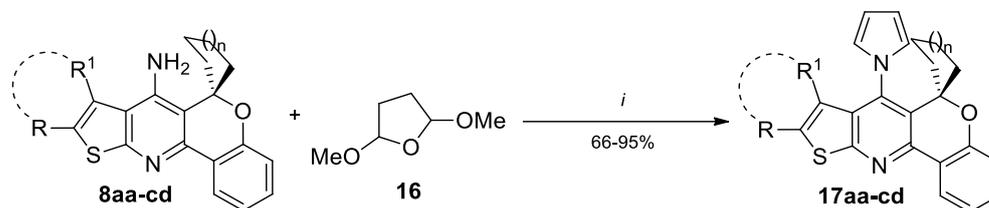
o número de unidades metilênicas (n) da porção espiro-carbocíclica. Os rendimentos, após o isolamento dos produtos, variaram na faixa de 66-95% (Tabela 14).

3.6.2 Purificação dos compostos 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (17)

Para a purificação os compostos **17**, inicialmente, após transcorrido o tempo de reacional, a mistura foi arrefecida até a temperatura ambiente e então extraída com clorofórmio (3 x 25 mL), lavada com água destilada (2 x 50 mL) e com uma solução aquosa de cloreto de sódio saturada (50 mL). A fase orgânica foi então tornada anidra com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel, empregando acetato de etila e hexano como eluentes e em proporções que variaram de acordo com o substituinte. As principais impurezas observadas foram a existência de traços dos materiais de partida e de produtos de degradação.

Os compostos resultantes apresentaram-se na forma de sólidos brancos, beges ou amarelos, dependendo do substituinte. Os valores de rendimento, ponto de fusão e características físicas dos compostos obtidos nesta tese encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14 – 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (**17**): Características físicas, Pontos de fusão, rendimentos e HRMS.



R, R¹ = H (**17aa-ca**), -(CH₂)₃- (**17ab-cb**), -(CH₂)₄- (**17ac-cc**), -(CH₂)₅- (**17ad-cd**)
 n = 1 (**17aa-ad**), 2 (**17ba-bd**), 3 (**17ca-cd**)

i = **8aa-cd** (1 mmol), **16** (2 mmol), AcOH (5 mL), 90 °C, 24 h

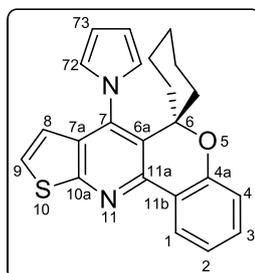
Composto	R, R ¹	n	Rend. ^a (%)	Característica física	P.F. (°C)	Fórmula Molecular	HRMS ^b (g/mol) Cal./Exp. [M+H] ⁺
17aa	H, H		88	Sólido branco	142-145	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ OS	359.1213/3 59.1220
17ab	-(CH ₂) ₃ -	1	83	Sólido bege	203-206	C ₂₅ H ₂₂ N ₂ OS	399.1526/3 99.1520
17ac	-(CH ₂) ₄ -		66	Sólido branco	199-203	C ₂₆ H ₂₄ N ₂ OS	413.1682/4 13.1697
17ad	-(CH ₂) ₅ -		77	Sólido branco	183-186	C ₂₇ H ₂₆ N ₂ OS	427.1839/4 27.1849
17ba	H, H	2	95	Sólido bege	184-187	C ₂₃ H ₃₀ N ₂ OS	373.1369/3 73.1377
17bb	-(CH ₂) ₃ -		66	Sólido amarelo	222-225	C ₂₆ H ₂₄ N ₂ OS	413.1682/4 13.1701
17bc	-(CH ₂) ₄ -		81	Sólido bege	230-233	C ₂₇ H ₂₆ N ₂ OS	427.1839/4 27.1856
17bd	-(CH ₂) ₅ -		88	Sólido branco	185-189	C ₂₈ H ₂₈ N ₂ OS	441.1995/4 41.2000
17ca	H, H	3	83	Sólido bege	163-166	C ₂₄ H ₂₂ N ₂ OS	387.1526/3 87.1553
17cb	-(CH ₂) ₃ -		85	Sólido branco	212-216	C ₂₇ H ₂₆ N ₂ OS	427.1839/ 427.1852
17cc	-(CH ₂) ₄ -		88	Sólido bege	227-231	C ₂₈ H ₂₈ N ₂ OS	441.1995/4 41.2008
17cd	-(CH ₂) ₅ -		78	Sólido bege	203-206	C ₂₉ H ₃₀ N ₂ OS	455.2152/ 455.2192

^aRendimento isolado.

3.6.3 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (17): Identificação Estrutural por espectroscopia de RMN e Difração de raios-X

A identificação dos compostos **17** foi realizada através das técnicas de RMN de ^1H e ^{13}C . Também foi necessário a utilização da espectroscopia de RMN bidimensional de ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC para uma correta atribuição dos deslocamentos químicos (sinais) relativos aos compostos obtidos. Em sequência, foi realizado da análise por difração de raio-X em monocristal de um exemplo da série, para a identificação estrutural inequívoca das moléculas inéditas. Nesta seção, serão apresentados e discutidos os dados de RMN para o composto **17ba** ($\text{R}^1 = \text{H}$, H , $n = 2$, Figura 46), como um exemplo estrutural selecionado para a atribuição de sinais da série **17**. Os dados espectroscópicos de RMN para as demais moléculas da série **17** serão apresentados na parte experimental e nos anexos desta tese.

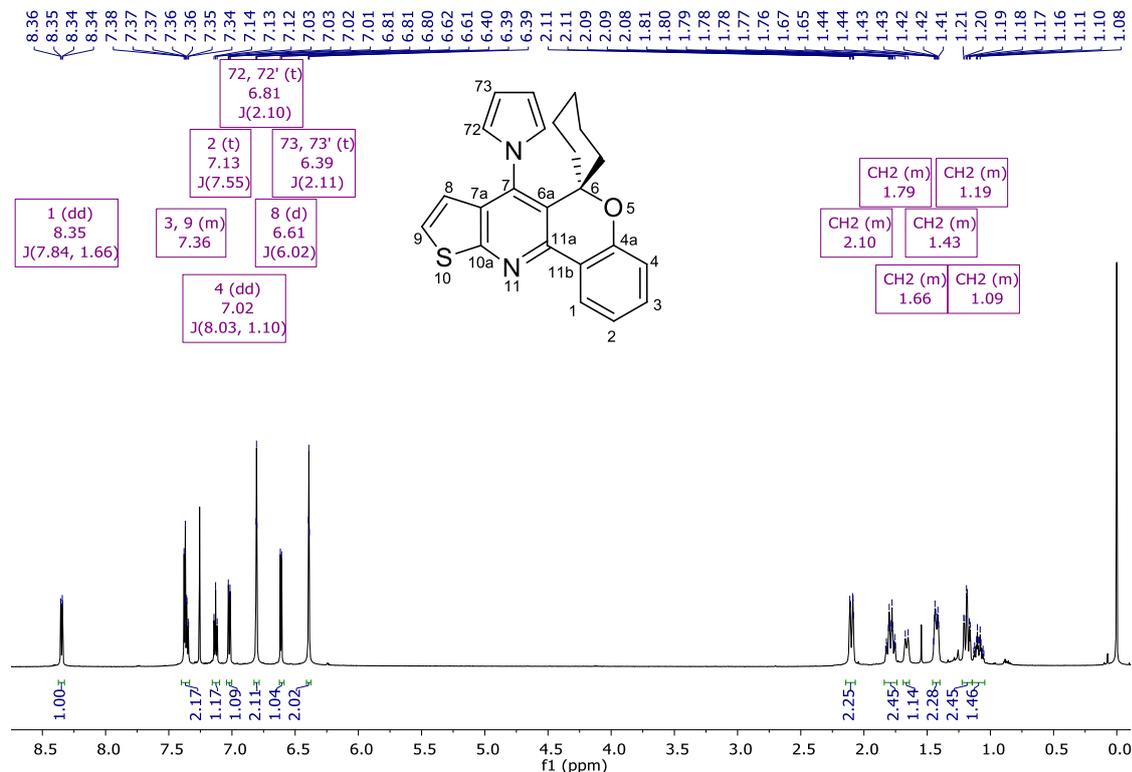
Figura 46 – Fórmula estrutural e a numeração dos átomos principais para o heterociclo **17ba**



3.6.3.1 RMN de ^1H , ^{13}C , ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC de 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (17)

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos para as séries de compostos **17ba** foram registrados em CDCl_3 utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. As atribuições dos sinais foram baseadas em dados publicados na literatura para compostos semelhantes²⁷ e em experimentos de correlação bidimensionais, ou seja, RMN 2D de ^{13}C - ^1H HMBC e HSQC.

Figura 47 – Espectro de RMN de ^1H à 600 MHz, em CDCl_3 , do composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)

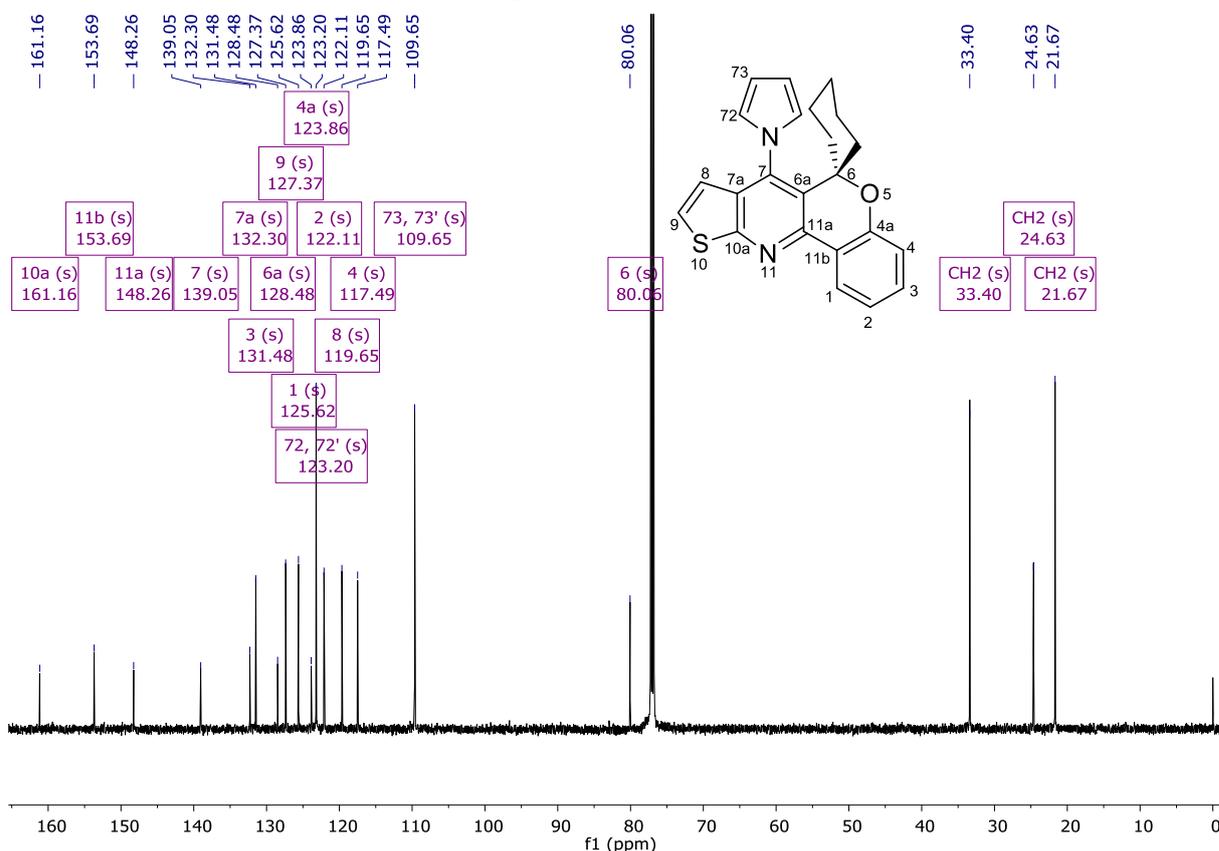


No espectro de RMN de ^1H , para a molécula da 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**) (Figura 47) observa-se que houveram poucas alterações nos deslocamentos químicos dos sinais base da estrutura (anel cromano e anel tiofeno), cujos sinais se apresentam como: um duplo duplete, na região de 8,35 ppm, referente ao hidrogênio H-1, do anel cromano, com $J = 7,84$ e $1,66$ Hz, um multiplete, em 7,36 ppm, referente aos hidrogênios H-3 (do anel cromano) e H-9 (do anel tiofeno); um duplete, em 6,69 ppm, referente ao H-8 com $J = 6,61$ Hz referente à porção heterocíclica do tiofeno; um triplo, 7,13 ppm com $J = 7,55$ Hz, referente ao hidrogênio H-2, do anel cromano; um duplo duplete, em 7,04 ppm, referente ao hidrogênio H-4, do anel cromano, com $J = 8,03$ e $1,10$ Hz; além dos sinais em campo mais alto, com desdobramento sob forma de multipletos, dos 10 hidrogênios (5 unidades CH₂), referentes à porção espiro-carbocíclica ligada ao carbono espiro do anel cromano, com deslocamentos químicos de 2,10, 1,79, 1,66, 1,43, 1,19, 1,09 ppm, respectivamente.

É possível observar também no espectro de RMN de ^1H do composto **8ba** a ausência do sinal referente aos hidrogênios ligados ao átomo de nitrogênio (grupo NH₂), o que dá o indício de que a reação tenha ocorrido, além disso, o espectro de RMN de ^1H demonstra a formação do produto, através do surgimento de dois novos sinais, sob a forma de tripletos, em 6,81 e 6,39

ppm, com $J = 2,10$ e $2,11$ Hz, referentes aos hidrogênios 72 e 73, respectivamente, do anel pirrólico.

Figura 48 – Espectro de RMN de ^{13}C à 150 MHz, em CDCl_3 , do composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)



O espectro de RMN de ^{13}C desacoplado obtido para o composto **17ba** (Figura 48), assim como no espectro de RMN ^1H , não foram observadas grandes alterações nos deslocamentos químicos dos sinais base da estrutura, em que, foi observado: o sinal referente ao carbono C-10a em 161,16 ppm; em 153,69 ppm o carbono C-11b; em 148,26 ppm o sinal referente ao carbono C-11a; em 131,48, 125,62 e 123,86 ppm têm-se os sinais referentes aos carbonos C-3, C-1 e C-4a do anel cromano, respectivamente; 127,37 ppm apresenta-se o sinal referente ao carbono C-9 do anel tieno; em 122,11 ppm o sinal referente ao carbono C-2 do anel cromano; em 119,65 e em 117,49 ppm observam-se os sinais referentes aos carbonos C-4 e C-8.

Os sinais ao qual se observou uma maior alteração em seus deslocamentos químicos foram aqueles vizinhos ao novo heterociclo formado, em que o sinal referente ao carbono C-7, carbono ligado ao átomo de nitrogênio (NH_2), antes em 143,77 ppm, agora encontra-se em 139,05 ppm, em 139,05 ppm, apresenta-se o sinal referente ao carbono C-7a, que antes estava

em 121.54 ppm; e em 128,48 ppm apresenta-se o sinal referente ao carbono C-6a, que encontrava-se em 114,00 ppm. Além da alteração dos deslocamentos químicos destes, outro fato que demonstra a formação do pirrol de interesse é a presença de dois sinais em 123,20 e 109,65 ppm, referentes aos carbonos pirrólicos C-72 e C-73, respectivamente.

Os sinais referentes à porção espiro-carbocíclica, também não demonstraram alteração em seus deslocamentos químicos, em que, o sinal referente ao carbono espiro C-6, apresenta um deslocamento químico de 80,06 ppm e em campo mais alto, os sinais referentes aos carbonos da porção espiro-carbocíclica (CH₂), são observados com deslocamento químico de 33,40, 24,63 e 21.67 ppm, respectivamente.

De modo a complementar e realizar a atribuição correta dos sinais nos espectros de RMN de ¹H e ¹³C, foi realizado uma análise de RMN em duas dimensões de HSQC de modo a atribuir os carbonos hidrogenados do composto **17ba** (Figura 49)

Figura 49 – Espectro de RMN 2D ¹³C-¹H HSQC, 600 MHz, em CDCl₃, do composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)

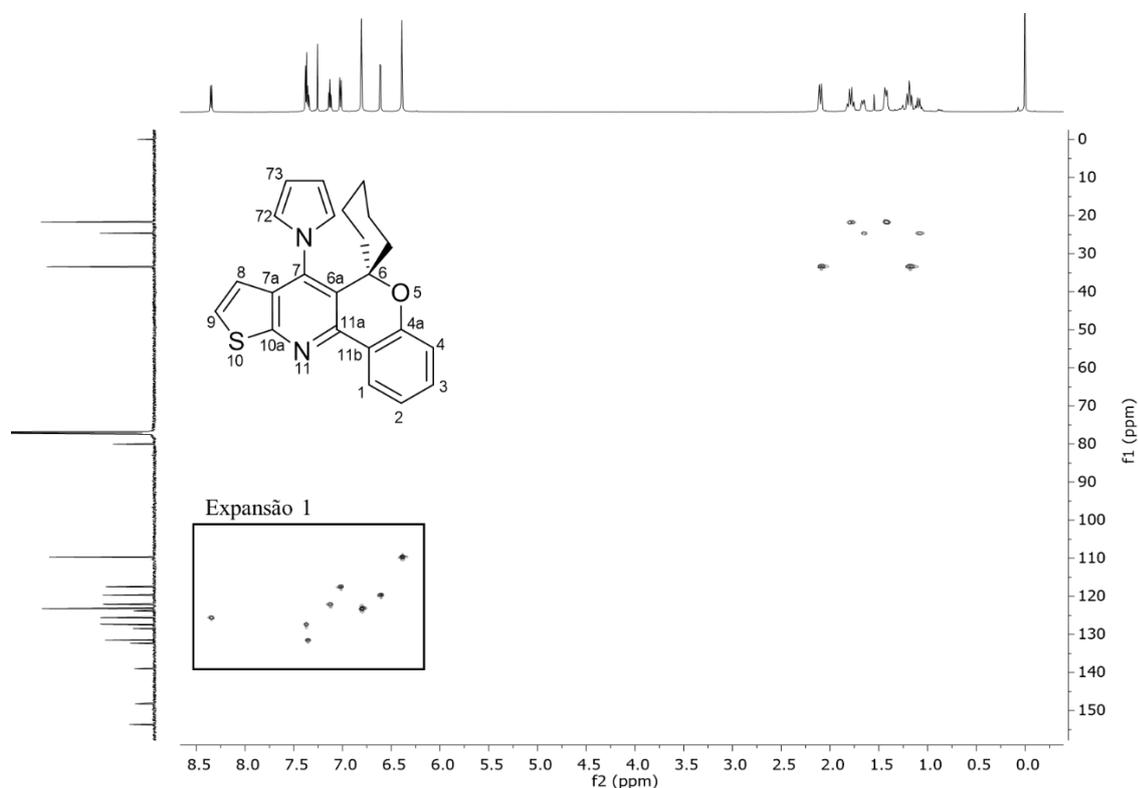
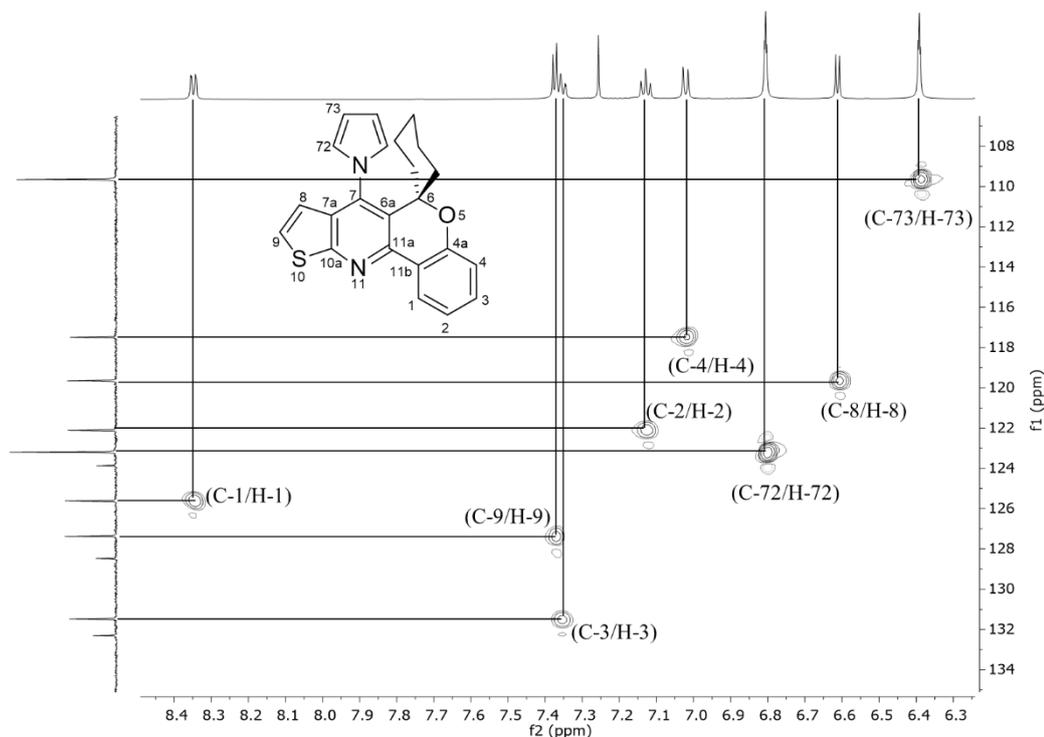


Figura 50 – Expansão 1 do espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HSQC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)



Como já mencionado anteriormente, não foram observadas grandes alterações nos deslocamentos químicos dos sinais base da estrutura, em que, se observa na expansão 1 (Figura 50) as interações entre os hidrogênios e respectivos carbonos hidrogenados do composto **17ba**, podendo desta forma atribuí-los corretamente, cujos novos sinais hidrogenados, ao qual, foi possível realizar a confirmação, são os sinais referentes à porção pirrólica (H-72, com seu respectivo carbono C-72, e H-73, com seu respectivo carbono C-73).

Desta forma, para complementar a atribuição dos sinais foi realizado uma análise de RMN em duas dimensões, tipo HMBC, que correlaciona hidrogênios e carbonos a duas e três ligações de distância (Figura 51). O espectro para o composto **17ab** bem como as regiões do espectro foram expandidas para uma maior clareza da análise.

Figura 51 – Espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HMBC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)

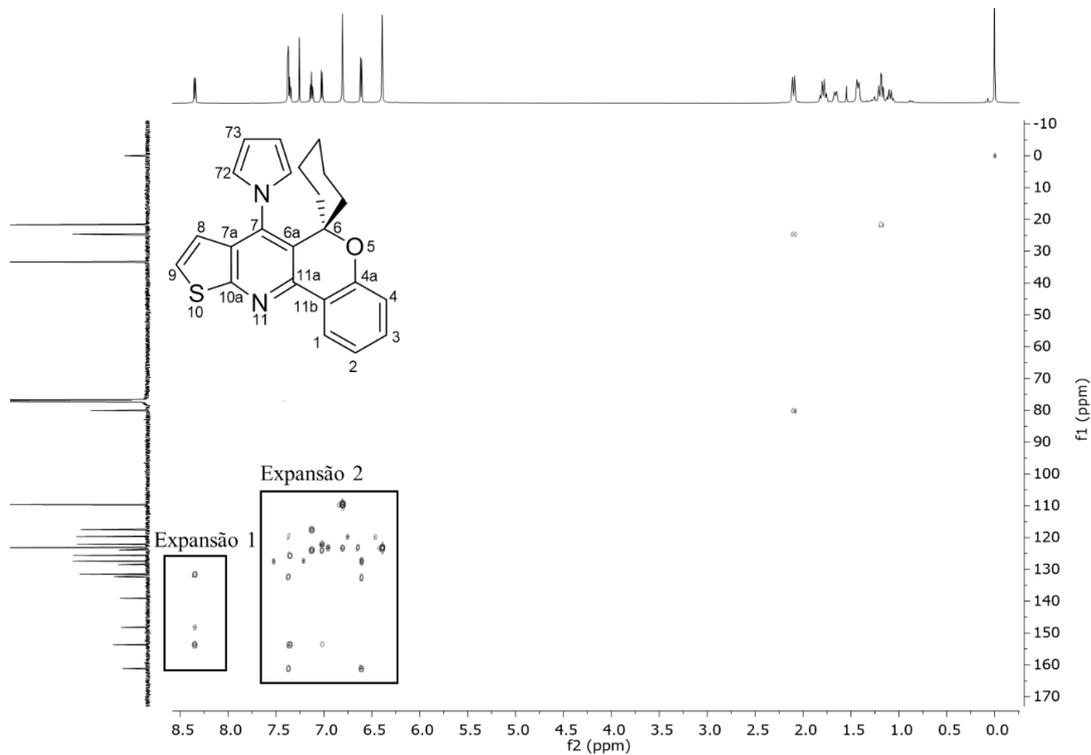
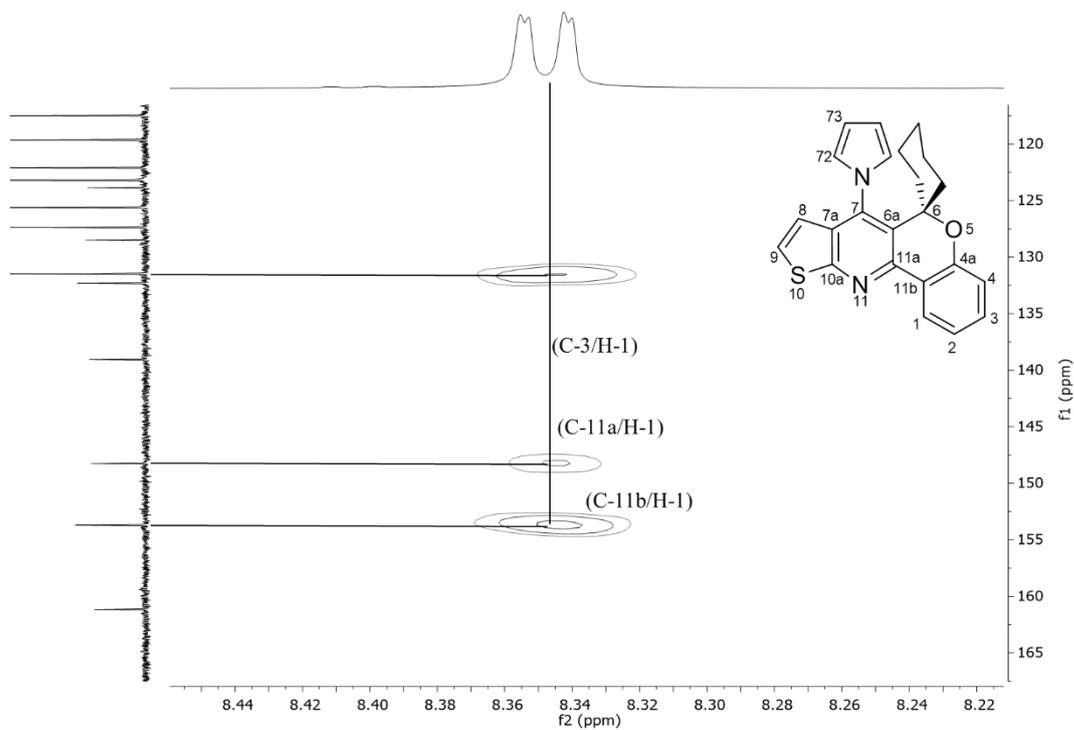
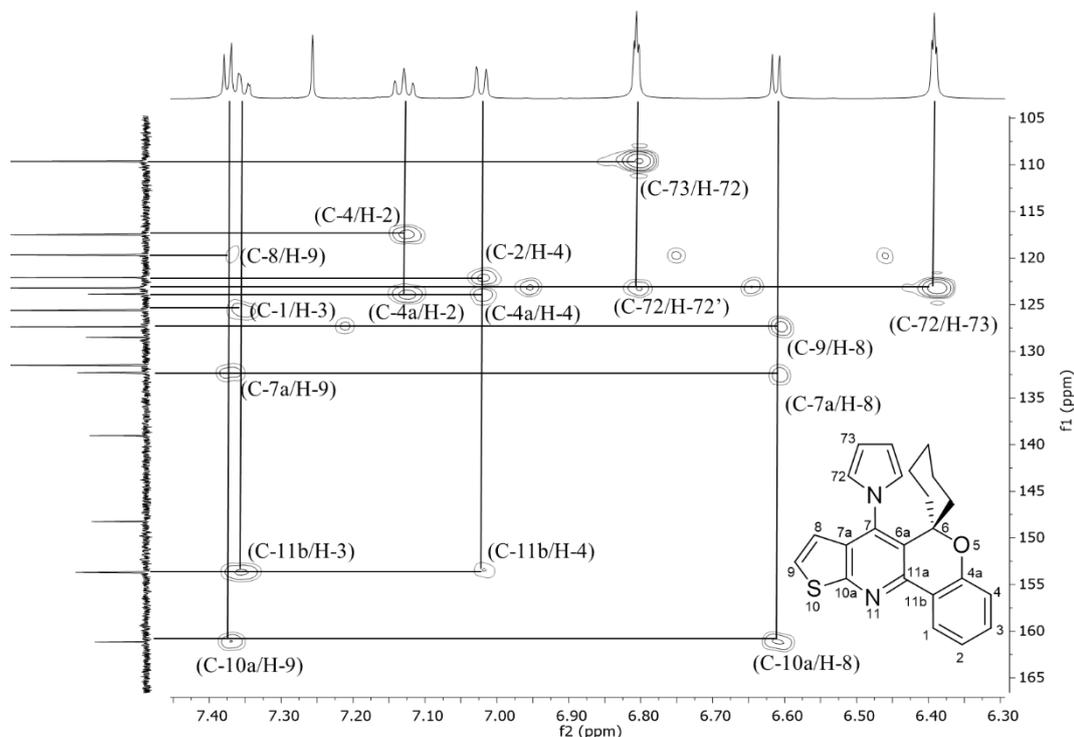


Figura 52 – Expansão 1 do espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HMBC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)



Na expansão 1 (Figura 52) é possível observar o acoplamento do hidrogênio H-1 com os carbonos C-3 e C-11b a duas ligações de distância e a três ligações com o carbono C-11a.

Figura 53 – Expansão 2 do espectro de RMN 2D ^{13}C - ^1H HMBC, 600 MHz, em CDCl_3 , do composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)



Na expansão 2 (Figura 53) observa-se os acoplamentos entre os hidrogênios H-3 e H-9, que se encontram sobrepostos, em que, o hidrogênio H-9 interage com os carbonos C-7a e C-8, a duas ligações, e C-10a, a três ligações, e o hidrogênio H-3 interage com os carbonos C-1, a duas ligações, e C-11b, a três ligações. É possível se observar o acoplamento entre o tripleto do hidrogênio H-2 a duas ligações com o carbono C-4 e a três ligações com o carbono C-4a, assim como, a interação entre o duplete referente ao hidrogênio H-4 a duas ligações com o carbono C-2 e C-4a, e a três ligações com o carbono C-11b, além de ficar evidenciada também a interação do hidrogênio H-8 com os carbonos C-9, a duas ligações, e com os carbonos C-7a e C-10a, a três ligações de distância.

Observa-se, por fim, a interação referente aos hidrogênios (H-72 e H-73) e carbonos (C-72 e C-73), da porção pirrólica, entre si, a duas e três ligações.

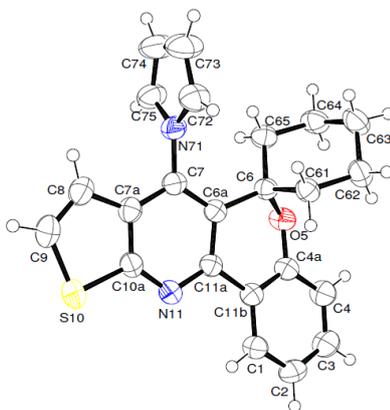
Os dados e os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos demais compostos **17** encontram-se nos anexos desta tese, cujas variações nos deslocamentos químicos encontradas para os demais

compostos foram atribuídas levando em consideração o efeito do substituinte R, os quais demonstraram pequenas variações.

3.6.3.2 Análise por Difração de Raio-X em monocristal para o composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)

Como método complementar de identificação estrutural das 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (**17ba**), foi realizado a determinação por difração de raio-X em monocristal (Figura 54) para o composto **17ba**, visando determinar a estrutura molecular e conformação real dos compostos em fase sólida. Através dos monocristais obtidos para o composto **17ba**, gerados através da evaporação lenta de clorofórmio, à temperatura ambiente, foi possível a aquisição dos dados cristalográficos do composto **17ba** e a elucidação estrutural do mesmo, conforme pode-se verificar no ORTEP apresentado na Figura 54.

Figura 54 – ORTEP obtido para o composto 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (**17ba**)



A partir dos dados de refinamento do composto **17ba**, pôde-se confirmar a obtenção do composto de interesse, através da formação do sistema híbrido, através da formação do anel pirrólico, conforme projetado teoricamente. Os dados cristalográficos mais detalhados para análises de maior interesse estrutural encontram-se nos anexos desta tese.

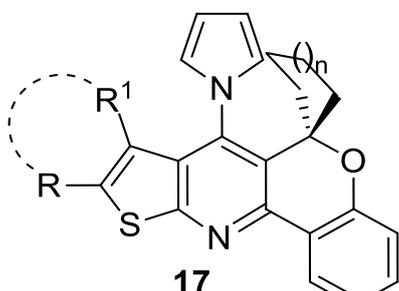
3.6.4 Propriedades Fotofísicas dos compostos 17

A fluorescência é um dos vários processos fotofísicos que ocorrem a partir da desativação de uma espécie eletronicamente excitada à espécie fundamental, quando esta é capaz de dissipar a energia absorvida.¹²³ Tal processo ocorre quando uma molécula absorve um fóton de luz e um elétron é promovido do estado fundamental (S_0) para o estado excitado e após atingir o estado singlete eletronicamente excitado (S_1) e decai ao estado S_0 .^{123,124}

Algumas moléculas orgânicas são capazes de absorver luz na região do ultravioleta ou visível e emitir na região do visível. Pela medida de separação entre as bandas de absorção e emissão é possível mensurar em termos de deslocamento Stokes, que é definido como sendo a diferença entre os máximos de absorção e de emissão da molécula. Para moléculas que apresentam elevados valores de deslocamento Stokes, ou seja, uma grande distância (em nm) entre as bandas máxima de absorção e emissão, é permitida a sua utilização como sondas ou marcadores para a observação de estruturas e mecanismos celulares, muitas vezes com o intuito de obter informações sobre o metabolismo celular.^{123–125}

Tendo em vista que a presença de fluorescência em compostos orgânicos possibilita sua aplicação em diversas áreas do conhecimento, foram realizadas análises das propriedades fotofísicas para esta série de compostos **17** sintetizada (Tabela 15).

Tabela 15 – Relação dos compostos **17** utilizados para avaliação das propriedades fotofísicas



17

Composto	R, R ¹	n
17aa	H, H	1
17ab	-(CH ₂) ₃ -	
17ac	-(CH ₂) ₄ -	
17ad	-(CH ₂) ₅ -	
17ba	H, H	2
17bb	-(CH ₂) ₃ -	
17bc	-(CH ₂) ₄ -	
17bd	-(CH ₂) ₅ -	
17dca	H, H	3
17cb	-(CH ₂) ₃ -	
17cc	-(CH ₂) ₄ -	
17cd	-(CH ₂) ₅ -	

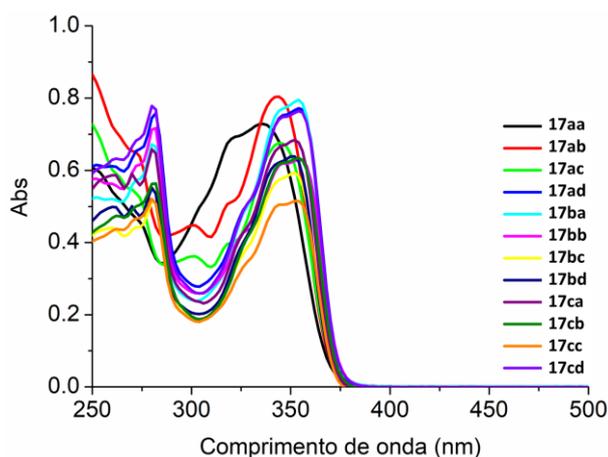
Portanto, inicialmente, realizou-se a dissolução de uma pequena quantidade da série de compostos **17aa-cd** em cloforórmio (CHCl_3). Posteriormente, estas soluções foram submetidas à luz UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$) e observou-se que estes compostos apresentaram fluorescência, cuja Figura 55 ilustra o comportamento dos compostos **17aa-cd** dissolvidos em CHCl_3 , sob luz UV.

Figura 55 – Composto **17aa-cd** em solução de CHCl_3 sob a luz UV



Desta forma, inicialmente foram obtidos os espectros de absorção UV-vis para os compostos **17aa-cd** em solução de CHCl_3 , os quais exibiram transições eletrônicas na região do ultravioleta, na faixa de 250-400 nm para todos os compostos (Figura 56).

Figura 56 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para os compostos **17aa-cd** em solução de CHCl_3

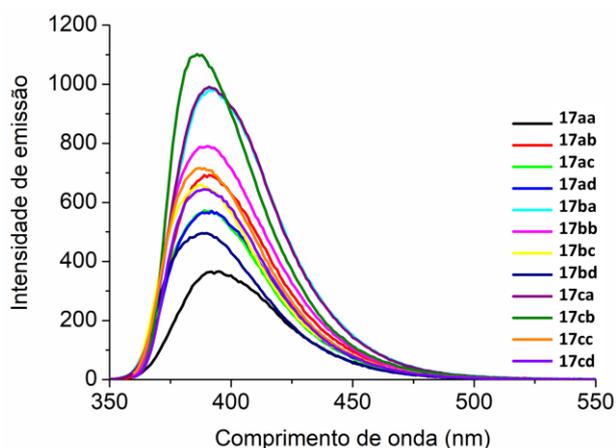


Neste contexto, avaliando a influência dos diferentes tamanhos das porções carbocíclicas substituintes R e R¹ e o número de unidades metilênicas (n) da porção espiro-carbocíclica (**17aa-cd**) em solução de CHCl_3 , foi possível observar que, nestes estudos iniciais, em geral todos os derivados **17** mostraram absorção de radiação na região ultravioleta, com duas principais bandas de absorção máxima (280 e 350 nm).

Estas transições eletrônicas podem ser atribuídas às transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, possivelmente referentes aos anéis aromáticos, características deste tipo de esqueleto heterocíclico. Pode-se observar, ainda, um mesmo padrão espectral independente do tamanho das porções carbocíclicas substituintes R e R¹ e o número de unidades metilênicas (n) da porção espiro-carbocíclica avaliadas.

A partir dos resultados obtidos da análise por espectrofotometria UV-vis, foi realizada a determinação do estudo de fluorescência. Os compostos **17aa-cd** foram analisados em soluções de CHCl₃, conforme pode ser observado no espectro de emissão (Figura 57), cujas excitações foram realizadas nas transições eletrônicas menos energéticas para cada um dos compostos **17**.

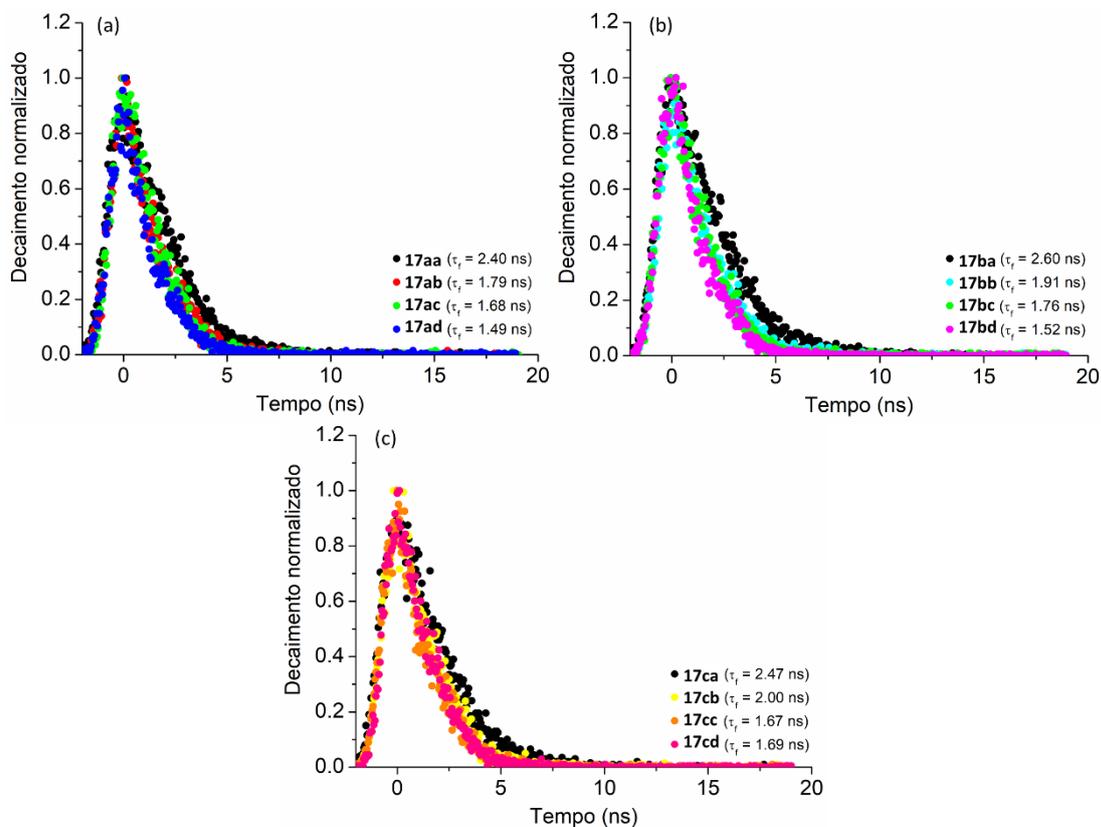
Figura 57 – Espectros de emissão de fluorescência para os compostos **17aa-cd** em solução de CHCl₃



A análise dos espectros de emissão demonstrou que todos os compostos apresentaram emissão de fluorescência na região do violeta, quando excitados na transição/banda de absorção de menor energia, na faixa de 380-400 nm.

Ao analisar a influência do tamanho das porções carbocíclicas substituintes R e R¹ e o número de unidades metilênicas (n) da porção espiro-carbocíclica, se percebeu que não houve deslocamento no pico máximo de emissão de fluorescência.

Além disso, a série de compostos **17** apresentou diferentes valores de tempos de vida de fluorescência, a partir dos dados de emissão dos respectivos compostos (Figura 58).

Figura 58 – Tempos de vida de fluorescência dos compostos **17aa-cd** em solução de CHCl_3 

Ao analisar os tempos de vida, percebe-se uma maior influência no tamanho das porções carbocíclicas substituintes R e R¹ para o valor destes, onde quando comparados os compostos contendo o mesmo número de unidades metilênicas (n) da porção espiro-carbocíclica, por exemplo, nota-se que os valores de tempo de vida diminuem à medida que se insere e/ou aumenta a presença de substituintes R e R¹, tendo uma variação significativa, quando se compara, por exemplo, os compostos **17aa** (R, R¹= H, H) e **17ad** (R, R¹= $-(\text{CH}_2)_5-$), cujos valores de tempos de vida de fluorescência são de 2,40 ns e 1,49 ns, respectivamente.

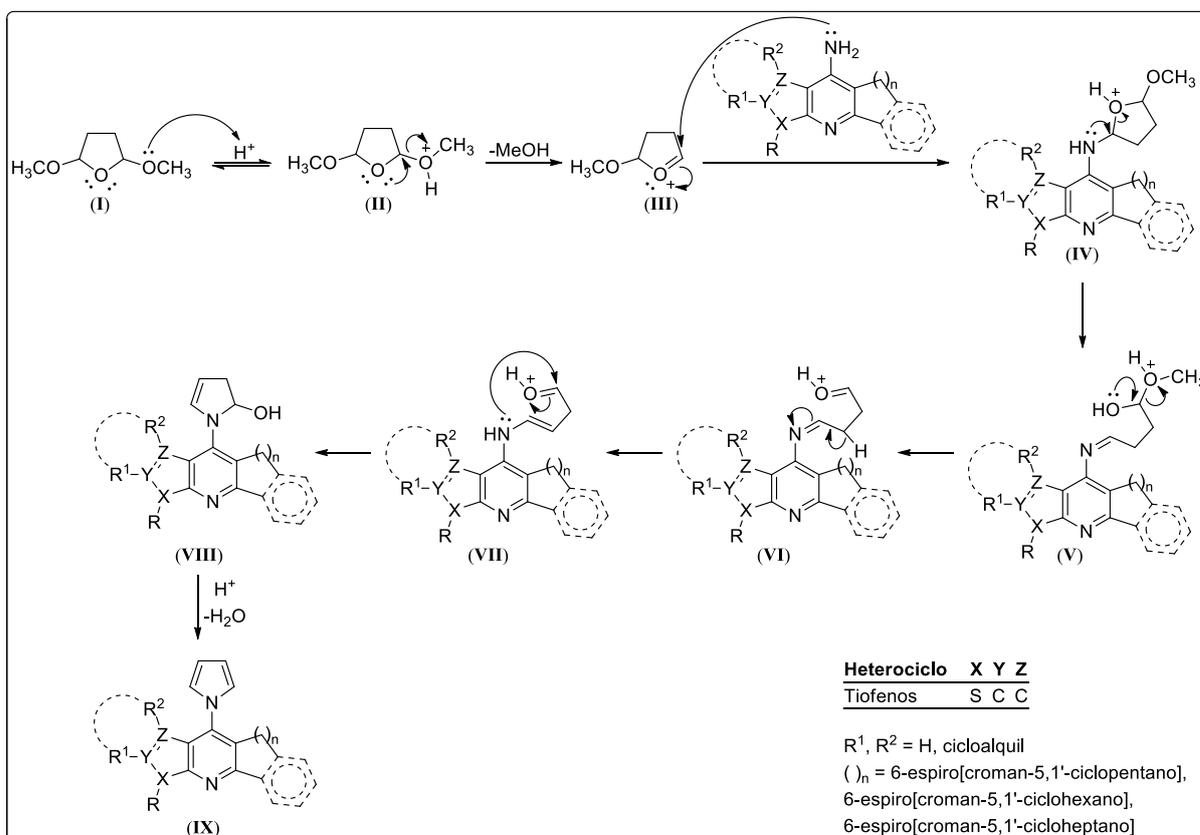
Esses resultados nos mostram que a estereoquímica da presença das porções carbocíclicas dos substituintes R e R¹, ligados diretamente à porção tiofênica, está diretamente relacionada à fotofísica atribuída aos compostos **17**, onde, mesmo que emissão dos compostos estejam na mesma transição eletrônica, a persistência no estado singleto (fluorescência) destes, está sendo destinada de acordo com esta característica.

Além disso, estudos fotofísicos em diferentes solventes para os demais compostos **17** estão em andamento, com o intuito de comparar os resultados da influência dos substituintes e verificar se existe alguma mudança nos dados de absorção e emissão.

3.6.5 Mecanismo geral proposto para a síntese dos compostos **17**

O mecanismo proposto para a formação dos compostos **17** (Esquema 26) é representado de forma genérica, abrangendo todas as séries de compostos desenvolvidas neste trabalho. Desta forma, através de mecanismos propostos pela literatura^{126,127}, pode ser visto, que, na primeira etapa, o grupo acetal do 2,5-DMOTHF é protonado (**I**), seguido da eliminação de MeOH (**II**), formando o intermediário **III**. Em seguida, ocorre um ataque nucleofílico do grupo amino ao átomo de carbono do acetal formando o intermediário **IV**, cujo intermediário protonado, é convertido em uma imina (**V**), seguido da eliminação de MeOH (**VI**), seguido da tautomerização à uma enamina, em que, ocorre então uma nova adição nucleofílica (**VII**), e o produto ciclizado é desidratado (**VIII**), dando origem aos pirróis de interesse **17** (**IX**).

Esquema 26



4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E SOLVENTES UTILIZADOS

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados reagentes e solventes com qualidade técnica ou P.A., e/ou foram purificados segundo metodologias usuais de laboratório.¹²⁸ A seguir estão descritos os reagentes e solventes utilizados.

4.1.1 Reagentes

1-Bromooctano; 1-Tetralona; 2,5-Dihidróxi-1,4-Ditiana; 2,5-Dimetóxitetrahidrofurano; 2-Furaldeído; 2-hidróxi-acetofenona; 2-Tiofenocarboxaldeído; 4-Bromobenzaldeído; 4-Flúorbenzaldeído; 4-Metilbenzaldeído; 4-Metóxi-benzaldeído; 4-Nitrobenzaldeído; Ácido acético glacial; Ácido clorídrico; Anidrido acético; Azida de sódio; Benzaldeído; Carbonato de potássio; Carbonato de potássio; Cicloheptanona; Ciclohexanona; Ciclopentanona; Cloreto de alumínio; Cloreto de benzila; Cloreto de índio; Cloreto de sódio; Cloreto de zinco; Cloreto férrico; Cloridrato de hidroxilamina; Enxofre elementar; Hidróxido de sódio; Iodometano; Malononitrila; Morfolina; *N*-clorossuccinimida; Pirrolidina; Sódio elementar; Sulfato de sódio anidro; Tetrametilsilano; Trietilamina.

4.1.2 Solventes

Acetato de Etila; Água; Clorofórmio; Clorofórmio deuterado; Dimetilformamida; Dimetilsulfóxido; Dimetilsulfóxido deuterado; Etanol; Éter dietílico; Hexano; Metanol; Tetrahydrofurano; Tolueno.

4.2 EQUIPAMENTOS

4.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram registrados nos Espectrômetros: BRUKER DPX-400 (400,13 MHz para ^1H e 100,62 MHz para ^{13}C) e Bruker Avance III (600 MHz para

^1H e 150 MHz para ^{13}C). Ambos os equipamentos estão instalados no Departamento de Química da UFSM. Os dados de ^1H e ^{13}C foram obtidos em tubos de 5 mm, temperatura de 300 K, em clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO}-d_6$) como solvente, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os espectros de 2D (^{13}C - ^1H HMBC e HSQC) foram adquiridos em Bruker Avance III (600 MHz para ^1H e 150 MHz para ^{13}C) equipado com um probe PABBO de 5mm, com tubos de 5 mm a 298 K. Todos os resultados foram apresentados com o deslocamento químico (δ), multiplicidade, integração e constantes de acoplamento (Hz). As abreviaturas para as multiplicidades são: s = simpleto, d = duplete, t = tripleto, q = quarteto, m = multiplete, dd = duplo duplete e quin = quinteto.

4.2.2 Ponto de Fusão

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho digital MQAPF-302, marca Micro Química Equipamentos Ltda.

4.2.3 Difração de raios-X

A coleta de dados para a análise estrutural por difração de Raio X em monocristal foi realizada em um Difratorômetro Bruker D8 Venture com goniômetro KAPPA de quatro círculos, equipado com detector de área PHOTON 100 CMOS, monocromador de grafite e fonte de radiação $\text{Mo-K}\alpha$ ($= 0,71073 \text{ \AA}$) e em um Difratorômetro Bruker D8 QUEST com goniômetro KAPPA de quatro círculos, equipado com detector de área PHOTON II CPAD, monocromador de Cobre e fonte de radiação $\text{Cu-K}\alpha$ ($= 1,54080 \text{ \AA}$). Ambos os equipamentos estão instalados no Departamento de Química da UFSM. A solução e o refinamento das estruturas foram realizados com o pacote de programas cristalográficos WinGX a partir dos programas SHELXS-97 e SHELXL-97 baseando-se nos quadrados dos fatores estruturais e na técnica da matriz completa/mínimos quadrados. Os átomos não hidrogenóides foram localizados experimentalmente baseado na interpretação dos Mapas de Fourier diferença e refinados com parâmetros térmicos anisotrópicos. Os átomos de hidrogênio foram localizados geometricamente e refinados com parâmetros térmicos isotrópicos. As projeções gráficas foram construídas utilizando o programa *Ortep3 for Windows* incluído no pacote de programas WinGx.

4.3 ANÁLISE DE *HOMO SAPIENS* ACETILCOLINESTERASE (AChE) E BUTIRILCOLINESTERASE (BChE)

Amostras de sangue total humano foram coletadas em tubos heparinizados e centrifugadas a 2000 rpm por 10 min para isolar eritrócitos e plasma para determinar as atividades de AChE e BChE, respectivamente.¹⁰⁰ Eritrócitos e plasma foram transferidos para outros tubos. Os eritrócitos foram suspensos em 2 mL de solução salina normal (0,9%) e centrifugados a 2000 rpm por 10 min; a lavagem foi repetida três vezes. As amostras foram congeladas e, antes de analisar a atividade enzimática, os eritrócitos foram diluídos 200 vezes enquanto o plasma foi diluído 40 vezes. Eritrócitos e plasma foram obtidos de voluntários saudáveis, e o protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética Humana da Universidade Federal de Santa Maria (n° 3.471.823).

As atividades enzimáticas foram realizadas de acordo com o método proposto por Ellman e col.¹²⁹ e adaptado de Rocha e col.^{130,131} As taxas de hidrólise foram medidas em uma concentração de iodeto de acetiltiocolina (ASCh) (0,8 mM), incluindo 20 µL de ensaio em uma placa Elisa, com soluções de poços, com 20 µL de tampão fosfato 1 mM, pH 7,5, 10 µL de 10 mM DTNB, 20 µL de soluções de eritrócitos ou plasma e 120 µL de água destilada a 25°C. No caso dos testes com hemácias, a solução foi diluída 200 vezes e no plasma 40 vezes. Este sistema foi pré-incubado por 30 min (25°C) com 0,05% de DMSO, água (controle) ou inibidor (compostos teste **8aa-cd**, **11aa-gb** e **15aa-hb**) e a hidrólise foi monitorada pela formação do diânion tiolato de DTNB a 415 nm por 18 min (intervalos de 1 min) usando um Bio-Rad iMark™ Microplate Absorbance Reader. Todas as amostras foram executadas triplicadas.

Para verificar a capacidade de inibição de cada composto, **11aa-gb**, **15aa-hb** e tacrina, em cada enzima, foi utilizada uma faixa final em cada poço incluindo 0,1 µL de DMSO diluído 25 µM. A tacrina foi utilizada neste trabalho como controle positivo. Após os testes anteriores em soluções de eritrócitos e plasma, foi determinado para os testículos IC₅₀, apenas os compostos que apresentaram inibição acima de 30% em qualquer enzima (AChE ou BChE), em uma concentração final de 25 µM, foram escolhidos. Com esses parâmetros, foram determinados os testes de IC₅₀ para os seguintes compostos: **15bb** e **15ib** para a AChE e **15aa**, **15ad**, **15cb**, **15gb** e **15ib** para a BChE. Para estes compostos foi utilizada a faixa de 25 µM-0,8 µM

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados com análise de variância (ANOVA) de uma via usando o software GraphPad Prism 6 (versão 6.01, GraphPad Software, Inc., EUA). Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (SEM); p -values $< 0,0001$ foram considerados significativamente diferentes.

4.5 SIMULAÇÕES DE *DOCKING MOLECULAR*

Para melhor entender a posição de ligação dos compostos com as enzimas colinesterase, foi utilizado o software Vina 1.1.1.¹³² Assim, de acordo com a literatura, consideramos a importância da rede altamente conservada de moléculas de água nos sítios ativos de AChE e BChE, onde algumas moléculas de água foram consideradas nas simulações.^{100,133} A caixa de grade de AChE (PDB ID 4EY6) e BChE foram centrados nas coordenadas $x = -13,25$, $y = -46,76$ e $z = 33,52$ e $x = 138,8$, $y = 111,5$ e $z = 39,9$ (tamanhos: $30 \times 30 \times 30 \text{ \AA}$), respectivamente. Os ligantes foram criados usando o software Avogadro 1.1.1,¹³⁴ seguido de uma otimização de geometria quântica semi-empírica (método PM6).¹³⁵ Os confôrmeros mais populosos do cluster com a energia livre de ligação prevista mais favorável (ΔG , kcal/mol) foram selecionados e analisados usando o software Accelrys Discovery Studio Visualizer.¹³⁶⁻¹⁴⁰

4.6 ANÁLISE FOTOFÍSICA EM SOLUÇÃO

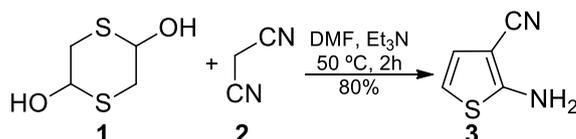
A espectroscopia de absorção UV-Vis foi registada usando um espectrofotômetro Shimadzu UV-2600 (intervalo de dados, 1,0 nm) utilizando diclorometano como solvente, na gama de 250-600 nm com concentração fixa de 10 μM .

Foram medidos espectros de emissão de fluorescência em estado estacionário dos compostos **17** em CHCl_3 com um espectrofluorímetro Horiba Yvon-Jobin Fluoromax Plus (Em/Exc; fenda de 3,0 mm) na gama de 300-700 nm a uma concentração fixa de 1,0 μM .

As experiências de fluorescência foram registadas usando o método de Contagem de Fótons Únicos (TCSPC) com o controlador DeltaHub em conjunto com o espectrofluorímetro Horiba. Os dados foram processados com o software DAS6 e Origin[®] 8.5 utilizando o ajuste exponencial (mono-exponencial) de dados em bruto. Fonte NanoLED (Horiba) (1,0 MHz; largura de pulso $< 1,2 \text{ ns}$; comprimento de onda de excitação de 284 nm) foi utilizada como fonte de excitação.

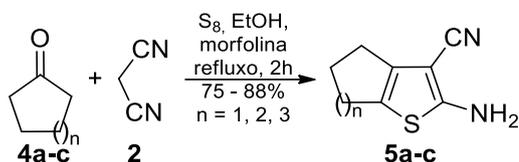
4.7 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS SINTÉTICOS

4.7.1 Síntese de 2-aminotiofeno-3-carbonitrila (3)



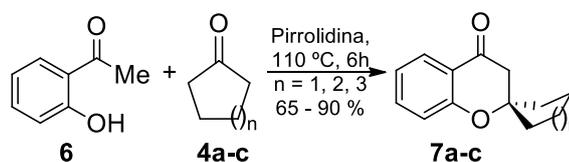
A 2-aminotiofeno-3-carbonitrila foi sintetizada de acordo com procedimento experimental descrito na literatura.¹⁴¹ À uma mistura de 2,5-dihidróxi-1,4-ditiana (6,5 mmol), malononitrila (6,5 mmol) em DMF (5 mL), Et₃N (0,8 mL) foi adicionado gota a gota e a mistura aquecida à 50 ° C por 2 h. Em seguida, a solução foi diluída com água e neutralizada com ácido acético, a mistura foi então extraída com éter dietílico e seca sobre Na₂SO₄ anidro. O solvente foi evaporado para obter o produto como um sólido castanho, utilizado sem a necessidade de prévia purificação.

4.7.2 Síntese de 2-amino-hidrociclo[*b*]tienil-3-carbonitrilas (5)



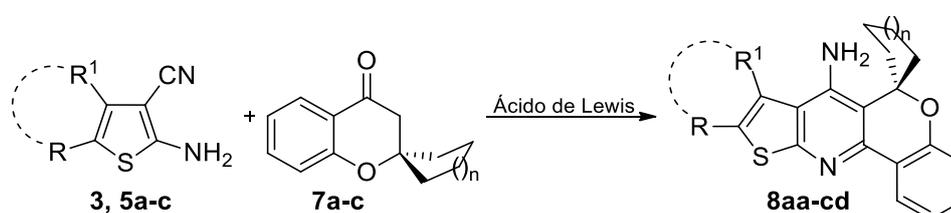
As 2-amino-hidrociclo[*b*]tienil-3-carbonitrilas foram sintetizadas conforme procedimento experimental descrito na literatura.¹⁴² Em um balão de 100 mL, munidos de agitação magnética, 5 mmol de ciclo-alcanona (**4a-c**) e 5 mmol de malononitrila (**2**) foram dissolvidos em 75 mL etanol absoluto, foram então adicionados 11 mmol de enxofre em pó e 5 mL de morfolina. A mistura foi aquecida ao refluxo com boa agitação, por 2 h, sendo então resfriada à temperatura ambiente e vertido sobre 150 mL de água gelada. O precipitado formado foi filtrado, lavado com água fria e purificado por recristalização em etanol, sendo obtidos na forma de sólidos em rendimentos de 75 – 88%.

4.7.3 Síntese de espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (7)



As espiro-croman-4-onas foram obtidas conforme descrita inicialmente por Kabbe⁸¹⁻⁸³ e aperfeiçoado por Bonacorso.^{85,143} Em um balão de 100 mL foi adicionada 2-hidróxi-acetofenona (**6**, 50 mmol), da cetona cíclica (**4a-c**, 50 mmol) e de pirrolidina (50 mmol). A mistura foi mantida sob agitação magnética por 6 horas a uma temperatura de 110 °C. Após o tempo reacional, a pirrolidina foi removida sob pressão reduzida em evaporador rotatório e o óleo resultante foi destilado sob pressão reduzida. As respectivas espiro-croman-4-onas 3 foram obtidas na forma de óleos em rendimentos de 65-90 %.

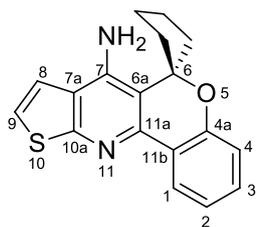
4.7.4 Síntese de espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (8)



R, R¹ = H (**3**, **8aa-ca**), -(CH₂)₃- (**5a**, **8ab-cb**), -(CH₂)₄- (**5b**, **8ac-cc**), -(CH₂)₅- (**5c**, **8ad-cd**)
 n = 1 (**7a**, **8aa-ad**), 2 (**7b**, **8ba-bd**), 3 (**7c**, **8ca-cd**)

A uma mistura de tienil-aminonitrila (**3 e 4a-c**, 1 mmol) e espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7a-c**, 1 mmol), foi adicionado o cloreto de alumínio (AlCl₃, 1 mmol), a mistura reacional foi aquecida a 110 °C sob agitação magnética por 24 horas. Em seguida, foi adicionado uma solução de NaOH (2M, 6 mL) e a mistura reacional permaneceu sob agitação magnética à mesma temperatura por mais 24 horas. Após o resfriamento do sistema a temperatura ambiente, os compostos **8aa-cd** foram extraídos em clorofórmio (30 mL) e a fase orgânica foi tornada anidra sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. Os produtos brutos foram então purificados por cromatografia em coluna de sílica gel empregando acetato de etila e hexano como eluentes e em proporções que variaram de acordo com o substituinte, obtendo os produtos com rendimentos de 20-33 %.

espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclopentan]-7-amina (8aa)



Aspecto físico: sólido marrom. Rendimento: 20%. P.F.: 162–166 °C.

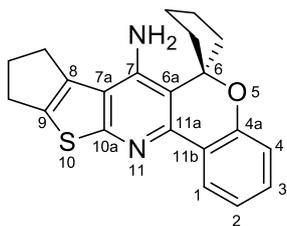
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.25 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.28 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, H-9), 7.28 – 7.22 (m, 1H, H-3), 7.13 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, H-8), 7.07 – 7.00 (m, 1H, H-2), 6.86 (dd, $J = 8.1, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 4.45 (s, 2H, NH_2), 2.36 – 2.25 (m, 4H, CH_2), 2.14 – 2.06 (m,

2H, CH_2), 1.84 – 1.76 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 161.41 (C-10a), 153.58 (C-11b), 146.60 (C-11a), 143.10 (C-7), 130.54 (C-3), 125.41 (C-1), 123.60 (C-9), 123.17 (C-4a), 121.64 (C-2), 120.95 (C-7a), 117.19 (C-8), 116.85 (C-4), 112.39 (C-6a), 88.96 (C-6), 37.95 (CH_2), 25.49 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{OS}$: 309,1056. Encontrado: 309.1028.

9,10-dihidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclopenta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclopentan]-7-amina (8ab)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 24%. P.F.: 184-188 °C.

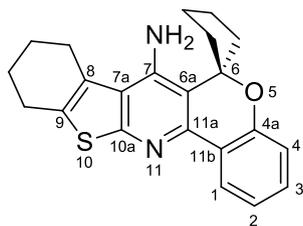
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.21 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.24 – 7.21 (m, 1H, H-3), 7.02 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.84 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 4.42 (s, 2H, NH_2), 3.11 (ddt, $J = 9.1, 7.2, 1.9$ Hz, 2H, CH_2), 2.99 (m, 2H, CH_2), 2.52 (quint, $J = 7.3$ Hz, 2H,

CH_2), 2.29 (m, 4H, CH_2), 2.12 – 2.04 (m, 2H, CH_2), 1.84 – 1.74 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 165.93 (C-10a), 153.35 (C-11b), 145.23 (C-11a), 143.02 (C-7), 139.03 (C-9), 134.43 (C-8), 130.16 (C-3), 125.19 (C-1), 123.30 (C-4a), 121.55 (C-2), 117.96 (C-7a), 117.06 (C-4), 112.93 (C-6a), 88.95 (C-6), 37.90 (CH_2), 30.01 (CH_2), 29.69 (CH_2), 27.79 (CH_2), 25.50 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{OS}$: 349.1369. Encontrado: 349.1358.

8,9,10,11-tetrahydroespiro[benzo[4,5]tieno[2,3-*b*]cromeno[3,4-*e*]piridina-6,1'-ciclopentan]-7-amina (8ac)



Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 32%. P.F.: 149–151 °C.

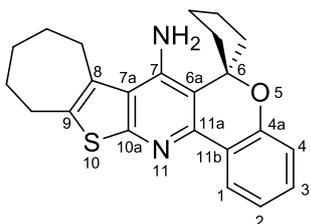
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.20 (dd, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.25 – 7.19 (m, 1H, H-3), 7.04 – 6.98 (m, 1H, H-2), 6.84 (dd, $J = 8.2, 1.4$ Hz, 1H, H-4), 4.52 (s, 2H, NH_2), 3.05 – 2.99 (m, 2H, CH_2), 2.84 – 2.81 (m, 2H, CH_2), 2.30 – 2.27 (m, 4H, CH_2), 2.12 – 2.06 (m,

2H, CH_2), 1.95 – 1.88 (m, 4H, CH_2), 1.81 – 1.76 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.62 (C-10a), 153.30 (C-11b), 145.12 (C-11a), 144.36 (C-7), 133.77 (C-9), 130.12 (C-3), 126.03 (C-8), 125.18 (C-1), 123.33 (C-4a), 121.56 (C-2), 120.34 (C-7a), 117.04 (C-4), 113.06 (C-6a), 89.13 (C-6), 37.71 (CH_2), 27.08 (CH_2), 25.92 (CH_2), 25.59 (CH_2), 22.92 (CH_2), 22.44 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{OS}$: 363.1526. Encontrado: 363.1507.

9,10,11,12-tetrahidro-8H-espiro[cromeno[4,3-b]ciclohepta[4,5]tieno[3,2-e]piridina-6,1'-ciclopentan]-7-amina (8ad)



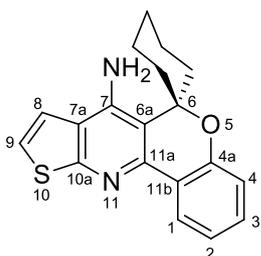
Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 24%. P.F.: 145–148 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.21 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.22 (td, $J = 7.6, 1.6$ Hz, 1H, H-3), 7.02 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, H-2), 6.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-4), 4.40 (s, 2H, NH_2), 3.16 – 3.12 (m, 2H, CH_2), 2.91 – 2.87 (m, 2H, CH_2), 2.33 – 2.27 (m, 4H, CH_2), 2.14 – 2.06 (m, 2H, CH_2), 1.94 – 1.88 (m, 2H, CH_2), 1.86 – 1.77 (m, 6H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 159.73 (C-10a), 153.32 (C-11b), 144.95 (C-11a), 144.33 (C-7), 138.20 (C-9), 131.18 (C-8), 130.09 (C-3), 125.12 (C-1), 123.37 (C-4a), 121.71 (C-7a), 121.61 (C-2), 117.11 (C-4), 113.75 (C-6a), 89.23 (C-6), 37.61 (CH_2), 30.85 (CH_2), 29.83 (CH_2), 29.30 (CH_2), 27.10 (CH_2), 26.49 (CH_2), 25.60 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{OS}$: 377.1668. Encontrado: 377.1650.

espiro[cromeno[4,3-b]tieno[3,2-e]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (8ba)



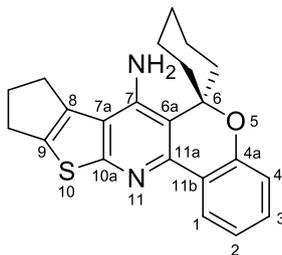
Aspecto físico: sólido marrom. Rendimento: 28%. P.F.: 161-166 °C.

^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.27 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.30 – 7.25 (m, 2H, H-2, H-3, H-9), 7.12 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, H-8), 7.04 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.95 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H, H-4), 4.60 (s, 2H, NH_2), 2.33 – 2.25 (m, 2H, NH_2), 2.10 – 1.94 (m, 4H, CH_2), 1.90 – 1.84 (m, 1H, CH_2), 1.67 – 1.61 (m, 2H, CH_2), 1.39 – 1.27 (m, 1H, CH_2).

^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 161.35 (C-10a), 153.21 (C-11b), 147.40 (C-11a), 143.77 (C-7), 130.68 (C-3), 125.66 (C-1), 123.89 (C-4a), 123.70 (C-9), 121.67 (C-2), 121.54 (C-7a), 117.01 (C-4, C-8), 114.00 (C-6a), 79.53 (C-6), 34.37 (CH_2), 25.47 (CH_2), 21.61 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OS}$: 322.1213. Encontrado: 322.1209.

9,10-dihidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclopenta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (8bb)



Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 26%. P.F.: 203-206 °C.

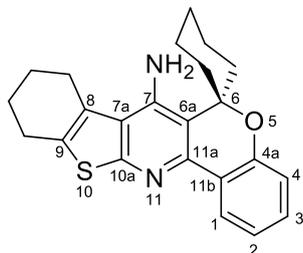
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.22 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.27 – 7.24 (m, 1H, H-3), 7.03 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.94 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H, H-4), 4.59 (s, 2H, NH_2), 3.13 – 3.09 (m, 2H, CH_2), 3.00 – 2.96 (m, 2H, CH_2), 2.51 (quint, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2),

2.30 – 2.19 (m, 2H, CH_2), 2.07 – 1.92 (m, 4H, CH_2), 1.89 – 1.82 (m, 1H, CH_2), 1.64 – 1.58 (m, 2H, CH_2), 1.37 – 1.24 (m, 1H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 165.77 (C-10a), 152.94 (C-11b), 145.92 (C-11a), 143.77 (C-7), 139.13 (C-9), 134.56 (C-8), 130.30 (C-3), 125.37 (C-1), 123.94 (C-4a), 121.58 (C-2), 118.55 (C-7a), 116.90 (C-4), 114.60 (C-6a), 79.45 (C-6), 34.21 (CH_2), 30.19 (CH_2), 29.69 (CH_2), 27.80 (CH_2), 25.44 (CH_2), 21.58 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{OS}$: 363.1526. Encontrado: 363.1512.

8,9,10,11-tetrahydroespiro[benzo[4,5]tieno[2,3-*b*]cromeno[3,4-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (8bc)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 33%. P.F.: 212–217 °C.

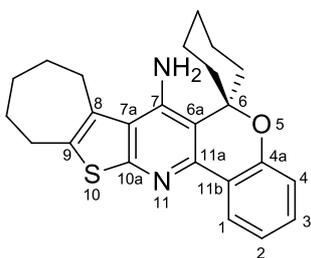
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.20 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.27 – 7.23 (m, 1H, H-3), 7.03 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-2), 6.94 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 4.71 (s, 2H, NH_2), 3.04 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2), 2.82 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2), 2.26 – 2.20 (m, 2H, CH_2),

2.11 – 2.03 (m, 2H, CH_2), 2.02 – 1.83 (m, 7H, CH_2), 1.66 – 1.60 (m, 2H, CH_2), 1.36 – 1.23 (m, 1H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.48 (C-10a), 152.87 (C-11b), 145.71 (C-11a), 145.18 (C-7), 133.93 (C-9), 130.25 (C-3), 126.13 (C-8), 125.33 (C-1), 123.88 (C-4a), 121.59 (C-2), 120.84 (C-7a), 116.85 (C-4), 114.78 (C-6a), 79.59 (C-6), 33.84 (CH_2), 27.22 (CH_2), 25.98 (CH_2), 25.42 (CH_2), 22.97 (CH_2), 22.42 (CH_2), 21.57 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{OS}$: 377.1682. Encontrado: 377.1686.

9,10,11,12-tetrahidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclohepta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (8bd)



Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 24%. P.F.: 154-157 °C.

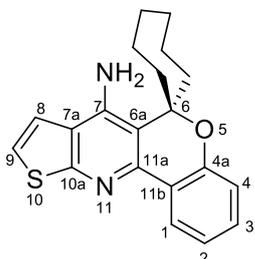
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.20 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.28 – 7.22 (m, 1H, H-3), 7.03 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.94 (dd, $J = 8.0, 1.2$ Hz, 1H, H-4), 4.56 (s, 2H, NH_2), 3.17 – 3.07 (m, 2H, CH_2), 2.91 – 2.86 (m, 2H, CH_2), 2.26 – 2.20 (m, 2H, CH_2),

2.12 – 2.06 (m, 2H, CH_2), 2.01 – 1.93 (m, 2H, CH_2), 1.92 – 1.89 (m, 2H, CH_2), 1.84 – 1.80 (m, 4H, CH_2), 1.66 – 1.59 (m, 2H, CH_2), 1.34 – 1.24 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 159.51 (C-10a), 152.84 (C-11b), 145.37 (C-11a), 145.14 (C-7), 138.45 (C-9), 131.30 (C-8), 130.21 (C-3), 125.26 (C-1), 123.83 (C-4a), 122.21 (C-7a), 121.63 (C-2), 116.91 (C-4), 115.43 (C-6a), 79.59 (C-6), 33.60 (CH_2), 30.95 (CH_2), 29.77 (CH_2), 29.39 (CH_2), 27.09 (CH_2), 26.54 (CH_2), 25.42 (CH_2), 21.56 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{OS}$: 391.1839. Encontrado: 391.1816.

espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-cicloheptan]-7-amina (8ca)



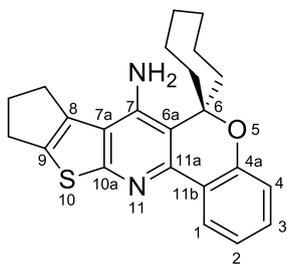
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 20%. P.F: 154–158 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.25 (dd, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.30 – 7.25 (m, 2H, H-3, H-9), 7.12 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H, H-8), 7.07 – 7.03 (m, 1H, H-2), 6.94 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-4), 4.58 (s, 2H, NH_2), 2.35 (m, 2H, CH_2), 2.23 (m, 2H, CH_2), 2.04 – 1.95 (m, 2H, CH_2), 1.85 – 1.76 (m, 2H, CH_2), 1.72 – 1.65 (m, 2H, CH_2), 1.64 – 1.55 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 161.17 (C-10a), 153.18 (C-11b), 146.41 (C-11a), 143.33 (C-7), 130.68 (C-3), 125.44 (C-1), 123.52 (C-9), 123.43 (C-4a), 121.62 (C-2), 121.10 (C-7a), 117.26 (C-8), 117.00 (C-4), 116.26 (C-6a), 83.49 (C-6), 38.24 (CH_2), 29.79 (CH_2), 24.09 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{Na}]^+$: Calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{OS}$: 359.1189. Encontrado: 359.1209.

9,10-dihidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclopenta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-cicloheptan]-7-amina (8cb)



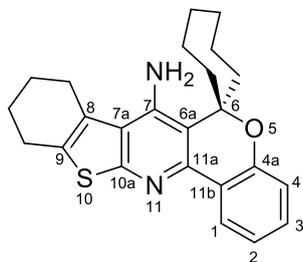
Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 22%. P.F.: 194–199 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.21 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.27 – 7.24 (m, 1H, H-3), 7.03 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-2), 6.92 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H-4), 4.57 (s, 2H, NH_2), 3.12 – 3.09 (m, 2H, CH_2), 3.01 – 2.95 (m, 2H, CH_2), 2.51 (quint, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2), 2.37 – 2.29 (m, 2H, CH_2), 2.26 – 2.16 (m, 2H, CH_2), 2.04 – 1.96 (m, 2H, CH_2), 1.86 – 1.73 (m, 2H, CH_2), 1.75 – 1.63 (m, 2H, CH_2), 1.63 – 1.53 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 165.64 (C-10a), 152.96 (C-11b), 144.99 (C-11a), 143.33 (C-7), 138.92 (C-9), 134.57 (C-8), 130.32 (C-3), 125.22 (C-1), 123.51 (C-4a), 121.53 (C-2), 118.12 (C-7a), 117.14 (C-4), 116.88 (C-6a), 83.45 (C-6), 38.23 (CH_2), 30.10 (CH_2), 29.81 (CH_2), 29.67 (CH_2), 27.78 (CH_2), 24.10 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{OS}$: 377.1682. Encontrado: 377.1675.

8,9,10,11-tetrahydroespiro[benzo[4,5]tieno[2,3-*b*]cromeno[3,4-*e*]piridina-6,1'-cicloheptan]-7-amina (8cc)



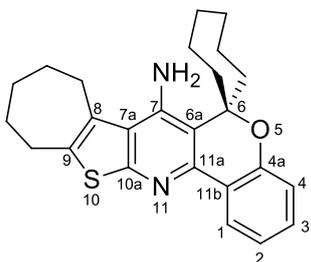
Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 23%. P.F.: 160–163 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.19 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-1), 7.29 – 7.21 (m, 1H, H-3), 7.02 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.92 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 4.67 (s, 2H, NH_2), 3.06 – 3.00 (m, 2H, CH_2), 2.84 – 2.79 (m, 2H, CH_2), 2.37 – 2.28 (m, 2H, CH_2), 2.27 – 2.19 (m, 2H, CH_2), 2.05 – 1.96 (m, 2H, CH_2), 1.94 – 1.86 (m, 4H, CH_2), 1.83 – 1.75 (m, 2H, CH_2), 1.69 – 1.63 (m, 2H, CH_2), 1.61 – 1.54 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.32 (C-10a), 152.89 (C-11b), 144.77 (C-11a), 144.72 (C-7), 133.71 (C-9), 130.29 (C-3), 126.15 (C-8), 125.20 (C-1), 123.47 (C-4a), 121.53 (C-2), 120.46 (C-7a), 117.20 (C-6a), 117.10 (C-4), 83.66 (C-6), 38.20 (CH_2), 29.92 (CH_2), 27.16 (CH_2), 25.94 (CH_2), 24.30 (CH_2), 22.93 (CH_2), 22.42 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{OS}$: 391.1839. Encontrado: 391.1854.

9,10,11,12-tetrahidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclohepta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-cicloheptan]-7-amina (8cd)



Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 20%. P.F.: 169–171 °C.

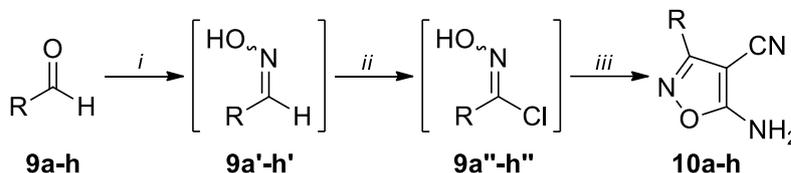
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.20 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.27 – 7.23 (m, 1H, H-3), 7.02 (td, $J = 7.5, 1.1$ Hz, 1H, H-2), 6.92 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 4.54 (s, 2H, NH_2), 3.19 – 3.05 (m, 2H, CH_2), 2.94 – 2.79 (m, 2H, CH_2), 2.47 – 2.30 (m, 2H, CH_2),

2.30 – 2.22 (m, 2H, CH_2), 2.06 – 1.96 (m, 2H, CH_2), 1.93 – 1.87 (m, 2H, CH_2), 1.87 – 1.77 (m, 6H, CH_2), 1.71 – 1.62 (m, 2H, CH_2), 1.61 – 1.53 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 159.47 (C-10a), 152.88 (C-11b), 144.62 (C-11a), 144.57 (C-7), 138.17 (C-9), 131.31 (C-8), 130.26 (C-3), 125.13 (C-1), 123.49 (C-4a), 121.82 (C-7a), 121.55 (C-2), 117.97 (C-6a), 117.14 (C-4), 83.73 (C-6), 38.23 (CH_2), 30.86 (CH_2), 29.90 (CH_2), 29.89 (CH_2), 29.31 (CH_2), 27.10 (CH_2), 26.48 (CH_2), 24.32 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{Na}]^+$: Calc. para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{OS}$: 427.1815. Encontrado: 427.1849.

4.7.5 Síntese de 5-amino-3-aryl/heteroaryl-isoxazol-4-carbonitrilas (10)



R = C_6H_5 , 4- OMeC_6H_4 , 4- MeC_6H_4 , 4- FC_6H_4 , 4- BrC_6H_4 , 4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$, 5-Cl-2-furil, 2-tienil

i = $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, K_2CO_3 , MeOH, t.a., 4h

ii = NCS, DMF, t.a., *overnight*

iii = (2) malononitrila, Na^0 , EtOH, THF, t.a., 1h; (2) 45 °C, 1h

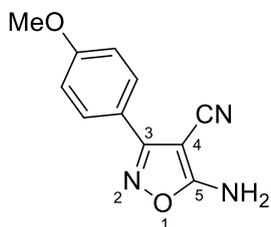
Conforme procedimento experimental descrito na literatura,¹⁰¹ em que, aril/heteroaryl aldeídos (**9a-h**, 10 mmol), cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 10 mmol) e carbonato de potássio (K_2CO_3 , 10 mmol) foram dissolvidos em 10 mL de metanol em um frasco de fundo redondo de 125 mL. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 3 h. Após a conclusão da reação, o solvente foi removido em rotaevaporador, água foi então adicionada ao resíduo e o sistema de mistura foi extraído com acetato de etila. A fase orgânica foi tornada anidra com sulfato de sódio anidro e concentrada em rotaevaporador de modo a obter-se o intermediário benzaldoxima (**9'**), que foi usado diretamente na próxima etapa sem purificação adicional.

De posse das oximas **9'**, a uma solução destas (10 mmol), em dimetilformamida (2 mL), foi adicionado *N*-clorossuccinimida (NCS, 11 mmol), em pequenas porções e sob baixa

temperatura, de acordo com procedimento experimental descrito na literatura.¹⁰² Após a adição total, a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 16 h e, terminado o tempo reacional, o conteúdo foi vertido em água fria, a solução foi extraída com éter dietílico e os compostos **9** foram utilizados diretamente na próxima etapa sem purificação adicional.

As 5-amino-3-aryl/heteroaryl-isoxazol-4-carbonitrilas (**10a-h**) foram obtidas de acordo com procedimento experimental descrito na literatura,¹⁰² em que, preparou-se primeiramente uma solução de etóxido de sódio (50 mmol de Na^o em 10 mL de etanol), ao qual, foi adicionado uma solução de malononitrila (**2**, 50 mmol, em 10 mL de THF), lentamente à temperatura ambiente. À mistura reacional foi adicionada uma solução do interemediário **9** em 10 mL de etanol, lentamente e em banho de gelo e que, passada a adição, foi agitada à temperatura ambiente por 1 h e a 45 °C por mais 1 h. A mistura foi então concentrada, adicionado água destilada e extraída com acetato de etila, lavada com uma solução aquosa de cloreto de sódio saturada (3 × 50 mL), fase orgânica foi então tornada anidra com sulfato de sódio anidro e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida e o produto bruto foi purificado por recristalização, empregando etanol como solvente, com rendimentos que variaram de 27-86%.

5-amino-3-(4-metoxifenil)isoxazol-4-carbonitrila (**10b**)



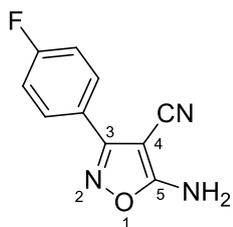
Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 52%. P.F.: 196-198 °C.

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8.53 (s, 2H, NH₂), 7.72 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H-4-OMeC₆H₄), 7.11 (d, *J* = 8.8 Hz 2H, H-4-OMeC₆H₄), 3.83 (s, 3H, OMe).

¹³C RMN (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 174.12 (C-5), 161.64 (4-OMeC₆H₄), 161.05 (C-3), 128.70 (4-OMeC₆H₄), 119.86 (4-OMeC₆H₄), 115.06 (4-OMeC₆H₄), 114.37 (CN), 63.32 (C-4), 55.85 (OMe).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₁₁H₉N₃O₂: 216.0768. Encontrado: 216.0766.

5-amino-3-(4-fluorfenil)isoxazol-4-carbonitrila (**10d**)



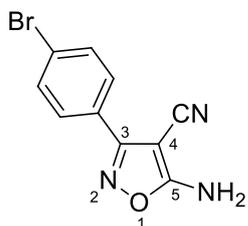
Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 45%. P.F.: 177-180 °C.

¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8.62 (s, 2H, NH₂), 7.86 – 7.78 (m, 2H, H-4-FC₆H₄), 7.42 (t, *J* = 8.8 Hz, 2H, H-4-FC₆H₄).

¹³C RMN (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 173.60 (C-5), 163.38 (d, *J* = 248.7 Hz, 4-FC₆H₄), 160.12 (C-3), 129.12 (d, *J* = 8.8 Hz, 4-FC₆H₄), 123.61

(d, *J* = 3.2 Hz, 4-FC₆H₄), 116.25 (d, *J* = 22.1 Hz, 4-FC₆H₄), 113.50 (CN), 63.04 (C-4).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₁₀H₆FN₃O: 204.0568. Encontrado: 204.0578.

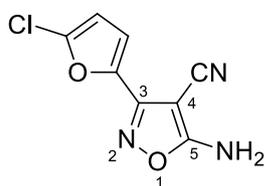
5-amino-3-(4-bromofenil)isoxazol-4-carbonitrila (10e)

Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 49%. P.F.: 206-208 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.65 (s, 2H, NH₂), 7.79 (d, J = 8.3 Hz, 2H, H-4-BrC₆H₄), 7.71 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-4-BrC₆H₄).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 173.64 (C-5), 160.13 (C-3), 132.17 (4-BrC₆H₄), 128.62 (4-BrC₆H₄), 126.25 (4-BrC₆H₄), 124.38 (4-BrC₆H₄), 113.37 (CN), 62.97 (C-4).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₁₀H₆BrN₃O: 263.9767. Encontrado: 263.9785.

5-amino-3-(5-clorofuran-2-il)isoxazol-4-carbonitrila (10g)

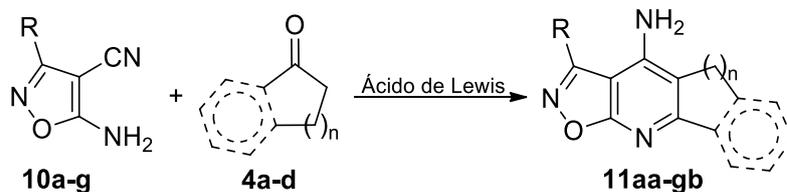
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 55%. P.F.: 163-169 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.71 (s, 2H, NH₂), 7.15 (d, J = 3.6 Hz, 1H, 5-Cl-2-furil), 6.78 (d, J = 3.6 Hz, 1H, 5-Cl-2-furil).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 173.01 (C-5), 152.06 (C-3), 141.17 (5-Cl-2-furil), 137.83 (5-Cl-2-furil), 114.64 (CN), 112.57 (5-Cl-2-furil), 109.31 (5-Cl-2-furil), 61.62 (C-4).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₈H₄ClN₃O₂: 210.0065. Encontrado: 210.0076.

4.7.6 Síntese de 3/8-aryl/heteroaril-hidrociclo-isoxazolo[5,4-*b*]quinolinaminas(piridinaminas) (11)

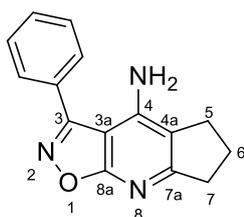


R = C₆H₅, 4-OMeC₆H₄, 4-MeC₆H₄, 4-FC₆H₄, 4-BrC₆H₄, 4-NO₂C₆H₄, 5-Cl-2-furil, 2-tienil
n = 1, 2, 3, 5,6-dihidronaftaleno

A uma mistura de de 5-amino-isoxazol-4-carbonitrila (**10a-g**, 1 mmol) e cicloalcanona (**4a-d**, 1,5 mmol), foi adicionado o cloreto de alumínio (AlCl₃, 2 mmol) e a mistura foi submetida à irradiação de microondas, cujos parâmetros experimentais estabelecidos foram à 100 °C, 15 min. e 250 W. Em seguida, foi realizada uma diluição com uma solução de clorofórmio/água (1/1) e tratada com uma solução aquosa de hidróxido de sódio (10%) até pH 11–12, sob agitação durante 30 min. Após isso, os compostos **11aa-gb** foram extraídos em

clorofórmio (30 mL) e a fase orgânica foi tornada anidra sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. Os produtos brutos foram então purificados por recristalização em etanol ou cromatografia em coluna de sílica gel, empregando acetato de etila e hexano como eluentes e em proporções que variaram de acordo com o substituinte, obtendo os produtos com rendimentos de 15-88 %.

3-fenil-6,7-dihidro-5H-ciclopenta[*b*]isoxazolo[4,5-*e*]piridin-4-amina (11aa)



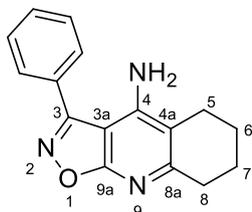
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 15%. P.F.: 246-248 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.10 (dd, $J = 7.3, 2.4$ Hz, 2H, H-C $_6$ H $_5$), 7.62 – 7.54 (m, 3H, H-C $_6$ H $_5$), 6.58 (s, 2H, NH $_2$), 2.85 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, H-5), 2.75 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-7), 2.08 (quint, $J = 7.5$ Hz, 2H, H-6)

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 160.58 (C-7a), 159.97 (C-8a), 156.94 (C-3a), 143.34 (C-3), 130.94 (C $_6$ H $_5$), 129.13 (C $_6$ H $_5$), 127.00 (C-4), 126.25 (C $_6$ H $_5$), 117.94 (C $_6$ H $_5$), 115.97 (C-4a), 33.91 (C-5), 27.13 (C-7), 22.48 (C-6).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para C $_{15}$ H $_{13}$ N $_3$ O: 252.1131. Encontrado: 252.1127.

3-fenil-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (11ab)⁵⁸

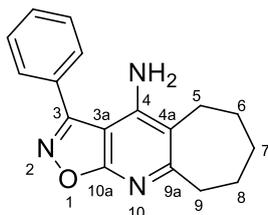


Aspecto físico: sólido marrom. Rendimento: 89%. P.F.: 252-256 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.14 – 8.05 (m, 2H, H-C $_6$ H $_5$), 7.64 – 7.51 (m, 3H, H-C $_6$ H $_5$), 6.48 (s, 2H, NH $_2$), 2.80 – 2.66 (m, 2H, H-5), 2.50 – 2.44 (m, 2H, H-8), 1.78 (quin, $J = 3.7$ Hz, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 157.88 (C-8a), 156.90 (C-9a), 152.11 (C-3a), 145.27 (C-3), 131.02 (C $_6$ H $_5$), 129.14 (C $_6$ H $_5$), 126.93 (C-4), 126.33 (C $_6$ H $_5$), 117.26 (C $_6$ H $_5$), 111.52 (C-4a), 32.79 (C-5), 23.11 (C-8), 22.40 (C-7), 22.08 (C-6).

3-fenil-6,7,8,9-tetraidro-5H-ciclohepta[*b*]isoxazolo[4,5-*e*]piridin-4-amina (11ac)⁵⁸

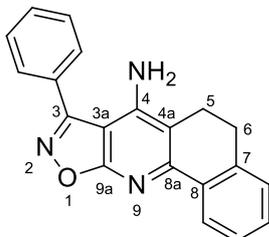


Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 55%. P.F.: 275-277 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.25 – 8.05 (m, 2H, H-C $_6$ H $_5$), 7.74 – 7.55 (m, 3H, H-C $_6$ H $_5$), 6.44 (s, 2H, NH $_2$), 2.95 – 2.83 (m, 2H, H-5), 2.78 – 2.72 (m, 2H, H-9), 1.81 (quin, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-6), 1.60 (quin, $J = 5.5$ Hz, 2H, H-8), 1.52 (quin, $J = 5.5$ Hz, 2H, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 159.41 (C-9a e C-10a), 157.20 (C-3a), 144.64 (C-3), 131.02 (C₆H₅), 129.13 (C₆H₅), 126.93 (C-4), 126.35 (C₆H₅), 118.20 (C₆H₅), 116.89 (C-4a), 38.39 (C-5), 31.68 (C-9), 27.04 (C-7), 26.19 (C-8), 24.67 (C-6).

8-fenil-5,6-dihidrobenzo[*h*]isoxazolo[5,4-*b*]quinolin-7-amina (11ad)



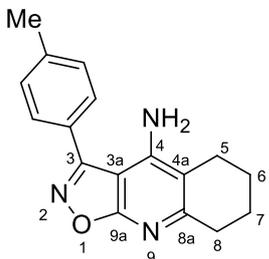
Aspecto físico: sólido marrom. Rendimento: 88%. P.F.: 192-195 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.28 – 8.15 (m, 1H, H-7d), 7.77 (dd, $J = 6.5, 3.0$ Hz, 2H, H-C₆H₅), 7.66 – 7.58 (m, 3H, H-C₆H₅), 7.44 – 7.35 (m, 2H, H-7b, H-7c), 7.34 – 7.29 (m, 1H, H-7a), 6.11 (s, 2H, NH₂), 2.93 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-6), 2.79 (t, $J = 7.3$ Hz, 2, H-5H).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 170.86 (C-8a), 158.35 (C-9a), 152.90 (C-3a), 149.07 (C-3), 138.99 (C-7), 134.48 (C-8), 130.84 (C₆H₅), 130.02 (C-7b), 129.86 (C₆H₅), 129.56 (C-7a), 128.96 (C₆H₅), 128.11 (C-7c), 127.24 (C-7d), 126.03 (C₆H₅), 110.67 (C-4a), 97.37 (C-7d), 27.46 (C-6), 21.26 (C-5).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₀H₁₅N₃O: 314.1288. Encontrado: 314.1282.

3-(*p*-tolil)-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (11cb)



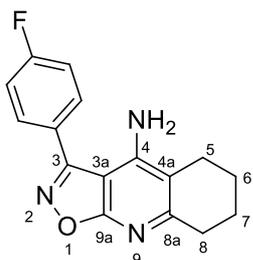
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 35%. P.F.: 225-227 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.99 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-4-MeC₆H₄), 7.40 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, H-4-MeC₆H₄), 6.41 (s, 2H, NH₂), 2.77 – 2.72 (m, 2H, H-5), 2.49 – 2.46 (m, 2H, H-8), 2.40 (s, 3H, Me), 1.81 – 1.74 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 157.83 (C-9a), 157.13 (C-8a), 151.88 (C-3a), 145.12 (C-3), 141.04, 129.70, 126.34, 124.25 (C-4), 117.26, 111.49 (C-4a), 32.77 (C-5), 23.10 (C-8), 22.42 (C-7), 22.10 (C-6), 21.00 (Me).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₁₇H₁₇N₃O: 280.1444. Encontrado: 280.1525.

3-(4-flúorfenil)-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (11db)



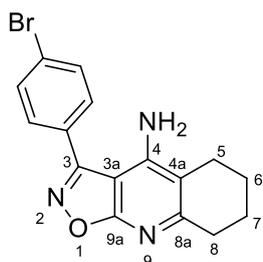
Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 42%. P.F.: 293-296 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.17 – 8.07 (m, 2H, H-4-FC₆H₄), 7.42 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H, H-4-FC₆H₄), 6.35 (s, 2H, NH₂), 2.78 – 2.67 (m, 2H, H-5), 2.49 – 2.47 (m, 2H, H-8), 1.86 – 1.70 (m, , 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 163.65 (d, $J = 249.1$ Hz, 4- FC_6H_4), 157.97 (C-8a), 156.23 (C-9a), 152.19 (C-3a), 145.24 (C-3), 128.88 (d, $J = 9.0$ Hz, 4- FC_6H_4), 123.67 (d, $J = 2.9$ Hz, 4- FC_6H_4), 117.34 (C-4), 116.33 (d, $J = 22.4$ Hz, 4- FC_6H_4), 111.66 (C-4a), 32.81 (C-5), 23.09 (C-8), 22.42 (C-7), 22.10 (C-6).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{O}$: 284.1194. Encontrado: 284.1210.

3-(4-bromofenil)-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (11eb)



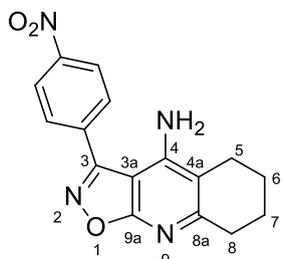
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 50%. P.F: 252-255 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.02 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-4- BrC_6H_4), 7.81 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-4- BrC_6H_4), 6.51 (s, 2H, NH_2), 2.79 – 2.70 (m, 2H, H-5), 2.49 – 2.43 (m, 2H, H-8), 1.77 (quin, $J = 3.9$ Hz, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 157.88 (C-8a), 156.05 (C-9a), 152.38 (C-3a), 145.37 (C-3), 132.23 (4- BrC_6H_4), 128.19 (4- BrC_6H_4), 126.12 (C-4), 124.52 (4- BrC_6H_4), 117.25 (4- BrC_6H_4), 111.60 (C-4a), 32.80 (C-5), 23.10 (C-8), 22.36 (C-7), 22.04 (C-6).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}$: 344.0393. Encontrado: 344.0410.

3-(4-nitrofenil)-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (11fb)



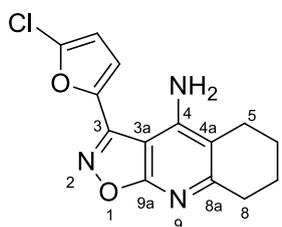
Aspecto físico: sólido marrom. Rendimento: 72%. P.F: 195-197 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 7.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 6.49 (s, 2H, NH_2), 2.78 – 2.70 (m, 2H, H-5), 2.48 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H, H-8), 1.77 (quin, $J = 3.9$ Hz, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 157.89 (C-8a), 156.07 (C-9a), 152.39 (C-3a), 145.37 (C-3), 132.23 (4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 128.19 (4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 126.13 (C-4), 124.52 (4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 117.27 (4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 111.61 (C-4a), 32.80 (C-5), 23.10 (C-8), 22.37 (C-7), 22.05 (C-6).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$: 311.1139. Encontrado: 311.1148.

3-(5-clorofuran-2-il)-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (11gb)



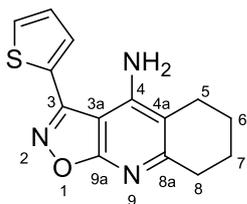
Aspecto físico: sólido laranja. Rendimento: 25%. P.F: 102-105 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.36 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, 5-Cl-2-furil), 6.83 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, 5-Cl-2-furil), 6.55 (s, 2H, NH_2), 2.76 – 2.71 (m, 2H, H-5), 2.46 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H, H-8), 1.83 – 1.65 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 157.33 (C-8a), 152.54 (C-9a), 148.55 (C-3a), 145.55 (C-3), 141.78 (5-Cl-2-furil), 138.21 (5-Cl-2-furil), 116.65 (C-4), 115.42 (5-Cl-2-furil), 111.85 (C-4a), 109.90 (5-Cl-2-furil), 32.90 (C-5), 23.18 (C-8), 22.45 (C-7), 22.11 (C-6).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_2$: 290.0691. Encontrado: 290.0710.

3-(tiofen-2-il)-5,6,7,8-tetrahidroisoxazolo[5,4-*b*]quinolin-4-amina (11hb)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 36%. P.F: 172-176 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.86 (dd, $J = 5.0, 1.3$ Hz, 1H, 2-tienil), 7.81 (dd, $J = 3.7, 1.2$ Hz, 1H, 2-tienil), 7.27 (dd, $J = 5.0, 3.7$ Hz, 1H, 2-tienil), 6.37 (s, 2H, NH_2), 2.78 – 2.70 (m, 2H, H-5), 2.47 (t, $J = 5.0$

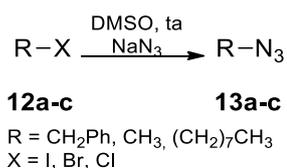
Hz, 2H, H-8), 1.77 (quin, $J = 3.2$ Hz, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 157.56 (C-8a), 153.26 (C-9a), 152.03 (C-3a), 145.03 (C-3), 130.40 (2-tienil), 129.31 (2-tienil), 129.01 (2-tienil), 128.55 (2-tienil), 128.48 (C-4), 117.07 (2-tienil), 111.72 (C-4a), 32.76 (C-5), 23.04 (C-8), 22.35 (C-7), 22.05 (C-6).

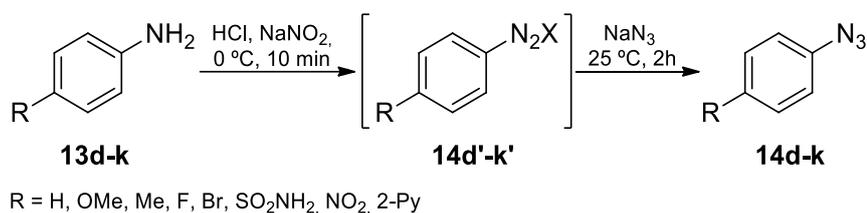
HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}$: 272.0852. Encontrado: 272.0861.

4.7.7 Síntese de Azidas Orgânicas (13)

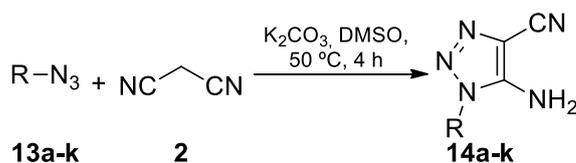
4.7.7.1 Síntese de alquil-azidas (13a-c)



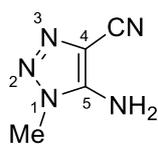
As azidas alquílicas foram sintetizadas de acordo com procedimento experimental descrito na literatura.¹¹⁰ Em um balão de 25 mL dissolveu-se cloreto ou brometo de alquila (**12a-c**, 10 mmol) em DMSO (15 mL) e adicionou-se lentamente NaN_3 (12 mmol). A reação foi agitada a temperatura ambiente até o desaparecimento dos materiais de partida. Adicionou-se água (40 mL) a mistura reacional e a solução foi extraída com éter etílico (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água (3 x 20 mL), solução saturada de NaCl (20 mL), secos com Na_2SO_4 anidro, filtrados e concentrados em vácuo. As azidas alquílicas foram utilizadas sem prévia purificação.

4.7.7.2 Síntese de aril-azidas (**13d-k**)

As aril azidas foram sintetizadas de acordo com procedimento experimental descrito na literatura.¹¹¹ Em um balão de 100 mL sob agitação magnética, dissolveu-se a aril amina substituída (**13d-k**, 4 mmol) em um solução aquosa 10% de HCl (10 mL). A solução foi levada 0 °C e adicionou-se uma solução aquosa de NaNO₂ (4 mmol – 20 mL) gota a gota, agitou-se durante 10 minutos e depois adicionou-se uma solução aquosa de NaN₃ (5 mmol – 20 mL) gota a gota. A solução foi deixada à temperatura ambiente e agitada durante 2 horas. Adicionou-se água (20 mL) a mistura reacional e a solução foi extraída com éter etílico (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram combinadas e lavadas com água (3 x 20 mL), solução saturada de NaCl (20 mL), secas com Na₂SO₄ anidro, filtradas e concentrados em vácuo. As aril azidas foram utilizadas sem prévia purificação.

4.7.8 Síntese de 5-amino-1-alkui(benzil/aril)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrilas (**14**)

As 5-amino-1-alkui(benzil/aril)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrilas foram sintetizadas de acordo com procedimento experimental descrito na literatura.^{103,112} Em um balão contendo malononitrila (**2**, 10 mmol) foi adicionada a uma solução da azida correspondente (**13a-k**, 10 mmol) em DMSO com K₂CO₃ anidro (30 mmol), e a mistura foi agitada a uma temperatura de 40-50 °C por 4h. Depois de ser resfriada à temperatura ambiente, a mistura foi vertida em água fria (100 mL) e o precipitado formado filtrado, lavado com água fria e purificado por recristalização em etanol, sendo obtidos na forma de sólidos em rendimentos de 10-85%.

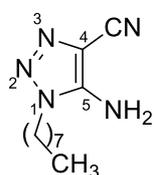
5-amino-1-metil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrila (14b)

Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 10%. P.F.: 227-230 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.00 (s, 2H, NH₂), 3.74 (s, 3H, Me).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 148.05 (C-5), 113.67 (CN), 100.96 (C-4), 32.80 (Me).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₄H₅N₅: 124.0618. Encontrado: 124.0613.

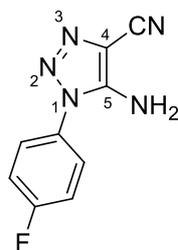
5-amino-1-octil-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrila (14c)

Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 15%. P.F.: 227-230 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.00 (s, 2H, NH₂), 4.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 1.69 (p, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 1.31 – 1.13 (m, 10H, CH₂), 0.85 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH₃).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 147.57 (C-5), 113.68 (CN), 100.93 (C-4), 45.52 (CH₂), 31.04 (CH₂), 28.41 (CH₂), 28.25 (CH₂), 27.99 (CH₂), 25.60 (CH₂), 21.93 (CH₂), 13.84 (CH₃).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₁₁H₁₉N₅: 222.1713. Encontrado: 222.1723.

5-amino-1-(4-fluorfenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrila (14g)

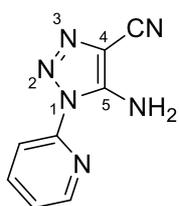
Aspecto físico: sólido marrom. Rendimento: 65%. P.F.: 185-188 °C.

^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7.66 – 7.60 (m, 2H, 4-FC₆H₄), 7.46 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H, 4-FC₆H₄), 7.16 (s, 2H, NH₂).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 162.28 (d, $J = 247.1$ Hz, 4-FC₆H₄), 148.02 (C-5), 130.18 (d, $J = 3.0$ Hz, 4-FC₆H₄), 127.78 (d, $J = 9.3$ Hz, 4-FC₆H₄),

116.66 (d, $J = 23.2$ Hz, 4-FC₆H₄), 113.31 (CN), 100.98 (C-4).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₉H₆FN₅: 204.0680. Encontrado: 204.0688.

5-amino-1-(piridin-2-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrila (14j)

Aspecto físico: sólido roxo. Rendimento: 20%. P.F.: 188-190 °C.

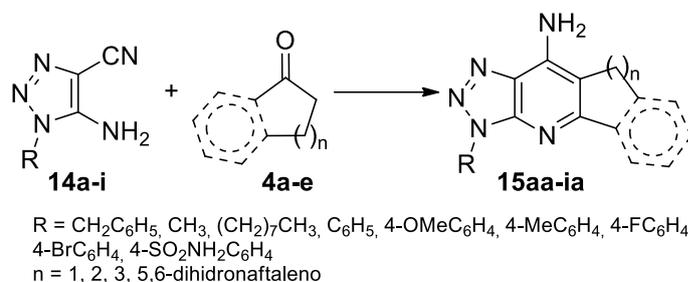
^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8.58 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H, 2-Py), 8.13 (bs, 3H, NH₂, 2-Py), 8.03 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, 2-Py), 7.57 – 7.49 (m, 1H, 2-Py).

^{13}C RMN (150 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 150.23 (2-Py), 147.92 (C-5), 147.78 (2-Py), 140.23 (2-Py), 123.14 (2-Py), 114.14 (2-Py), 113.03 (CN), 101.65 (C-

4).

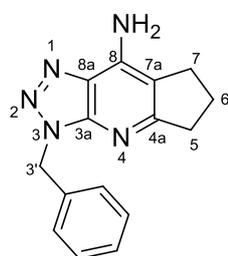
HRMS-ESI(+): $[M + H]^+$: Calc. para $C_8H_6N_6$: 187.0727. Encontrado: 187.0730.

4.7.9 Síntese de 3/10-alkuil(benzil/aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (15)



A uma mistura de 5-amino-1-alkuil(benzil/aril)-1*H*-1,2,3-triazol-4-carbonitrila (**14a-i**, 1mmol) e cicloalcanona (**4a-c**, 1 mmol), em, tolueno (1 mL), foi adicionado o cloreto de alumínio ($AlCl_3$, 2 mmol) e a mistura reacional foi aquecida à 110 °C sob agitação magnética por 24 horas. Em seguida, foi adicionada uma solução de NaOH (2M, 6 mL) e a mistura reacional permaneceu sob agitação magnética à mesma temperatura por mais 24 horas. Após o resfriamento do sistema à temperatura ambiente, os compostos **15aa-ia** foram extraídos em clorofórmio (30 mL) e a fase orgânica foi tornada anidra sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. Os produtos brutos foram então purificados por cromatografia em coluna de sílica gel empregando acetato de etila e hexano como eluentes e em proporções que variaram de acordo com o substituinte, obtendo os produtos com rendimentos de 4-74 %.

3-benzil-3,5,6,7-tetrahidrociclopenta[*b*][1,2,3]triazolo[4,5-*e*]piridin-8-amina (16aa)



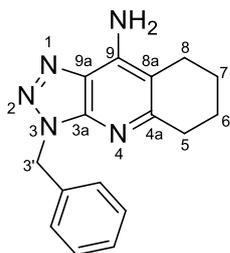
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 38%. P.F.: 184-189 °C.

1H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.39 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H- C_6H_5), 7.31 – 7.24 (m, 3H, H- C_6H_5), 5.78 (s, 2H, H-3'), 5.06 (s, 2H, NH_2), 3.05 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, H-5), 2.79 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-7), 2.23 (p, $J = 7.6$ Hz, 2H, H-6).

^{13}C RMN (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 169.01 (C-4a), 147.32 (C-3a), 140.97 (C-8a), 135.80 (C_6H_5), 128.65 (C_6H_5), 128.09 (C-8), 128.02 (C_6H_5), 127.98 (C_6H_5), 113.85 (C-7a), 49.83 (C-3'), 34.86 (C-5), 26.39 (C-7), 23.35 (C-6).

HRMS-ESI(+): $[M + H]^+$: Calc. para $C_{15}H_{15}N_5$: 266.1400. Encontrado: 266.1406 .

3-benzil-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16ab)



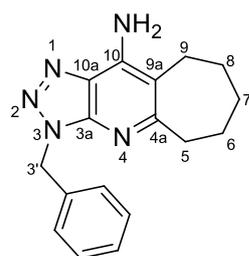
Aspecto físico: sólido marrom. Rendimento: 57%. P.F.: 214-217 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.41 – 7.35 (m, 2H, H- C_6H_5), 7.29 (tt, $J = 6.5, 1.1$ Hz, 2H, H- C_6H_5), 7.27 – 7.24 (m, 2H, H- C_6H_5), 5.77 (s, 2H, H-3'), 5.13 (s, 2H, NH_2), 2.96 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, H-5), 2.55 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H-8), 1.93 – 1.86 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 159.76 (C-4a), 144.94 (C-3a), 143.06 (C-9a), 135.94 (C_6H_5), 128.62 (C_6H_5), 128.08 (C_6H_5), 127.93 (C-9), 127.25 (C_6H_5), 108.83 (C-8a), 49.65 (C-3'), 34.15 (C-5), 23.04 (C-8), 22.82 (C-6), 22.57 (C-7).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5$: 280.1557. Encontrado: 280.1559.

3-benzil-3,5,6,7,8,9-hexahidrociclohepta[b][1,2,3]triazolo[4,5-e]piridin-10-amina (16ac)



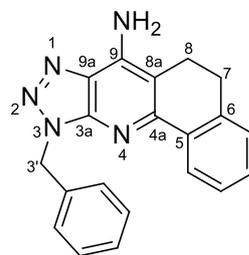
Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 20%. P.F.: 180-184 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.45 – 7.39 (m, 2H, H- C_6H_5), 7.32 – 7.25 (m, 3H, H- C_6H_5), 5.77 (s, 2H, H-3'), 5.08 (s, 2H, NH_2), 3.08 – 3.06 (m, 2H, H-5), 2.70 – 2.67 (m, 2H, H-9), 1.87 (p, $J = 6.2$ Hz, 2H, H-6), 1.73 (p, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-8), 1.66 (p, $J = 5.8$ Hz, 2H, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 166.61 (C-4a), 144.44 (C-3a), 142.00 (C-10a), 135.87 (C_6H_5), 128.63 (C_6H_5), 128.16 (C_6H_5), 127.96 (C_6H_5), 127.94 (C-10), 114.34 (C-9a), 49.71 (C-3'), 39.78 (C-5), 32.10 (C-9), 27.49 (C-7), 26.67 (C-8), 25.56 (C-6).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_5$: 294.1713. Encontrado: 294.1711.

10-benzil-6,10-dihidro-5H-benzo[h][1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-7-amina (16ae)



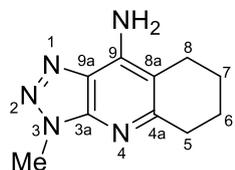
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 4%. P.F.: 124-126 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.42 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H, H-5a), 7.52 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, H- C_6H_5), 7.38 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, H-5b), 7.36 – 7.30 (m, 3H, H-5c), 7.28 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H- C_6H_5), 7.25 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H-5d, H- C_6H_5), 5.85 (s, 2H, H-3'), 5.28 (s, 2H, NH_2), 2.98 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-7), 2.79 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, H-8).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 153.72 (C-4a), 145.64 (C-3a), 142.46 (C-9a), 138.39 (C-6), 135.78 (C_6H_5), 134.89 (C-5), 129.45 (C-5c), 128.70 (C_6H_5), 128.47 (C_6H_5), 128.10 (C_6H_5), 127.88 (C-9), 127.56 (C-5d), 127.04 (C-5b), 126.26 (C-5a), 108.87 (C-8a), 50.11 (C-3'), 27.85 (C-7), 21.44 (C-8).

HRMS-ESI(+): $[M + H]^+$: Calc. para $C_{20}H_{17}N_5$: 328.1557. Encontrado: 328.1565.

3-metil-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16ba)



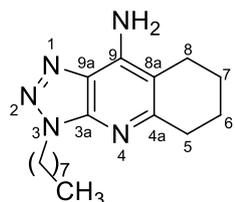
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 74%. P.F.: 189-192 °C.

1H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 5.33 (s, 2H, NH_2), 4.22 (s, 3H, H-Me), 2.97 (t, $J = 5.9$ Hz, 3H, H-5), 2.56 (t, $J = 6.0$ Hz, 3H, H-8), 1.91 (dd, $J = 8.5, 4.7$ Hz, 6H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 159.56 (C-4a), 145.19 (C-3a), 143.28 (C-9a), 127.23 (C-9), 108.69 (C-8a), 34.12 (C-5), 32.70 (Me), 23.02 (C-8), 22.83 (C-6), 22.56 (C-7).

HRMS-ESI(+): $[M + H]^+$: Calc. para $C_{10}H_{13}N_5$: 204.1244. Encontrado: 204.1250.

3-octil-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16ca)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 52%. P.F.: 88-91 °C.

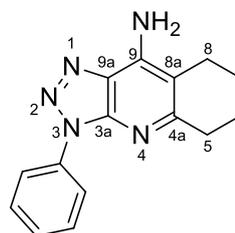
1H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 5.24 (s, 2H, NH_2), 4.58 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2), 2.96 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, H-5), 2.56 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, H-8), 2.01 (p, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2), 1.94 – 1.83 (m, 4H, H-6, H-7), 1.42 – 1.12

(m, 10H, CH_2), 0.86 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C RMN (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 159.33 (C-4a), 144.92 (C-3a), 143.10 (C-9a), 127.30 (C-9), 108.63 (C-8a), 46.39 (CH_2), 34.16 (CH_2), 31.74 (CH_2), 29.61 (CH_2), 29.10 (CH_2), 29.05 (CH_2), 26.64 (CH_2), 23.06 (C-8), 22.87 (C-6), 22.61 (CH_2), 22.60 (C-7), 14.08 (CH_3).

HRMS-ESI(+): $[M + H]^+$: Calc. para $C_{17}H_{27}N_5$: 302.2339. Encontrado: 302.2347.

3-fenil-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16da)



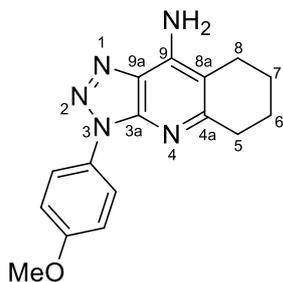
Aspecto físico: sólido vermelho. Rendimento: 42%. P.F.: 173-176 °C.

1H RMN (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8.35 – 8.22 (m, 2H, H- C_6H_5), 7.58 – 7.53 (m, 2H, H- C_6H_5), 7.42 – 7.36 (m, 1H, H- C_6H_5), 5.18 (s, 2H, NH_2), 3.00 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H-5), 2.59 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, H-8), 1.97 – 1.87 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 160.19 (C-4a), 144.53 (C-3a), 143.22 (C-9a), 137.15 (C_6H_5), 129.34 (C_6H_5), 127.97 (C-9), 127.46 (C_6H_5), 121.18 (C_6H_5), 109.38 (C-8a), 34.33 (C-5), 22.99 (C-8), 22.81 (C-6), 22.55 (C-7).

HRMS-ESI(+): $[M + H]^+$: Calc. para $C_{15}H_{15}N_5$: 266.1400. Encontrado: 266.1407.

3-(4-metóxiifenil)-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16ea)



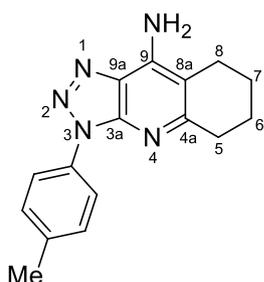
Aspecto físico: sólido bege. Rendimiento: 42%. P.F.: 190-193 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.16 – 8.11 (m, 2H, H-4-OMeC₆H₄), 7.09 – 7.05 (m, 2H, H-4-OMeC₆H₄), 5.17 (s, 2H, NH₂), 3.87 (s, 3H, H-OMe), 2.98 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H-5), 2.59 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, H-8), 1.96 – 1.87 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.09 (C-4a), 158.95 (4-OMeC₆H₄), 144.43 (C-3a), 143.16 (C-9a), 130.33 (4-OMeC₆H₄), 127.84 (C-9), 122.99 (4-OMeC₆H₄), 114.53 (4-OMeC₆H₄), 109.19 (C-8a), 55.58 (OMe), 34.34 (C-5), 23.01 (C-8), 22.83 (C-6), 22.57 (C-7).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para C₁₆H₁₇N₅O: 296.1506. Encontrado: 296.1511.

3-(*p*-tolil)-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16fa)



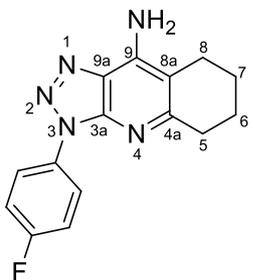
Aspecto físico: sólido rosa. Rendimiento: 44%. P.F.: 193-196 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-4-MeC₆H₄), 7.35 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-4-MeC₆H₄), 5.21 (s, 2H, NH₂), 2.99 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H-5), 2.58 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H, H-8), 2.42 (s, 3H, Me), 1.97 – 1.84 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.09 (C-4a), 144.49 (C-3a), 143.18 (C-9a), 137.42 (4-MeC₆H₄), 134.65 (4-MeC₆H₄), 129.86 (4-MeC₆H₄), 127.90 (C-9), 121.28 (4-MeC₆H₄), 109.24 (C-8a), 34.33 (C-5), 23.00 (C-8), 22.82 (C-6), 22.57 (C-7), 21.17 (Me).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para C₁₆H₁₇N₅: 280.1557. Encontrado: 280.1564.

3-(4-fluorfenil)-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16ga)



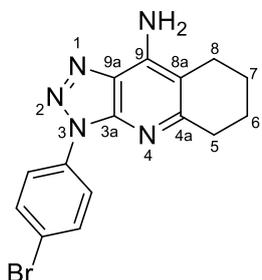
Aspecto físico: sólido bege. Rendimiento: 27%. P.F.: 177-180 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.33 – 8.25 (m, 2H, H-4-FC₆H₄), 7.28 – 7.21 (m, 2H, H-4-FC₆H₄), 5.15 (s, 2H, NH₂), 2.99 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, H-5), 2.59 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, H-8), 1.97 – 1.85 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 161.66 (d, $J = 247.1$ Hz, 4-FC₆H₄), 160.32 (C-4a), 144.40 (C-3a), 143.25 (C-9a), 133.33 (d, $J = 2.5$ Hz, 4-FC₆H₄), 127.90 (C-9), 122.94 (d, $J = 8.3$ Hz, 4-FC₆H₄), 116.20 (d, $J = 23.0$ Hz, 4-FC₆H₄), 109.44 (C-8a), 34.31 (C-5), 22.98 (C-8), 22.78 (C-6), 22.52 (C-7).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para C₁₅H₁₄FN₅: 284.1306. Encontrado: 284.1312.

3-(4-bromofenil)-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-9-amina (16ha)



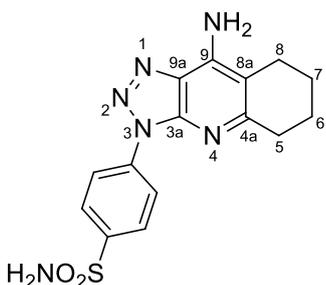
Aspecto físico: sólido laranja. Rendimento: 25%. P.F.: 201-204 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.28 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-4- BrC_6H_4), 7.67 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H-4- BrC_6H_4), 5.15 (s, 2H, NH_2), 2.99 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, H-5), 2.59 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, H-8), 1.96 – 1.89 (m, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.36 (C-4a), 144.43 (C-3a), 143.29 (C-9a), 136.27 (4- BrC_6H_4), 132.41 (4- BrC_6H_4), 127.98 (C-9), 122.33 (4- BrC_6H_4), 120.83 (4- BrC_6H_4), 109.57 (C-8a), 34.30 (C-5), 22.97 (C-8), 22.76 (C-6), 22.50 (C-7).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{BrN}_5$: 344.0505. Encontrado: 344.0498.

4-(9-amino-5,6,7,8-tetrahidro-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]quinolin-3-il)benzenosulfonamida (15ib)



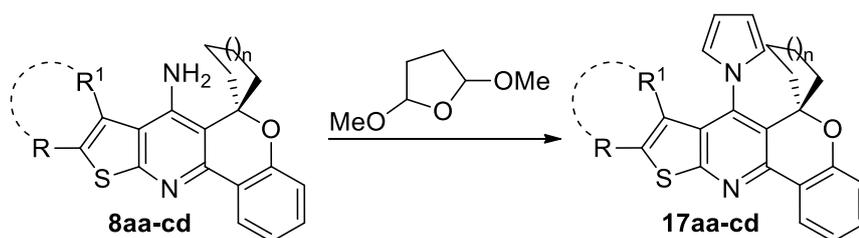
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 8%. P.F.: 210-213 °C.

^1H RMN (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 8.54 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-4- $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 8.05 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H, H-4- $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 7.48 (s, 2H, NH_2SO_2), 7.17 (s, 2H, NH_2), 2.91 – 2.78 (m, 2H, H-5), 2.58 – 2.53 (m, 1H, H-8), 1.81 (bs, 4H, H-6, H-7).

^{13}C RMN (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 158.96 (C-4a), 145.17 (C-3a), 144.20 (C-9a), 142.21 (4- $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 139.05 (4- $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 127.21 (C-9), 127.07 (4- $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 120.00 (4- $\text{NH}_2\text{SO}_2\text{C}_6\text{H}_4$), 109.22 (C-8a), 33.71 (C-5), 22.98 (C-8), 22.31 (C-6), 22.01 (C-7).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}$: 345.1128. Encontrado: 345.1140.

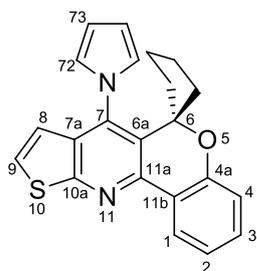
4.7.10 Síntese de 7-(1H-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-b]tieno[3,2-e]piridina-6,1'-ciclohexano (18aa-cd)



R, $\text{R}^1 = \text{H}$ (17aa-ca), $-(\text{CH}_2)_3-$ (17ab-cb), $-(\text{CH}_2)_4-$ (17ac-cc), $-(\text{CH}_2)_5-$ (17ad-cd)
 $n = 1$ (17aa-ad), 2 (17ba-bd), 3 (17ca-cd)

A uma mistura de espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-amina (**8aa-cd**, 1 mmol) e 2,5-dimetóxitetrahidrofurano (2 mmol) foram adicionados 5 mL de ácido acético glacial. A mistura reacional foi aquecida a 90 °C sob agitação magnética por 24 horas. Após o resfriamento do sistema a temperatura ambiente, foram adicionados 20 mL de clorofórmio e os compostos **17aa-cd** foram lavados com água destilada (3 x 15 mL). A fase orgânica foi tornada anidra sobre sulfato de sódio anidro, filtrada e o solvente removido em rotaevaporador sob pressão reduzida. Os produtos brutos foram então purificados por cromatografia em coluna de sílica gel empregando acetato de etila e hexano como eluentes e em proporções que variaram de acordo com o substituinte, obtendo os produtos com rendimentos de 66-95%.

7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclopentano] (**17aa**)



Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 88%. P.F.: 142–145 °C.

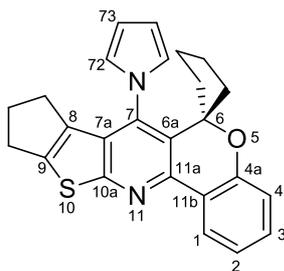
¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.35 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H-1), 7.38 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, H-9), 7.36 – 7.30 (m, 1H, H-3), 7.13 (td, *J* = 7.6, 1.1 Hz, 1H, H-2), 6.92 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H, H-4), 6.78 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-72/72'), 6.65 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, H-8), 6.38 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-73/73'), 2.20 – 2.06 (m, 2H, CH₂), 1.91 – 1.80 (m, 2H, CH₂), 1.65 –

1.56 (m, 2H, CH₂), 1.41 – 1.32 (m, 2H, CH₂).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 161.29 (C-10a), 154.22 (C-11b), 148.71 (C-11a), 138.56 (C-7), 132.04 (C-7a), 131.42 (C-3), 127.40 (C-9), 125.86 (C-6a), 125.61 (C-1), 123.90 (C-4a), 122.90 (C-72/72'), 122.17 (C-2), 119.59 (C-8), 117.64 (C-4), 109.85 (C-73/73'), 89.45 (C-6), 36.44 (CH₂), 23.23 (CH₂).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₂H₁₈N₂OS: 359.1213. Encontrado: 359.1220.

7-(1*H*-pirrol-1-il)-9,10-dihidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclopenta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclopentano] (**17ab**)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 83%. P.F.: 203-206 °C.

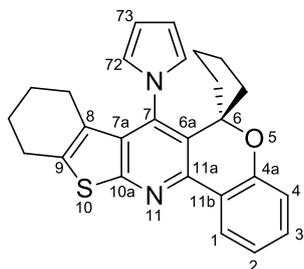
¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.33 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H-1), 7.30 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-3), 7.11 (td, *J* = 7.6, 1.4 Hz, 1H, H-2), 6.90 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H, H-4), 6.71 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-72/72'), 6.33 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-73/73'), 2.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 2.26 (quint, *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂), 2.17 – 2.05 (m, 4H, CH₂),

1.92 – 1.74 (m, 2H, CH₂), 1.61 – 1.47 (m, 2H, CH₂), 1.27 – 1.16 (m, 2H, CH₂).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 165.88 (C-10a), 153.94 (C-11b), 146.67 (C-11a), 143.99 (C-7), 137.04 (C-9), 136.72 (C-7a), 130.98 (C-3), 128.46 (C-8), 126.10 (C-6a), 125.32 (C-1), 124.02 (C-4a), 123.96 (C-72/72'), 122.05 (C-2), 117.47 (C-4), 109.21 (C-73/73'), 89.37 (C-6), 36.17 (CH_2), 30.27 (CH_2), 27.30 (CH_2), 26.45 (CH_2), 23.04 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{OS}$: 399.1526. Encontrado: 399.1520.

7-(1H-pirrol-1-il)-8,9,10,11-tetrahidroespiro[benzo[4,5]tieno[2,3-b]cromeno[3,4-e]piridina-6,1'-ciclopentano] (17ac)



Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 66%. P.F.: 199-203 °C.

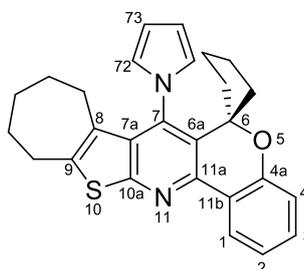
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.33 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.33 – 7.27 (m, 1H, H-3), 7.10 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.90 (dd, $J = 8.1, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 6.70 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-72/72'), 6.31 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-73/73'), 2.84 (tt, $J = 6.5, 1.9$ Hz, 2H), 2.14 – 2.04 (m, 2H), 1.92 (td, $J = 6.2, 3.0$ Hz, 2H), 1.85 – 1.75 (m, 4H),

1.65 – 1.51 (m, 4H), 1.13 – 1.03 (m, 2H).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.82 (C-10a), 153.96 (C-11b), 146.82 (C-11a), 138.72 (C-7), 137.51 (C-9), 131.00 (C-3), 130.55 (C-7a), 127.95 (C-8), 126.26 (C-6a), 125.34 (C-1), 124.36 (C-72/72'), 124.02 (C-4a), 122.01 (C-2), 117.37 (C-4), 109.28 (C-73/73'), 89.58 (C-6), 35.78 (CH_2), 26.38 (CH_2), 22.8 (CH_2), 22.61 (CH_2), 22.49 (CH_2), 21.04 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{OS}$: 413.1682. Encontrado: 413.1697.

7-(1H-pirrol-1-il)-9,10,11,12-tetrahidro-8H-espiro[cromeno[4,3-b]ciclohepta[4,5]tieno[3,2-e]piridina-6,1'-ciclopentano] (17ad)



Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 95%. P.F.: 183-186 °C.

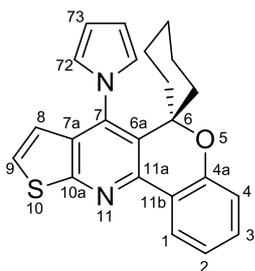
^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.31 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.35 – 7.27 (m, 1H, H-3), 7.10 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.90 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 6.72 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-72/72'), 6.32 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-73/73'), 2.94 – 2.77 (m, 2H, CH_2), 2.16 – 2.07 (m, 2H, CH_2), 1.87 – 1.74 (m, 4H, CH_2), 1.67 (quint, $J = 5.8$

Hz, 2H, CH_2), 1.59 – 1.52 (m, 4H, CH_2), 1.32 (quint, $J = 5.6$ Hz, 2H, CH_2), 1.18 – 1.11 (m, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.14 (C-10a), 153.94 (C-11b), 146.54 (C-11a), 143.33 (C-7), 137.24 (C-9), 133.80 (C-7a), 130.93 (C-3), 130.91 (C-8), 126.38 (C-6a), 125.28 (C-1),

124.05 (C-4a), 123.68 (C-72/72'), 122.01 (C-2), 117.35 (C-4), 109.53 (C-73/73'), 89.71 (C-6), 35.94 (CH₂), 32.63 (CH₂), 30.32 (CH₂), 27.58 (CH₂), 27.21 (CH₂), 25.26 (CH₂), 22.88 (CH₂).
 HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₇H₂₆N₂OS: 427.1839. Encontrado: 427.1849.

7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (17ba)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 95%. P.F.: 184-187 °C.

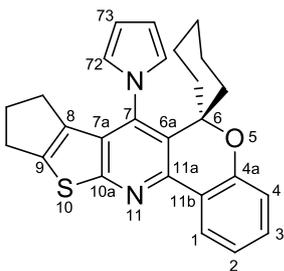
¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.35 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H-1), 7.40 – 7.33 (m, 2H, H-3, H-9), 7.13 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-2), 7.02 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H, H-4), 6.81 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-72/72'), 6.61 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H, H-8), 6.39 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-73/73'), 2.14 – 2.07 (m, 2H, CH₂), 1.84 – 1.73 (m, 2H, CH₂), 1.69 – 1.63 (m, 1H, CH₂), 1.47 – 1.39

(m, 2H, CH₂), 1.23 – 1.14 (m, 2H, CH₂), 1.15 – 1.04 (m, 1H, CH₂).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 161.16 (C-10a), 153.69 (C-11b), 148.26 (C-11a), 139.05 (C-7), 132.30 (C-7a), 131.48 (C-3), 128.48 (C-6a), 127.37 (C-9), 125.62 (C-1), 123.86 (C-4a), 123.20 (C-72/72'), 122.11 (C-2), 119.65 (C-8), 117.49 (C-4), 109.65 (C-73/73'), 80.06 (C-6), 33.40 (CH₂), 24.63 (CH₂), 21.67 (CH₂).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₃H₃₀N₂OS: 373.1369. Encontrado: 373.1377.

7-(1*H*-pirrol-1-il)-9,10-dihidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclopenta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (17bb)



Aspecto físico: sólido amarelo. Rendimento: 66%. P.F.: 222-225 °C.

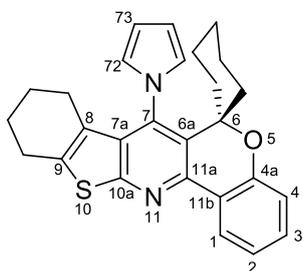
¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.32 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, H-1), 7.33 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-3), 7.11 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, H-2), 7.00 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H, H-4), 6.73 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-72/72'), 6.33 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-73/73'), 2.96 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 2.25 (quint, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 2.14 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂),

2.07 (d, *J* = 13.3 Hz, 2H, CH₂), 1.77 (qt, *J* = 13.4, 3.7 Hz, 2H, CH₂), 1.64 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H, CH₂), 1.40 (dt, *J* = 13.4, 3.4 Hz, 2H, CH₂), 1.11 – 0.95 (m, 3H, CH₂).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.75 (C-10a), 153.37 (C-11b), 146.17 (C-11a), 143.90 (C-7), 137.51 (C-9), 136.82 (C-7a), 131.03 (C-3), 128.79 (C-8), 128.58 (C-6a), 125.33 (C-1), 124.33 (C-72/72'), 123.96 (C-4a), 121.96 (C-2), 117.33 (C-4), 108.97 (C-73/73'), 80.03 (C-6), 33.42 (CH₂), 30.27 (CH₂), 27.30 (CH₂), 26.38 (CH₂), 24.61 (CH₂), 21.75 (CH₂).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₆H₂₄N₂OS: 413.1682. Encontrado: 413.1701.

7-(1*H*-pirrol-1-il)-8,9,10,11-tetrahidroespiro[benzo[4,5]tieno[2,3-*b*]cromeno[3,4-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (17bc)



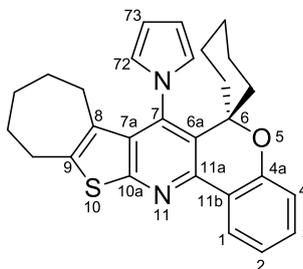
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 81%. P.F.: 230-233 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.32 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.32 (td, $J = 7.6, 1.7$ Hz, 1H, H-3), 7.10 (td, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H, H-2), 6.99 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 6.73 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-72/72'), 6.31 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-73/73'), 2.83 (td, $J = 5.3, 4.5, 3.1$ Hz, 2H, CH_2), 2.07 – 1.98 (m, 2H, CH_2), 1.92 (tt, $J = 6.3, 1.8$ Hz, 2H, CH_2), 1.82 – 1.71 (m, 4H, CH_2), 1.65 – 1.54 (m, 3H, CH_2), 1.42 – 1.36 (m, 2H, CH_2), 1.10 – 0.99 (m, 1H, CH_2), 0.94 (td, $J = 13.4, 4.2$ Hz, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.72 (C-10a), 153.38 (C-11b), 146.31 (C-11a), 138.66 (C-7), 138.04 (C-9), 131.03 (C-3), 130.65 (C-7a), 129.08 (C-6a), 128.04 (C-8), 125.36 (C-1), 124.85 (C-72/72'), 123.98 (C-4a), 121.91 (C-2), 117.24 (C-4), 109.01 (C-73/73'), 80.34 (C-6), 33.26 (CH_2), 26.40 (CH_2), 24.54 (CH_2), 22.61 (CH_2), 22.53 (CH_2), 21.86 (CH_2), 20.98 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{OS}$: 427.1839. Encontrado: 427.1856.

7-(1*H*-pirrol-1-il)-9,10,11,12-tetrahidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclohepta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano] (17bd)



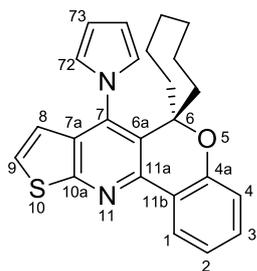
Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 88%. P.F.: 185-189 °C.

^1H RMN (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.30 (dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H, H-1), 7.32 (td, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H, H-3), 7.10 (td, $J = 7.5, 1.1$ Hz, 1H, H-2), 7.00 (dd, $J = 8.0, 1.1$ Hz, 1H, H-4), 6.75 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-72/72'), 6.32 (t, $J = 2.1$ Hz, 2H, H-73/73'), 2.88 – 2.86 (m, 2H, CH_2), 2.05 (d, $J = 11.3$ Hz, 2H, CH_2), 1.85 – 1.71 (m, 4H, CH_2), 1.70 – 1.60 (m, 3H, CH_2), 1.58 – 1.55 (m, 2H, CH_2), 1.38 (dt, $J = 13.5, 3.2$ Hz, 2H, CH_2), 1.31 (quint, $J = 5.7$ Hz, 2H, CH_2), 1.10 – 0.98 (m, 3H, CH_2).

^{13}C RMN (150 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.05 (C-10a), 153.34 (C-11b), 146.03 (C-11a), 143.31 (C-7), 137.75 (C-9), 133.91 (C-7a), 130.98 (C-3), 129.21 (C-8), 125.30 (C-1), 124.14 (C-72/72'), 124.01 (C-4a), 121.93 (C-2), 117.24 (C-4), 109.26 (C-73/73'), 80.50 (C-6a), 33.43 (CH_2), 32.66 (CH_2), 30.32 (CH_2), 27.61 (CH_2), 27.21 (CH_2), 25.24 (CH_2), 24.57 (CH_2), 21.89 (CH_2).

HRMS-ESI(+): $[\text{M} + \text{H}]^+$: Calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{OS}$: 441.1995. Encontrado: 441.2000.

7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-cicloheptano] (17ca)



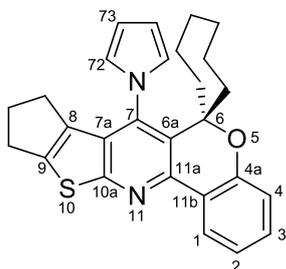
Aspecto físico: sólido bege. Rendimento: 83%. P.F.: 163-166 °C.

¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.32 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, H-1), 7.39 – 7.32 (m, 2H, H-3, H-9), 7.11 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-2), 7.00 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-4), 6.81 (t, *J* = 2.4 Hz, 2H, H-72/72'), 6.56 (dd, *J* = 6.0, 1.0 Hz, 1H, H-8), 6.39 (t, *J* = 2.5 Hz, 2H, H-73/73'), 2.26 (dd, *J* = 14.7, 6.5 Hz, 2H, CH₂), 1.81 (q, *J* = 11.3 Hz, 2H, CH₂), 1.73 – 1.62 (m, 3H, CH₂), 1.58 – 1.49 (m, 3H, CH₂), 1.46 – 1.31 (m, 5H, CH₂).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 161.05 (C-10a), 153.76 (C-11b), 147.69 (C-11a), 139.09 (C-7), 132.47 (C-7a), 131.51 (C-3), 130.36 (C-6a), 127.35 (C-9), 125.52 (C-1), 123.54 (C-4a), 123.38 (C-72/72'), 122.03, (C-2) 119.65 (C-8), 117.64 (C-4), 109.73 (C-73/73'), 83.18 (C-6), 37.89 (CH₂), 27.31 (CH₂), 21.82 (CH₂).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₄H₂₂N₂OS: 387.1526. Encontrado: 387.1553.

7-(1*H*-pirrol-1-il)-9,10-dihidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclopenta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-cicloheptano] (17cb)



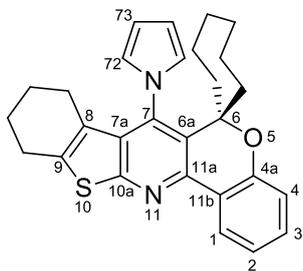
Aspecto físico: sólido branco. Rendimento: 95%. P.F.: 212-216 °C.

¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.31 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H, H-1), 7.32 (td, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H, H-3), 7.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, H-2), 6.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, H-4), 6.74 (bs, 2H, H-72/72'), 6.33 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-73/73'), 2.95 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 2.30 – 2.21 (m, 4H, CH₂), 2.13 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 1.80 (q, *J* = 11.6, 11.1 Hz, 2H, CH₂), 1.69 – 1.61 (m, 2H, CH₂), 1.44 – 1.30 (m, 6H, CH₂).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.69 (C-10a), 153.48 (C-11b), 145.63 (C-11a), 143.91 (C-7), 137.61 (C-9), 136.83 (C-7a), 131.07 (C-3), 130.66 (C-8), 128.84 (C-6a), 125.26 (C-1), 124.52 (C-72/72'), 123.65 (C-4a), 121.89 (C-2), 117.47 (C-4), 109.01 (C-73/73'), 83.11 (C-6), 37.79 (CH₂), 30.27 (CH₂), 27.31 (CH₂), 27.12 (CH₂), 26.43 (CH₂), 21.74 (CH₂).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₇H₂₆N₂OS: 427.1839. Encontrado: 427.1852.

7-(1*H*-pirrol-1-il)-8,9,10,11-tetrahidroespiro[benzo[4,5]tieno[2,3-*b*]cromeno[3,4-*e*]piridina-6,1'-cicloheptano] (17cc)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimiento: 88%. P.F.: 227-231 °C.

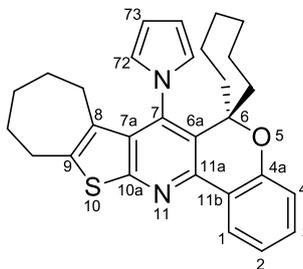
¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.30 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, H-1), 7.31 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-3), 7.09 (td, *J* = 7.5, 1.1 Hz, 1H, H-2), 6.97 (dd, *J* = 8.1, 1.1 Hz, 1H, H-4), 6.73 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-72/72'), 6.31 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-73/73'), 2.84 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H), 2.20 (dd, *J* = 14.5, 5.7 Hz, 2H), 1.91 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 1.84 – 1.74

(m, 4H), 1.69 – 1.57 (m, 4H), 1.41 – 1.31 (m, 4H), 1.28 – 1.20 (m, 2H).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 160.68 (C-10a), 153.47 (C-11b), 145.77 (C-11a), 138.64 (C-7), 138.10 (C-9), 131.08 (C-3), 130.89 (C-7a), 130.86 (C-8), 128.06 (C-6a), 125.29 (C-1), 125.00 (C-72/72'), 123.67 (C-4a), 121.85 (C-2), 117.38 (C-4), 109.00 (C-73/73'), 83.26 (C-6), 37.40 (CH₂), 26.86 (CH₂), 26.42 (CH₂), 22.59 (CH₂), 22.54 (CH₂), 21.71 (CH₂), 20.96 (CH₂).

HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₈H₂₈N₂OS: 441.1995. Encontrado: 441.2008.

7-(1*H*-pirrol-1-il)-9,10,11,12-tetrahidro-8*H*-espiro[cromeno[4,3-*b*]ciclohepta[4,5]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-cicloheptano] (17cd)



Aspecto físico: sólido bege. Rendimiento: 78%. P.F.: 203-206 °C.

¹H RMN (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.27 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, H-1), 7.31 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H, H-3), 7.09 (td, *J* = 7.6, 1.1 Hz, 1H, H-2), 6.97 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H, H-4), 6.75 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-72/72'), 6.32 (t, *J* = 2.1 Hz, 2H, H-73/73'), 2.90 – 2.74 (m, 2H, CH₂), 2.29 – 2.09 (m, 2H, CH₂), 1.84 – 1.77 (m, 4H, CH₂), 1.68 –

1.61 (m, 4H, CH₂), 1.54 – 1.50 (m, 2H, CH₂), 1.41 – 1.28 (m, 8H, CH₂).

¹³C RMN (150 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 160.04 (C-10a), 153.45 (C-11b), 145.50 (C-11a), 143.31 (C-7), 137.81 (C-9), 133.92 (C-7a), 131.25 (C-8), 131.05 (C-6a), 131.02 (C-3), 125.26 (C-1), 124.34 (C-72/72'), 123.73 (C-4a), 121.88 (C-2), 117.39 (C-4), 109.27 (C-73/73'), 83.48 (C-6), 37.63 (CH₂), 32.69 (CH₂), 30.36 (CH₂), 27.68 (CH₂), 27.22 (CH₂), 26.98 (CH₂), 25.24 (CH₂), 21.80 (CH₂).

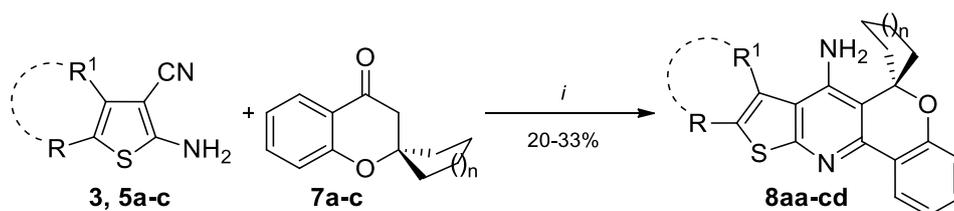
HRMS-ESI(+): [M + H]⁺: Calc. para C₂₉H₃₀N₂OS: 455.2152. Encontrado: 455.2192.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os objetivos propostos e os resultados obtidos nesta Tese, pode-se concluir que:

✓ Desenvolveu-se e otimizou-se metodologia sintética para a obtenção de uma série de 12 (doze) novos tacrinas híbridas, denominadas espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**) a partir de reações de ciclocondensação [4+2] entre espiro[croman-2,1'-cicloalcan]-4-onas (**7**) (bloco CC) e 2-aminotiofenos-3-carbonitrilas (**3,5**) (bloco CCCN), utilizando AlCl₃ como ácido de Lewis, na ausência de solvente e sob aquecimento térmico convencional, com rendimentos variando na faixa de 20-33% (Esquema 27);

Esquema 27



R, R¹ = H (**3**, **8aa-ca**), -(CH₂)₃- (**5a**, **8ab-cb**), -(CH₂)₄- (**5b**, **8ac-cc**), -(CH₂)₅- (**5c**, **8ad-cd**)
 n = 1 (**7a**, **8aa-ad**), 2 (**7b**, **8ba-bd**), 3 (**7c**, **8ca-cd**)

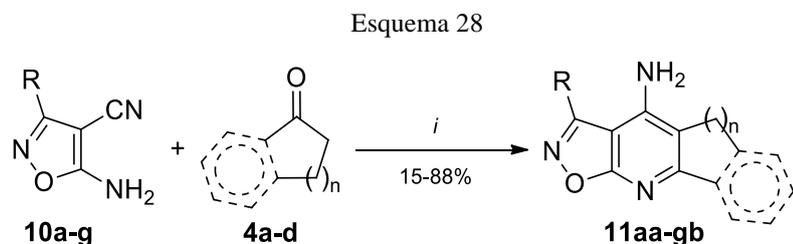
i = 1) **3**, **5a-c** (1 mmol), **7a-c** (1 mmol), AlCl₃ (1 mmol), 110 °C, 24h; 2) NaOH (6 M, 6mL/mmol), 110 °C, 24h

✓ Investigações *in vitro* mostraram propriedades anti-BChE promissoras para compostos **8aa** (R, R¹ = H e n = 1), **8ba** (R, R¹ = H e n = 2) e **8ca** (R, R¹ = H e n = 3). Resultados computacionais de *docking molecular* sugeriu que o aumento no tamanho do cicloalcano (R, R¹) fundido ao tiofeno diminui a atividade inibitória dos compostos pertencentes à série **8**. Além disso, os compostos não substituídos no anel tiofeno (R, R¹ = H) e que possuem a porção espiro, originados de ciclopentanona (**8aa**), ciclohexanona (**8ba**) e cicloheptanona (**8ca**), apresentaram a maior atividade inibitória da enzima BChE. Os dados obtidos indicam que os compostos **3** podem ser melhor projetados (*design*) e explorados posteriormente em ensaios anticolinesterásicos *in vitro* e *in vivo* como promissores modelos sintéticos de futuras drogas no combate da DA.

✓ O emprego alternativo de aquecimento não convencional via irradiação de micro-ondas proporcionou a síntese de 3(8)-aril/heteroaril-cicloalcano-isoxazolo-

quinolinaminas(piridinaminas) (**11**) a partir de reações envolvendo 5-amino-isoxazol-4-carbonitrilas (**10**) e ciclo-alcanonas (**4**), na presença de AlCl_3 como ácido de Lewis, na ausência de solvente e com rendimentos que variaram na faixa de 15-88% (

✓ Esquema 28);



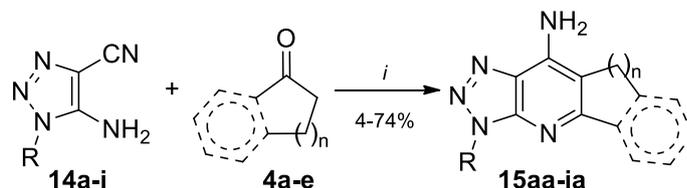
R = C_6H_5 , 4- OMeC_6H_4 , 4- MeC_6H_4 , 4- FC_6H_4 , 4- BrC_6H_4 , 4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$, 5-Cl-2-furil, 2-tienil
 n = 1, 2, 3, 5,6-dihidronaftaleno

i = 1) **10a-g** (1 mmol), **4a-d** (1,5 mmol), AlCl_3 (1,5 mmol), MW (250 W, 100 °C, 15 min.)
 2) NaOH (10 %, pH 10-11), t.a., 30 min.

✓ Investigações preliminares *in vitro* mostraram propriedades anti-BChE promissoras para compostos **11aa** (R = C_6H_5 e n = 1), **11ad** (R = C_6H_5 e n derivada da 1-tetralona), e **11gb** (R = 2-tienil, n = 2). Dentre elas, destaque especial à molécula **11ad** (R = C_6H_5 e n derivada da 1-tetralona) que inibiu 80% da atividade da BChE. Simulação computacional de *docking molecular* para **11ad** demonstrou que este interage em sítio ativo da BChE através de interações hidrofóbicas e de maneira semelhante a outros inibidores.

✓ Foi otimizada uma metodologia sintética para o isolamento de uma série inédita de 3(10)-alquil(aril)-[1,2,3]triazolo-quinolinaminas(piridinaminas) (**15**), a partir de reações de ciclocondensação [4+2] entre 5-amino-1-alqui(aril)-1*H*-1,2,3-triazolil-4-carbonitrilas (**14**) e ciclo-alcanonas (**4**) na presença de catálise ácida anidra (AlCl_3), e em rendimentos que variaram de 4-74% (Esquema 29).

Esquema 29



R = $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, CH_3 , $(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$, C_6H_5 , 4- OMeC_6H_4 , 4- MeC_6H_4 , 4- FC_6H_4 , 4- BrC_6H_4 , 4- $\text{SO}_2\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4$
 n = 1, 2, 3, 5,6-dihidronaftaleno

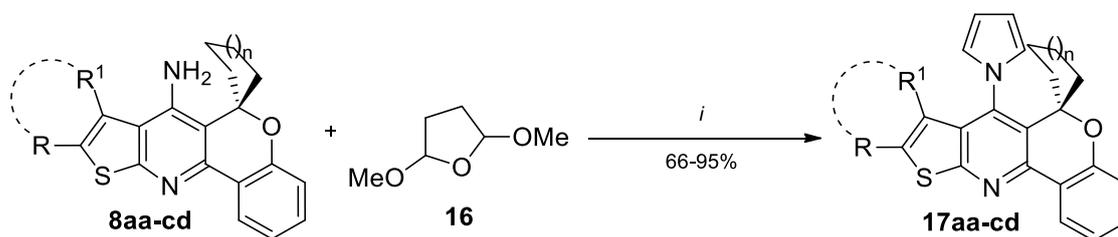
i = 1) **14a-i** (1 mmol), **4a-e** (1 mmol), AlCl_3 (2 mmol), tolueno (1 mL/mmol), 110 °C, 24h;
 2) NaOH (6 M, 6mL/mmol), 110 °C, 24h

✓ Ensaios preliminares das tacrinas híbridas **15** na presença de colinesterases demonstraram que moléculas com substituinte R mais volumosos na posição triazólica, apresentaram menor inibição de AChE. Entretanto, o composto **15bb** (R = CH₃ e n = 2) foi o melhor inibidor de AChE. Porém, as investigações *in vitro* da inibição de BChE mostraram que a molécula híbrida **15ib** (R = 4-(SO₂NH₂)C₆H₄ e n = 2) apresentou a maior atividade anti-BChE da série **15**, sugerindo que as propriedades anti-ChEs são afetadas tanto pelas características estruturais químicas do substituinte R. Foi possível também concluir que a inibição da BChE é afetada pelo número de unidades metilênicas das porções carbocíclicas dos compostos **15**. Assim, o melhor inibidor da AChE foi o composto **15bb** (R = CH₃ e n = 2), porém o composto **15bb**, não apresentou uma inibição significativa de BChE. Possivelmente, essas observações se devem ao formato do sítio ativo e ao modo de interação das moléculas **15** nos respectivos sítios ativos; fato esse originado de simulações computacionais de *docking molecular*, as quais explicariam as diferenças marcantes para os efeitos inibitórios de AChE/BChE.

✓ Estes dados indicam que os compostos da série **15** se apresentam como potenciais modelos sintéticos para novas drogas anticolinesterásicas, podendo ser explorados em futuros ensaios anti-ChEs *in vitro* e *in vivo*.

✓ Partindo dos sistemas espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexan]-7-aminas (**8**), foi possível realizar a síntese e otimização de reações de *N*-derivatização na posição 7 dos compostos **8** com o reagente 2,6-dimetóxitetrahidrofurano (Reação de Clauson-Kaas). Assim, reações sob refluxo em meio ácido acético forneceram estruturas 7-(*N*-pirrolil) derivadas **17**, com rendimentos que variaram na faixa de 66-95% (Esquema 30);

Esquema 30



R, R¹ = H (**17aa-ca**), -(CH₂)₃- (**17ab-cb**), -(CH₂)₄- (**17ac-cc**), -(CH₂)₅- (**17ad-cd**)
 n = 1 (**17aa-ad**), 2 (**17ba-bd**), 3 (**17ca-cd**)

i = **8aa-cd** (1 mmol), **16** (2 mmol), AcOH (5 mL), 90 °C, 24 h

✓ A partir da avaliação das propriedades fotofísicas dos pirróis derivados **17aa-cd**, realizadas em CHCl₃, observaram-se espectros de absorção com deslocamentos na região do ultravioleta, na faixa de 250-400 nm para toda a série **17**. Os espectros de emissão apresentaram

deslocamentos com variação de acordo com o número de unidades metilênicas carbocíclicas (substituintes R e R¹) fundidas ao anel tiofeno. Em contrapartida, não observou-se dependência ao número de unidades metilênicas (n) pertencente à porção espiro-carbocíclica. Entretanto, possibilidade de mudanças conformacionais nos carbocíclicos geminados ao anel tiofeno (substituintes R e R¹) mostrou que os valores de tempo de meia-vida de fluorescência diminuem à medida que se aumenta o tamanho do cicloalcano geminado.

Resumindo, de forma geral, pode-se concluir que os objetivos propostos foram atingidos, os quais conduziram com sucesso à síntese de três diferentes séries de compostos análogos à tacrina, totalizando 12 (doze) heterociclos híbridos contendo o núcleo bioisótero tiofeno (série inédita **8**), 10 (dez) derivados contendo o núcleo bioisótero isoxazol (série **11**, 8 (oito) inéditos) e 12 (doze) derivados contendo o núcleo bioisótero 1,2,3-triazol (série inédita **15**). Todos estes compostos foram avaliados quanto as suas propriedades de inibição enzimática da AChE e BChE *in vitro*, sendo realizados estudos complementares de *docking molecular*, os quais indicaram que alguns dos compostos desenvolvidos se mostraram promissores visando novas drogas anticolinesterásicas, podendo ser explorados em futuros ensaios complementares anti-ChEs *in vitro* e *in vivo*.

Em um segundo momento desta tese e partindo de dados da literatura para estudos fotofísicos em moléculas similares, realizou-se a síntese de 12 (doze) novas 7-(1*H*-pirrol-1-il)espiro[cromeno[4,3-*b*]tieno[3,2-*e*]piridina-6,1'-ciclohexano (**17**), com o intuito de realizar a avaliação de suas propriedades fotofísicas em solução e no estado sólido; estudos estes ainda em andamento.

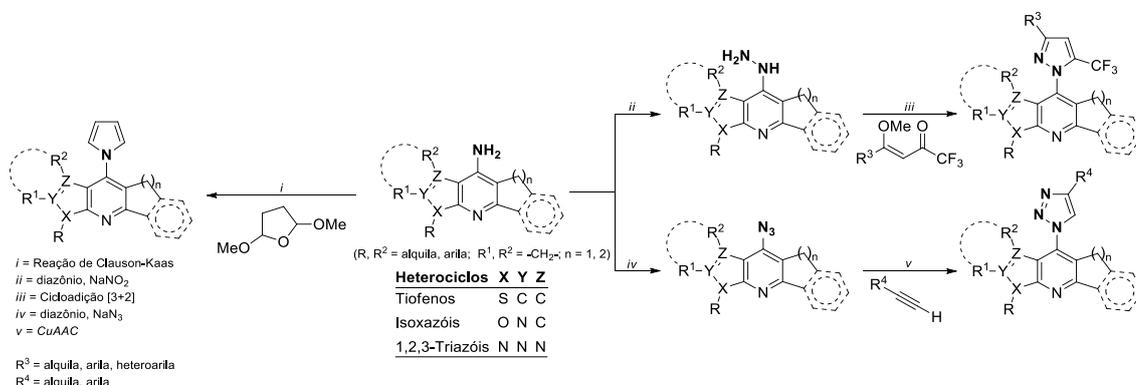
Sendo assim, esta tese desenvolveu e caracterizou 46 (quarenta e seis) compostos finais, sendo 44 (quarenta e quatro) destes inéditos, como intuito de demonstrar a possibilidade sintética de obtenção, isolamento e caracterização estrutural de novos sistemas heterocíclicos híbridos análogos da tacrina, através da inserção de diferentes bioisósteros heterocíclicos de cinco membros selecionados, além de proporcionar a avaliação inicial da capacidade inibitória destes frente às enzimas colinesterásicas (AChE e BChE), e da capacidade de *N*-derivatização de uma série destes compostos, com o intuito de avaliar o seu comportamento fotofísico.

6 SUGESTÕES PARA CONTINUIDADE DO TRABALHO

Como sugestões de trabalhos futuros para a continuidade deste projeto algumas ideias serão apresentadas:

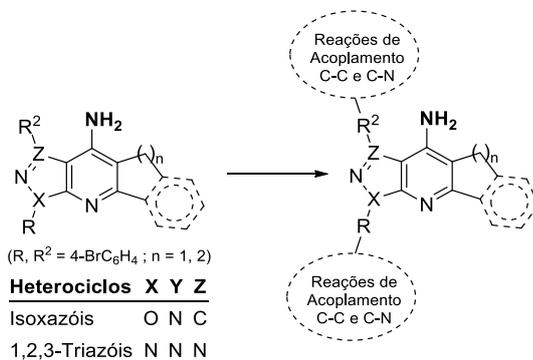
✓ Avaliar o potencial das séries de compostos análogos à tacrina, frente à diferentes reações de *N*-derivatização, para a preparação de novos compostos de interesse, como por exemplo, pirrolil-, pirazolil- ou 1,2,3-triazolil-tacrinas (Esquema 31);

Esquema 31



✓ Avaliar o potencial das séries de compostos contendo o substituinte R = 4-BrC₆H₄ em reações via acoplamento cruzado C-C (tipo Sonogashira e Suzuki-Miyaura) e C-N (tipo Buchwald-Hartwig) (Esquema 32);

Esquema 32



✓ Realizar estudos de inibição enzimática e avaliação das propriedades fotofísicas e luminescentes das séries de compostos que apresentarem tais características.

7 REFERÊNCIAS

1. S. Bello Forero J, Jones J, M. da Silva F. The Synthetic Potential and Chemical Aspects of the Gewald Reaction: Application in the Preparation of 2-Aminothiophenes and Related Heterocycles. *Curr Org Synth.* 2013;10(3):347-365. doi:10.2174/1570179411310030002
2. Liu H, Zaplishnyy V, Mikhaylichenko L. Facilitating Students' Review of the Chemistry of Nitrogen-Containing Heterocyclic Compounds and Their Characterization through Multistep Synthesis of Thieno[2,3-b]Pyridine Derivatives. *J Chem Educ.* 2016;93(10):1785-1787. doi:10.1021/acs.jchemed.5b00909
3. Archana, Pathania S, Chawla PA. Thiophene-based derivatives as anticancer agents: An overview on decade's work. *Bioorg Chem.* 2020;101:104026. doi:10.1016/j.bioorg.2020.104026
4. Nguyen TB. Recent Advances in the Synthesis of Heterocycles via Reactions Involving Elemental Sulfur. *Adv Synth Catal.* 2020;362(17):3448-3484. doi:10.1002/adsc.202000535
5. Ali EMH, Abdel-Maksoud MS, Oh CH. Thieno[2,3-d]pyrimidine as a promising scaffold in medicinal chemistry: Recent advances. *Bioorganic Med Chem.* 2019;27(7):1159-1194. doi:10.1016/j.bmc.2019.02.044
6. El-Borai MA, Rizk HF, Ibrahim SA, Fares AK. An Eco-friendly Synthesis and Biological Screening of Fused Heterocyclic Compounds Containing a Thiophene Moiety via Gewald Reaction. *J Heterocycl Chem.* 2019;56(10):2787-2795. doi:10.1002/jhet.3658
7. Akhtar J, Khan AA, Ali Z, Haider R, Shahar Yar M. Structure-activity relationship (SAR) study and design strategies of nitrogen-containing heterocyclic moieties for their anticancer activities. *Eur J Med Chem.* 2017;125:143-189. doi:10.1016/j.ejmech.2016.09.023
8. Litvinov VP, Dotsenko V V., Krivokolysko SG. The Chemistry of Thienopyridines. *Adv Heterocycl Chem.* 2007;93(06):117-178. doi:10.1016/S0065-2725(06)93003-7
9. B. Townsend L, A. Berry D, Chien T-C. Mononuclear Heterocyclic Rearrangement: Synthesis of [5:5] Bicyclic [c]-Fused 3- Aminopyrazoles via the N-N Bond Formation Strategy. *Heterocycles.* 2004;63(11):2475-2494. doi:10.3987/COM-04-10144
10. Grover G, Nath R, Bhatia R, Akhtar MJ. Synthetic and therapeutic perspectives of nitrogen containing heterocycles as anti-convulsants. *Bioorganic Med Chem.* 2020;28(15):115585. doi:10.1016/j.bmc.2020.115585
11. Banerjee B. Recent developments on ultrasound-assisted one-pot multicomponent

- synthesis of biologically relevant heterocycles. *Ultrason Sonochem.* 2017;35:15-35. doi:10.1016/j.ultsonch.2016.10.010
12. Bozorov K, Nie LF, Zhao J, Aisa HA. 2-Aminothiophene scaffolds: Diverse biological and pharmacological attributes in medicinal chemistry. *Eur J Med Chem.* 2017;140:465-493. doi:10.1016/j.ejmech.2017.09.039
13. Puterová Z, Krutošiková A, Véghe D. Gewald reaction: Synthesis, properties and applications of substituted 2-aminothiophenes. *Arkivoc.* 2010;2010(1):209-246. doi:10.3998/ark.5550190.0011.105
14. A. Barmade M, R. Murumkar P, Kumar Sharma M, Ram Yadav M. Medicinal Chemistry Perspective of Fused Isoxazole Derivatives. *Curr Top Med Chem.* 2016;16(26):2863-2883. doi:10.2174/1568026616666160506145700
15. Thakur A, Verma M, Bharti R, Sharma R. Oxazole and isoxazole: From one-pot synthesis to medical applications. *Tetrahedron.* 2022;119:132813. doi:10.1016/j.tet.2022.132813
16. Grover G, Nath R, Bhatia R, Akhtar MJ. Synthetic and therapeutic perspectives of nitrogen containing heterocycles as anti-convulsants. *Bioorganic Med Chem.* 2020;28(15):115585. doi:10.1016/j.bmc.2020.115585
17. Cheng X, Gu J, Pang Y, et al. Tacrine–Hydrogen Sulfide Donor Hybrid Ameliorates Cognitive Impairment in the Aluminum Chloride Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *ACS Chem Neurosci.* 2019;10(8):3500-3509. doi:10.1021/acscemneuro.9b00120
18. Wu WY, Dai YC, Li NG, et al. Novel multitarget-directed tacrine derivatives as potential candidates for the treatment of alzheimer’s disease. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016;32(1):572-587. doi:10.1080/14756366.2016.1210139
19. Pourabdi L, Khoobi M, Nadri H, et al. Synthesis and structure-activity relationship study of tacrine-based pyrano[2,3-c]pyrazoles targeting AChE/BuChE and 15-LOX. *Eur J Med Chem.* 2016;123:298-308. doi:10.1016/j.ejmech.2016.07.043
20. Silva D, Chioua M, Samadi A, et al. Synthesis and pharmacological assessment of diversely substituted pyrazolo[3,4-b]quinoline, and benzo[b]pyrazolo[4,3-g][1,8]naphthyridine derivatives. *Eur J Med Chem.* 2011;46(9):4676-4681. doi:10.1016/j.ejmech.2011.05.068
21. Li JR, Zhang LJ, Chen JN, et al. Synthesis of 2H-3,1-pyrazolo[3,4-e]oxazines via a new conversion of Friedländer reaction. *Chinese Chem Lett.* 2007;18(6):636-638. doi:10.1016/j.ccllet.2007.04.015
22. Carreiras M do C, Marco-Contelles J. Five-Membered-Ring-Fused Tacrines as Anti-Alzheimer’s Disease Agents. *Synlett.* 2021;32(20):1987-2012. doi:10.1055/s-0040-1719823

23. Bonacorso HG, Silva LB, Rocha JBT, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of 7-amine-spiro[chromeno[4,3-b]quinoline-6,1'-cycloalkanes] as new tacrine hybrids. *Tetrahedron Lett.* 2015;56(50):7024-7027. doi:10.1016/j.tetlet.2015.11.008
24. Bonacorso HG, Campos PT, Silva LB, Iglesias BA, Zanatta N, Hörner M. Structural Investigation, UV–Vis Analysis and Crystal Packing of Spiro[chromeno[4,3-b]quinoline-6,1'-cycloalkan]-7-amine: Novel Tacrine Hybrids by Single Crystal X-Ray Diffraction. *J Chem Crystallogr.* 2018;48(1-2):19-31. doi:10.1007/s10870-018-0706-6
25. Costa Nunes F, Silva LB, Winter E, et al. Tacrine derivatives stimulate human glioma SF295 cell death and alter important proteins related to disease development: An old drug for new targets. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 2018;1862(7):1527-1536. doi:10.1016/j.bbagen.2018.04.019
26. Silva LB, Nogara PA, Halmenschelager PT, et al. 7-Amine-spiro[chromeno[4,3-b]quinoline-6,1'-cycloalkanes]: Synthesis and cholinesterase inhibitory activity of structurally modified tacrines. *Bioorg Chem.* 2021;108(December 2020). doi:10.1016/j.bioorg.2021.104649
27. Silva LB, Stefanello FS, Feitosa SC, et al. Novel 7-(1H-pyrrol-1-yl)spiro[chromeno[4,3-b]quinoline-6,1'-cycloalkanes]: synthesis, cross-coupling reactions, and photophysical properties. *New J Chem.* 2021;45(8):4061-4070. doi:10.1039/d0nj05740a
28. Schatz J. Product class 10: Thiophenes, thiophene 1,1-dioxides, and thiophene 1-oxides. *Sci Synth.* 2002;9:287-422.
29. Sabnis RW. The Gewald reaction in dye chemistry. *Color Technol.* 2016;132(1):49-82. doi:10.1111/cote.12182
30. Ismail, Kuthati B, Thalari G, et al. Synthesis of novel spiro[pyrazolo[4,3- d]pyrimidinones and spiro[benzo[4,5]thieno[2,3- d]pyrimidine-2,3'-indoline]-2',4(3H)-diones and their evaluation for anticancer activity. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017;27(6):1446-1450. doi:10.1016/j.bmcl.2017.01.088
31. Leung E, Pilkington LI, van Rensburg M, et al. Synthesis and cytotoxicity of thieno[2,3-b]quinoline-2-carboxamide and cycloalkyl[b]thieno[3,2-e]pyridine-2-carboxamide derivatives. *Bioorganic Med Chem.* 2016;24(5):1142-1154. doi:10.1016/j.bmc.2016.01.047
32. Zhang J, Jiang X, Jiang Y, et al. Recent advances in the development of dual VEGFR and c-Met small molecule inhibitors as anticancer drugs. *Eur J Med Chem.* 2016;108:495-504. doi:10.1016/j.ejmech.2015.12.016
33. Zhang H, Peng Y, Zhuo L, et al. Recent advance on pleiotropic cholinesterase inhibitors

- bearing amyloid modulation efficacy. *Eur J Med Chem.* 2022;242:114695. doi:10.1016/j.ejmech.2022.114695
34. Poręba K, Wietrzyk J. The Synthesis of 3,5,6,7-Tetrasubstituted Isoxazolo[4,5-b]Pyridines and an Evaluation of Their In Vitro Antiproliferative Activity. *Adv Clin Exp Med.* 2012;21(5):563–571.
35. Miliutina M, Janke J, Chirkina E, et al. Domino Reactions of Chromone-3-carboxylic Acids with Aminoheterocycles: Synthesis of Heteroannulated Pyrido[2,3- c]coumarins and their Optical and Biological Activity. *European J Org Chem.* 2017;2017(47):7148-7159. doi:10.1002/ejoc.201701276
36. Jacq J, Pasau P. Multistep flow synthesis of 5-amino-2-aryl-2h-[1,2,3]-triazole-4-carbonitriles. *Chem - A Eur J.* 2014;20(38):12223-12233. doi:10.1002/chem.201402074
37. Singh H, Singh A, Khurana JM. A combined experimental and theoretical approach for structural, spectroscopic, NLO, NBO, thermal and photophysical studies of new fluorescent 5-amino-1-(7-chloroquinolin-4-yl)-1H-1,2,3-triazole-4-carbonitrile using density functional theory. *J Mol Struct.* 2017;1147:725-734. doi:10.1016/j.molstruc.2017.07.010
38. Gavlik KD, Sukhorukova ES, Shafran YM, Slepukhin PA, Benassi E, Belskaya NP. 2-Aryl-5-amino-1,2,3-triazoles: New effective blue-emitting fluorophores. *Dye Pigment.* 2017;136:229-242. doi:10.1016/j.dyepig.2016.08.015
39. Chen X, Shi D. Synthesis and biological activity of 3-[(6-chloropyridin-3-yl)methyl]-6-substituted-6,7-dihydro-3 H -1,2,3-triazolo[4,5- d]-pyrimidin-7-imines. *J Heterocycl Chem.* 2008;45(5):1493-1497. doi:10.1002/jhet.5570450541
40. Neres J, Labello NP, Somu R V., et al. Inhibition of Siderophore Biosynthesis in Mycobacterium tuberculosis with Nucleoside Bisubstrate Analogues: Structure–Activity Relationships of the Nucleobase Domain of 5'- O -[N -(Salicyl)sulfamoyl]adenosine. *J Med Chem.* 2008;51(17):5349-5370. doi:10.1021/jm800567v
41. Shi C, Tiwari D, Wilson DJ, Seiler CL, Schnappinger D, Aldrich CC. Bisubstrate Inhibitors of Biotin Protein Ligase in Mycobacterium tuberculosis Resistant to Cyclonucleoside Formation. *ACS Med Chem Lett.* 2013;4(12):1213-1217. doi:10.1021/ml400328a
42. Krajczyk A, Zeidler J, Januszczyk P, et al. 2-Aryl-8-aza-3-deazaadenosine analogues of 5'-O-[N-(salicyl)sulfamoyl]adenosine: Nucleoside antibiotics that block siderophore biosynthesis in Mycobacterium tuberculosis. *Bioorganic Med Chem.* 2016;24(14):3133-3143. doi:10.1016/j.bmc.2016.05.037
43. Deninno MP, Wright SW, Etienne JB, et al. Discovery of triazolopyrimidine-based PDE8B inhibitors: Exceptionally ligand-efficient and lipophilic ligand-efficient compounds for

- the treatment of diabetes. *Bioorganic Med Chem Lett*. 2012;22(17):5721-5726. doi:10.1016/j.bmcl.2012.06.079
44. Shaikh S, Verma A, Siddiqui S, et al. Current Acetylcholinesterase-Inhibitors: A Neuroinformatics Perspective. *CNS Neurol Disord - Drug Targets*. 2014;13(3):391-401. doi:10.2174/18715273113126660166
45. Kojima J, Onodera K, Ozeki M, Nakayama K. Ipidacrine (NIK-247): A review of multiple mechanisms as an antimentia agent. *CNS Drug Rev*. 1998;4(3):247-259. doi:10.1111/j.1527-3458.1998.tb00067.x
46. da Costa JS, Pisoni DS, da Silva CB, Petzhold CL, Russowsky D, Ceschi MA. Lewis acid promoted friedländer condensation reactions between anthranilonitrile and ketones for the synthesis of tacrine and its analogues. *J Braz Chem Soc*. 2009;20(8):1448-1454. doi:10.1590/s0103-50532009000800009
47. Barreiro EJ, Camara CA, Verli H, et al. Design, synthesis, and pharmacological profile of novel fused pyrazolo[4,3-d]pyridine and pyrazolo[3,4-b][1,8]naphthyridine isosteres: A new class of potent and selective acetylcholinesterase inhibitors. *J Med Chem*. 2003;46(7):1144-1152. doi:10.1021/jm020391n
48. Rodrigues LM, Francisco CS, Oliveira-Campos AMF, Salaheldin AM. Synthesis of tacrine analogs derived from N-Aryl-5-amino-4-cyanopyrazoles. *Synth Commun*. 2008;38(24):4369-4378. doi:10.1080/00397910802331638
49. Badran MM, Hakeem MA, Abuel-Maaty SM, El-Malah A, Abdel Salam RM. Design and synthesis of thienopyridines as novel templates for acetylcholinesterase inhibitors. *Med Chem Res*. 2013;22(9):4087-4095. doi:10.1007/s00044-012-0403-5
50. El-Malah A, Abouelatta AIY, Mahmoud Z, Salem HH. New cyclooctathienopyridine derivatives in the aim of discovering better Anti-Alzheimer's agents. *J Mol Struct*. 2019;1196:162-168. doi:10.1016/j.molstruc.2019.06.071
51. Badran MM, Hakeem MA, Abuel-Maaty SM, El-Malah A, Salam RMA. Design, synthesis, and molecular-modeling study of aminothienopyridine analogues of tacrine for Alzheimer's disease. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2010;343(10):590-601. doi:10.1002/ardp.200900226
52. Medrasi HY, Salaheldin AM, Hafez EA. Synthesis and Biological Evaluation of New Pyrrolotacrines for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Int J Mod Org Chem*. 2019;6(1):1-13.
53. Martins C, Carreiras MC, León R, et al. Synthesis and biological assessment of diversely substituted furo[2,3-b]quinolin-4-amine and pyrrolo[2,3-b]quinolin-4-amine derivatives, as

- novel tacrine analogues. *Eur J Med Chem.* 2011;46(12):6119-6130. doi:10.1016/j.ejmech.2011.09.038
54. Salaheldin AM, Oliveira-Campos AMF, Parpot P, Rodrigues LM, Oliveira MM, Feixoto FP. Synthesis of New Tacrine Analogues from 4-Amino-1H-pyrrole-3-carbonitrile. *Helv Chim Acta.* 2010;93(2):242-248. doi:10.1002/hlca.200900190
55. Nikseresht A, Ghasemi S, Parak S. [Cu₃(BTC)₂]: A metal–organic framework as an environment-friendly and economically catalyst for the synthesis of tacrine analogues by Friedländer reaction under conventional and ultrasound irradiation. *Polyhedron.* 2018;151:112-117. doi:10.1016/j.poly.2018.05.018
56. Marco JL, de los Ríos C, García AG, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular modelling of diversely functionalized heterocyclic derivatives as inhibitors of acetylcholinesterase/butyrylcholinesterase and modulators of Ca²⁺ channels and nicotinic receptors. *Bioorg Med Chem.* 2004;12(9):2199-2218. doi:10.1016/j.bmc.2004.02.017
57. do Carmo Carreiras M, Dias C, Alexandra Brito M, et al. Synthesis and Friedländer Reactions of 5-Amino-4-cyano-1,3-oxazoles. *Heterocycles.* 2007;71(10):2249. doi:10.3987/COM-07-11110
58. Cherif O, Allouche F, Chabchoub F, et al. Isoxazolotacrines as non-toxic and selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Future Med Chem.* 2014;6(17):1883-1891. doi:10.4155/fmc.14.115
59. Seck P, Thomae D, Perspicace E, Hesse S, Kirsch G. Synthesis of new selenophene and thiazole analogues of the Tacrine series. Maes B, ed. *Arkivoc.* 2012;(3):431-441. doi:10.3998/ark.5550190.0013.329
60. Thomae D, Perspicace E, Hesse S, Kirsch G, Seck P. Synthesis of substituted [1,3]thiazolo[4,5-b]pyridines and [1,3]thiazolo[4,5-d][1,2,3]triazines. *Tetrahedron.* 2008;64(39):9309-9314. doi:10.1016/j.tet.2008.07.017
61. Ronco C, Sorin G, Nachon F, et al. Synthesis and structure–activity relationship of Huprine derivatives as human acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2009;17(13):4523-4536. doi:10.1016/j.bmc.2009.05.005
62. Silva D, Chioua M, Samadi A, et al. Synthesis and pharmacological assessment of diversely substituted pyrazolo[3,4-b]quinoline, and benzo[b]pyrazolo[4,3-g][1,8]naphthyridine derivatives. *Eur J Med Chem.* 2011;46(9):4676-4681. doi:10.1016/j.ejmech.2011.05.068
63. Barreiro EJ, Camara CA, Verli H, et al. Design, Synthesis, and Pharmacological Profile of Novel Fused Pyrazolo[4,3-d]pyridine and Pyrazolo[3,4-b][1,8]naphthyridine Isosteres: A New Class of Potent and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors. *J Med Chem.*

2003;46(7):1144-1152. doi:10.1021/jm020391n

64. Li JR, Zhang LJ, Chen JN, et al. Synthesis of 2H-3,1-pyrazolo[3,4-e]oxazines via a new conversion of Friedländer reaction. *Chinese Chem Lett.* 2007;18(6):636-638. doi:10.1016/j.ccl.2007.04.015
65. Rodrigues LM, Francisco CS, Oliveira-Campos AMF, Salaheldin AM. Synthesis of Tacrine Analogs Derived from N -Aryl-5-amino-4-cyanopyrazoles. *Synth Commun.* 2008;38(24):4369-4378. doi:10.1080/00397910802331638
66. Soriano E, Samadi A, Chioua M, Ríos C de los, Marco-Contelles J. Molecular modelling, synthesis and acetylcholinesterase inhibition of ethyl 5-amino-2-methyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,8]naphthyridine-3-carboxylate. *Bioorg Med Chem Lett.* 2010;20(9):2950-2953. doi:10.1016/j.bmcl.2010.03.010
67. de los Ríos C, Egea J, Marco-Contelles J, et al. Synthesis, Inhibitory Activity of Cholinesterases, and Neuroprotective Profile of Novel 1,8-Naphthyridine Derivatives. *J Med Chem.* 2010;53(14):5129-5143. doi:10.1021/jm901902w
68. Kurumurthy C, Sambasiva Rao P, Veeraswamy B, et al. A facile and single pot strategy for the synthesis of novel naphthyridine derivatives under microwave irradiation conditions using ZnCl₂ as catalyst, evaluation of AChE inhibitory activity, and molecular modeling studies. *Med Chem Res.* 2012;21(8):1785-1795. doi:10.1007/s00044-011-9695-0
69. Samadi A, Valderas C, Ríos C de los, et al. Cholinergic and neuroprotective drugs for the treatment of Alzheimer and neuronal vascular diseases. II. Synthesis, biological assessment, and molecular modelling of new tacrine analogues from highly substituted 2-aminopyridine-3-carbonitriles. *Bioorg Med Chem.* 2011;19(1):122-133. doi:10.1016/j.bmc.2010.11.040
70. Derabli C, Boulebd H, Abdelwahab AB, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of novel 2-alkylthiopyrimidino-tacrines as anticholinesterase agents and their DFT calculations. *J Mol Struct.* 2020;1209:127902. doi:10.1016/j.molstruc.2020.127902
71. Derabli C, Boulcina R, Kirsch G, Debache A. Rapid access to novel 2-alkylthiopyrimidine derivatives and attempt of their Tacrine analogs synthesis. *Synth Commun.* 2019;49(3):395-403. doi:10.1080/00397911.2018.1557687
72. Ramos E, Palomino-Antolín A, Bartolini M, et al. Quinoxaline Tacrine QT78, a Cholinesterase Inhibitor as a Potential Ligand for Alzheimer's Disease Therapy. *Molecules.* 2019;24(8):1503. doi:10.3390/molecules24081503
73. Smirnova OB, Golovko T V., Alekseeva LM, Shashkov AS, Granik VG. A new approach to the synthesis of pyrido[4,3-b]indole derivatives (γ -carbolines) via cyclization of

- enamino dinitriles. *Russ Chem Bull.* 2008;57(11):2410-2417. doi:10.1007/s11172-008-0344-9
74. Acosta P, Butassi E, Insuasty B, et al. Microwave-Assisted Synthesis of Novel Pyrazolo[3,4-g][1,8]naphthyridin-5-amine with Potential Antifungal and Antitumor Activity. *Molecules.* 2015;20(5):8499-8520. doi:10.3390/molecules20058499
75. Chioua M, Pérez-Peña J, García-Font N, et al. Pyranopyrazolotacrine as nonneurotoxic, A β -anti-aggregating and neuroprotective agents for Alzheimer's disease. *Future Med Chem.* 2015;7(7):845-855. doi:10.4155/fmc.15.41
76. Marco JL, de los Ríos C, Carreiras MC, Baños JE, Badia A, Vivas NM. Synthesis and Acetylcholinesterase/Butyrylcholinesterase Inhibition Activity of 4-Amino-2, 3-diaryl-5, 6, 7, 8-tetrahydrofuro(and thieno)[2, 3-b]-quinolines, and 4-Amino-5, 6, 7, 8, 9-pentahydro-2, 3-diphenylcyclohepta[e]furo(and thieno)-[2, 3-b]pyridines. *Arch Pharm (Weinheim).* 2002;335(7):347-353. doi:10.1002/1521-4184(200209)335:7<347::AID-ARDP347>3.0.CO;2-G
77. Patil SP, Kazi MA, Kanawade SB, Nikam PS, Jachak MN, Toche RB. Expedient approach for the synthesis of novel indenothiophene derivatives. *Monatshefte fur Chemie.* 2012;143(2):317-323. doi:10.1007/s00706-011-0657-5
78. Tanaka K, Pedersen EB, Stenstrøm Y, Anthonsen T, Kivekäs R. Synthesis of Trifluoromethylisoxazoloazines. *Acta Chem Scand.* 1986;40b:760-763. doi:10.3891/acta.chem.scand.40b-0760
79. Toolabi M, Moghimi S, Bakhshaiesh TO, et al. 6-Cinnamoyl-4-arylaminothienopyrimidines as highly potent cytotoxic agents: Design, synthesis and structure-activity relationship studies. *Eur J Med Chem.* 2020;185:111786. doi:10.1016/j.ejmech.2019.111786
80. Seck P, Thomae D, Kirsch G. Synthesis of substituted amino-cycloalkyl[b]thieno-[3,2-e]pyridines. *J Heterocycl Chem.* 2008;45(3):853-857. doi:10.1002/jhet.5570450333
81. Kabbe H. Eine einfache Synthese von 4-Chromanonen. *Synthesis (Stuttg).* 1978;78:886-887.
82. Kabbe H -J, Widdig A. Synthesis and Reactions of 4-Chromanones. *Angew Chemie Int Ed English.* 1982;21(4):247-256. doi:10.1002/anie.198202471
83. Kabbe VH, Widdig A. Synthesen und Umsetzungen von 4-Chromanonen. *Angew Chemie.* 1982;94:254-262.
84. Bonacorso HG, Garcia FD, Belo CR, et al. Regioselective synthesis and through-space ¹³C-¹⁹F spin-spin coupling NMR of new tetracyclic 3-(trifluoromethyl)-spiro(chromen[4,3-c]pyrazole-4,1'-cycloalkanes). *J Fluor Chem.* 2014;166:44-51.

doi:10.1016/j.jfluchem.2014.07.011

85. Bonacorso HG, Silva LB, Rocha JBT, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking study of 7-amine-spiro[chromeno[4,3-b]quinoline-6,1'-cycloalkanes] as new tacrine hybrids. *Tetrahedron Lett.* 2015;56(50):7024-7027. doi:10.1016/j.tetlet.2015.11.008
86. Thomae D, Kirsch G, Seck P. Synthesis of Selenophene Analogues of the Tacrine Series: Comparison of Classical Route and Microwave Irradiation. *Synthesis (Stuttg)*. 2008;(10):1600-1606. doi:10.1055/s-2008-1067001
87. Alshareef HF, Mohamed HAEH, Salaheldin AM. Synthesis and Biological Evaluation of New Tacrine Analogues under Microwave Irradiation. *Chem Pharm Bull.* 2017;65(8):732-738. doi:10.1248/cpb.c17-00113
88. Ulus R, Zengin Kurt B, Gazioğlu I, Kaya M. Microwave assisted synthesis of novel hybrid tacrine-sulfonamide derivatives and investigation of their antioxidant and anticholinesterase activities. *Bioorg Chem.* 2017;70:245-255. doi:10.1016/j.bioorg.2017.01.005
89. Badran MM, Hakeem MA, Abuel-Maaty SM, El-Malah A, Salam RMA. Design, Synthesis, and Molecular-modeling Study of Aminothienopyridine Analogues of Tacrine for Alzheimer's Disease. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2010;343(10):590-601. doi:10.1002/ardp.200900226
90. Bonacorso HG, Campos PT, Silva LB, Iglesias BA, Zanatta N, Hörner M. Structural Investigation, UV-Vis Analysis and Crystal Packing of Spiro[chromeno[4,3-b]quinoline-6,1'-cycloalkan]-7-amine: Novel Tacrine Hybrids by Single Crystal X-Ray Diffraction. *J Chem Crystallogr.* 2018;48(1-2):19-31. doi:10.1007/s10870-018-0706-6
91. Sonawane AD, Garud DR, Udagawa T, Koketsu M. Synthesis of thieno[2,3-b]quinoline and selenopheno[2,3-b]quinoline derivatives via iodocyclization reaction and a DFT mechanistic study. *Org Biomol Chem.* 2018;16(2):245-255. doi:10.1039/C7OB02523H
92. Allen FH, Kennard O, Watson DG, Brammer L, Orpen AG, Taylor R. Tables of bond lengths determined by X-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds. *J Chem Soc Perkin Trans 2.* 1987;(12):S1. doi:10.1039/p298700000s1
93. Sarkar S, Pavan MS, Cherukuvada S, Guru Row TN. Acetazolamide polymorphism: a case of hybridization induced polymorphism? *Chem Commun.* 2016;52(34):5820-5823. doi:10.1039/C6CC01612J
94. Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Reports.* 2015;67(2):195-203.

doi:10.1016/j.pharep.2014.09.004

95. Mushtaq G, Nigel H. Greig, Jalaluddin A. Khan, Mohammad A. Kama. Status of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase in Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes Mellitus. *CNS Neurol Disord - Drug Targets*. 2014;13(8):1432-1439.
96. Arendt T, Brückner MK, Lange M, Bigl V. Changes in acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease resemble embryonic development—A study of molecular forms. *Neurochem Int*. 1992;21(3):381-396. doi:10.1016/0197-0186(92)90189-X
97. Marco JL, de los Ríos C, Carreiras MC, Baños JE, Badia A, Vivas NM. Synthesis and Acetylcholinesterase/Butyrylcholinesterase Inhibition Activity of 4-Amino-2, 3-diaryl-5, 6, 7, 8-tetrahydrofuro(and thieno)[2, 3-b]-quinolines, and 4-Amino-5, 6, 7, 8, 9-pentahydro-2, 3-diphenylcyclohepta[e]furo(and thieno)-[2, 3-b]pyridines. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2002;335(7):347-353. doi:10.1002/1521-4184(200209)335:7<347::AID-ARDP347>3.0.CO;2-G
98. El-Malah A, Abouelatta AIY, Mahmoud Z, Salem HH. New cyclooctathienopyridine derivatives in the aim of discovering better Anti-Alzheimer's agents. *J Mol Struct*. 2019;1196:162-168. doi:10.1016/j.molstruc.2019.06.071
99. Dighe SN, Deora GS, De la Mora E, et al. Discovery and Structure–Activity Relationships of a Highly Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor by Structure-Based Virtual Screening. *J Med Chem*. 2016;59(16):7683-7689. doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00356
100. D'Avila da Silva F, Nogara PA, Ochoa-Rodríguez E, et al. Molecular docking and in vitro evaluation of a new hybrid molecule (JM-20) on cholinesterase activity from different sources. *Biochimie*. 2020;168:297-306. doi:10.1016/j.biochi.2019.11.011
101. Jiang K-M, Jin Y, Lin J. 1,3-Dipolar cycloaddition of uracil derivatives with nitrile oxides: Synthesis of [1,2,4]oxadiazolo[4,5- c]pyrimidine-5,7(6H)-dione derivatives. *Tetrahedron*. 2017;73(47):6662-6668. doi:10.1016/j.tet.2017.10.024
102. Lin S-Y, Chang Hsu Y, Peng Y-H, et al. Discovery of a Furanopyrimidine-Based Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor (DBPR112) as a Clinical Candidate for the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *J Med Chem*. 2019;62(22):10108-10123. doi:10.1021/acs.jmedchem.9b00722
103. Karalkar NB, Khare K, Molt R, Benner SA. Tautomeric equilibria of isoguanine and related purine analogs. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*. 2017;36(4):256-274. doi:10.1080/15257770.2016.1268694
104. Tröster A, Heinzlmeir S, Berger BT, et al. NVP-BHG712: Effects of Regioisomers on the Affinity and Selectivity toward the EPHrin Family. *ChemMedChem*. 2018;13(16):1629-

1633. doi:10.1002/cmdc.201800398

105. Dounay AB, Anderson M, Bechle BM, et al. PF-04859989 as a template for structure-based drug design: Identification of new pyrazole series of irreversible KAT II inhibitors with improved lipophilic efficiency. *Bioorganic Med Chem Lett.* 2013;23(7):1961-1966. doi:10.1016/j.bmcl.2013.02.039

106. Girek M, Szymański P. Tacrine hybrids as multi-target-directed ligands in Alzheimer's disease: influence of chemical structures on biological activities. *Chem Pap.* 2019;73(2):269-289. doi:10.1007/s11696-018-0590-8

107. Lopes JPB, Da Costa JS, Ceschi MA, et al. Chiral bistacrine analogues: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity and a molecular modeling approach. *J Braz Chem Soc.* 2017;28(11):2218-2228. doi:10.21577/0103-5053.20170074

108. Silva LB, Nogara PA, Halmenschelager PT, et al. 7-Amine-spiro[chromeno[4,3-b]quinoline-6,1'-cycloalkanes]: synthesis and cholinesterase inhibitory activity of structurally modified tacrines. *Bioorg Chem.* 2021;108:104649. doi:10.1016/j.bioorg.2021.104649

109. Patel K, Butala S, Khan T, Suvarna V, Sherje A, Dravyakar B. Mycobacterial siderophore: A review on chemistry and biology of siderophore and its potential as a target for tuberculosis. *Eur J Med Chem.* 2018;157:783-790. doi:10.1016/j.ejmech.2018.08.030

110. Yamamoto K, Bruun T, Kim JY, Zhang L, Lautens M. A New Multicomponent Multicatalyst Reaction (MC)2R: Chemoselective Cycloaddition and Latent Catalyst Activation for the Synthesis of Fully Substituted 1,2,3-Triazoles. *Org Lett.* 2016;18(11):2644-2647. doi:10.1021/acs.orglett.6b00975

111. Dai ZC, Chen YF, Zhang M, et al. Synthesis and antifungal activity of 1,2,3-triazole phenylhydrazone derivatives. *Org Biomol Chem.* 2015;13(2):477-486. doi:10.1039/c4ob01758g

112. Cottrell IF, Hands D, Houghton PG, Humphrey GR, Wright SHB. An improved procedure for the preparation of 1-benzyl-1H-1,2,3-triazoles from benzyl azides. *J Heterocycl Chem.* 1991;28(2):301-304. doi:10.1002/jhet.5570280216

113. Hu H, Zhang A, Ding L. Facile synthesis of novel tacrine analogues. *J Chem Res.* 2009;(9):562-564. doi:10.3184/030823409X12511057064685

114. Costa JS da, Pisoni DS, Silva CB da, Petzhold CL, Russowsky D, Ceschi MA. Lewis acid promoted Friedländer condensation reactions between anthranilonitrile and ketones for the synthesis of tacrine and its analogues. *J Braz Chem Soc.* 2009;20(8):1448-1454. doi:10.1590/S0103-50532009000800009

115. Rosenberry TL, Brazzolotto X, MacDonald IR, et al. Comparison of the binding of

- reversible inhibitors to human butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase: a crystallographic, kinetic and calorimetric study. *Molecules*. 2017;22(12):2098. doi:10.3390/molecules22122098
116. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Mol Med Reports*. 2019;20:1479-1487. doi:10.3892/mmr.2019.10374
117. Eckroat TJ, Manross DL, Cowan SC. Merged tacrine-based, multitarget-directed acetylcholinesterase inhibitors 2015–present: Synthesis and biological activity. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17):5965. doi:10.3390/ijms21175965
118. Bakare OO, Fadaka AO, Akanbi MO, Akinyede KA, Klein A, Keyster M. Evaluation of selected carotenoids of *Lycopersicon esculentum* variants as therapeutic targets for 'Alzheimer's disease: an in silico approach. *BMC Mol Cell Biol*. 2021;22(1):49. doi:10.1186/s12860-021-00386-2
119. Sichaem J, Tip-pyang S, Lugsanangarm K. Bioactive Aporphine Alkaloids from the Roots of *Artabotrys spinosus*: Cholinesterase Inhibitory Activity and Molecular Docking Studies. *Nat Prod Commun*. 2018;13(10):1279-1282. doi:10.1177/1934578X1801301011
120. Mantoani SP, Chierrito TPC, Vilela AFL, Cardoso CL, Martínez A, Carvalho I. Novel triazole-quinoline derivatives as selective dual binding site acetylcholinesterase inhibitors. *Molecules*. 2016;21(2):1-12. doi:10.3390/molecules21020193
121. Potapov AY, Vandyshev DY, Kosheleva YA, Polikarchuk VA, Potapov MA, Shikhaliev KS. Cyclization of 5-amino-1-aryl-1H-pyrazole-4-carbonitriles with β -dicarbonyl compounds. *Chem Heterocycl Compd*. 2017;53(2):207-212. doi:10.1007/s10593-017-2041-9
122. Gholap SS. Pyrrole: An emerging scaffold for construction of valuable therapeutic agents. *Eur J Med Chem*. 2016;110:13-31. doi:10.1016/j.ejmech.2015.12.017
123. Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*.; 2006. doi:10.1007/978-0-387-46312-4
124. Valeur B. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*. Vol 1.; 2001.
125. Gilbert, A.; Baggott J. *Essentials of Molecular Photochemistry*.; 1991.
126. Naeimi H, Dadaei M. Microwave Promoted Green Synthesis of Pyrroles Using N-Methyl-2-Pyrrolidonium Hydrogen Sulfate as an Efficient Catalyst Under Solvent-Free Condition. *Iran J Sci Technol Trans A Sci*. 2018;42(3):1241-1246. doi:10.1007/s40995-017-0175-3
127. Zhang X, Shi J. Unique chemoselective Clauson-Kass reaction of substituted aniline catalyzed by MgI₂ etherate. *Tetrahedron*. 2011;67(5):898-903. doi:10.1016/j.tet.2010.12.018
128. Armarego WLF. Purification of laboratory chemicals. *Purif Lab Chem*. Published online

2017;1-1176. doi:10.1016/s0022-328x(00)82974-5

129. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* 1961;7(2):88-95. doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9

130. Rocha JBT, Emanuelli T, Pereira ME. Effects of early undernutrition on kinetic parameters of brain acetylcholinesterase from adult rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 1993;53:431-437.

131. Silva FD, Nogara PA, Ochoa-Rodríguez E, et al. Molecular docking and in vitro evaluation of a new hybrid molecule (JM-20) on cholinesterase activity from different sources. *Biochimie.* 2020;168:297-306. doi:10.1016/j.biochi.2019.11.011

132. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem.* 2009;31(2):455-461. doi:10.1002/jcc.21334

133. Rosenberry T, Brazzolotto X, Macdonald I, et al. Comparison of the Binding of Reversible Inhibitors to Human Butyrylcholinesterase and Acetylcholinesterase: A Crystallographic, Kinetic and Calorimetric Study. *Molecules.* 2017;22(12):2098. doi:10.3390/molecules22122098

134. Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *J Cheminform.* 2012;4(1):17. doi:10.1186/1758-2946-4-17

135. Stewart JJP. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *J Mol Model.* 2007;13(12):1173-1213. doi:10.1007/s00894-007-0233-4

136. Ruvinsky AM, Kozintsev A V. New and fast statistical-thermodynamic method for computation of protein-ligand binding entropy substantially improves docking accuracy. *J Comput Chem.* 2005;26(11):1089-1095. doi:10.1002/jcc.20246

137. Nogara PA, Bright F, Gustavo O, et al. Reactivity and binding mode of disulfiram, its metabolites, and derivatives in SARS-CoV-2 - PLpro: insights from computational chemistry studies. *J Mol Model.* 2022;28:354. doi:10.1007/s00894-022-05341-2

138. Ballante F, Marshall GR. An Automated Strategy for Binding-Pose Selection and Docking Assessment in Structure-Based Drug Design. *J Chem Inf Model.* 2016;56(1):54-72. doi:10.1021/acs.jcim.5b00603

139. Chang MW, Ayeni C, Breuer S, Torbett BE. Virtual screening for HIV protease inhibitors: A comparison of AutoDock 4 and Vina. *PLoS One.* 2010;5(8):1-9.

doi:10.1371/journal.pone.0011955

140. Nogara PA, Rocha JBT. In Silico Studies of Mammalian δ -ALAD Interactions with Selenides and Selenoxides. *Mol Inform.* 2018;37:1700091. doi:10.1002/minf.201700091

141. Toolabi M, Moghimi S, Bakhshaiesh TO, et al. 6-Cinnamoyl-4-arylaminothienopyrimidines as highly potent cytotoxic agents: Design, synthesis and structure-activity relationship studies. *Eur J Med Chem.* 2020;185:111786. doi:10.1016/j.ejmech.2019.111786

142. Seck P, Thomae D, Kirsch G. Synthesis of Substituted Amino-Cycloalkyl [b] thieno- [3 , 2- e] Pyridines. *J Heterocycl Chem.* 2008;45:853-875.

143. Bonacorso HG, Garcia FD, Belo CR, et al. Regioselective synthesis and through-space ^{13}C - ^{19}F spin-spin coupling NMR of new tetracyclic 3-(trifluoromethyl)-spiro(chromen[4,3-c]pyrazole-4,1'-cycloalkanes). *J Fluor Chem.* 2014;166:44-51. doi:10.1016/j.jfluchem.2014.07.011

8 ANEXOS

8.1 ESPECTROS DE RMN DOS COMPOSTOS OBTIDOS NESTE TRABALHO

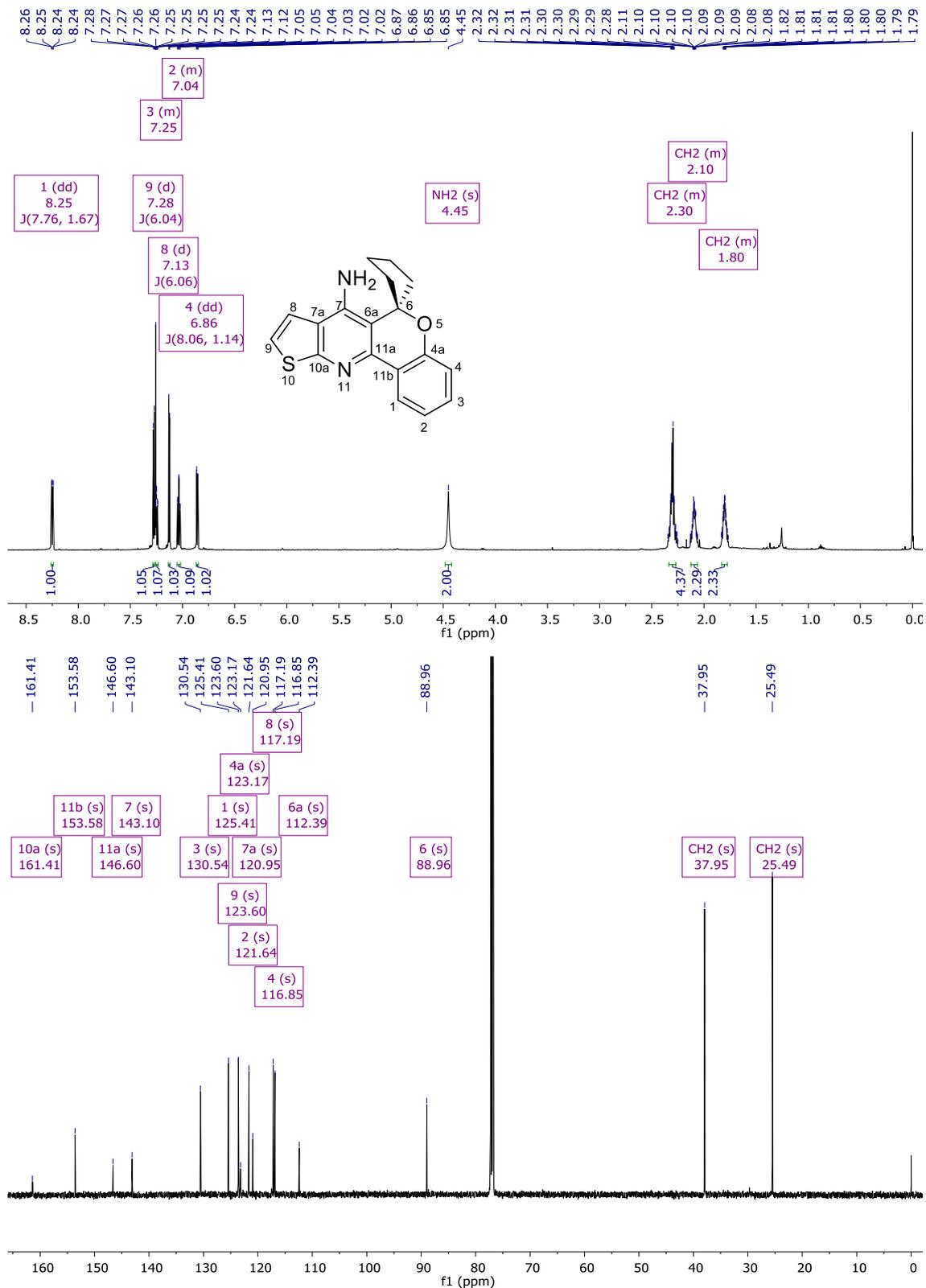
Figura 59 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8aa**, registrados em CDCl_3 

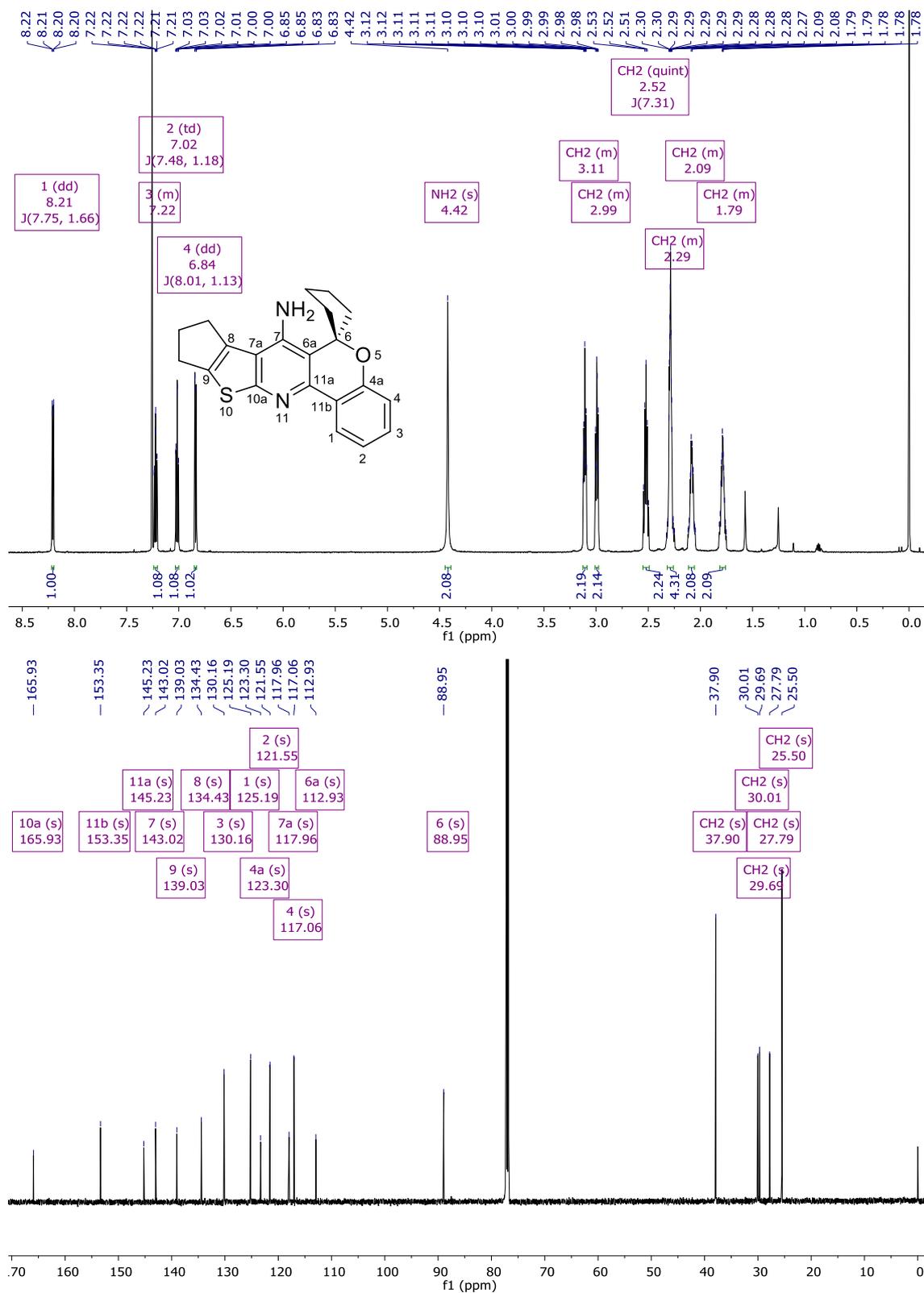
Figura 60 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8ab**, registrados em CDCl_3 

Figura 61 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8ac**, registrados em CDCl_3

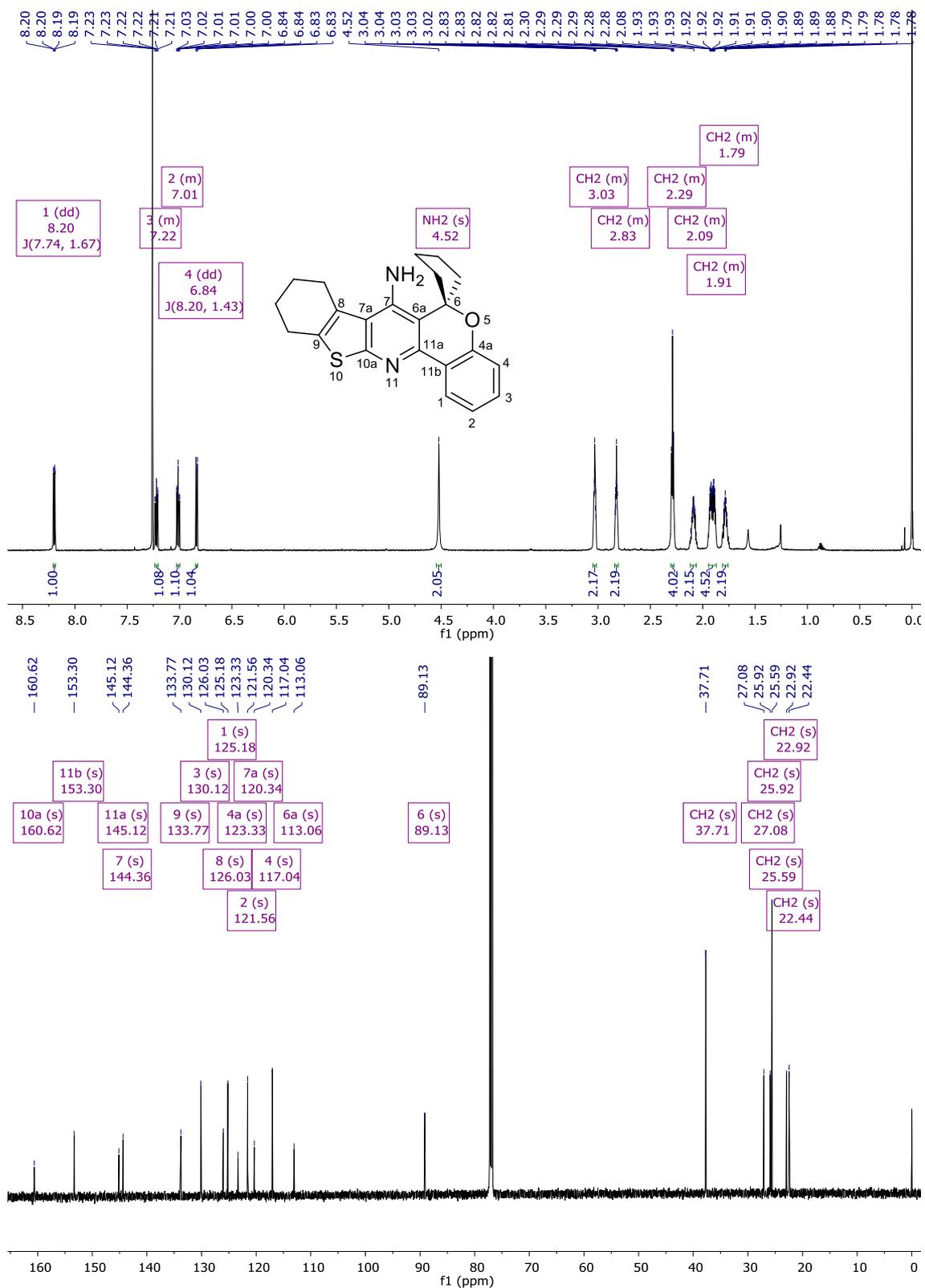


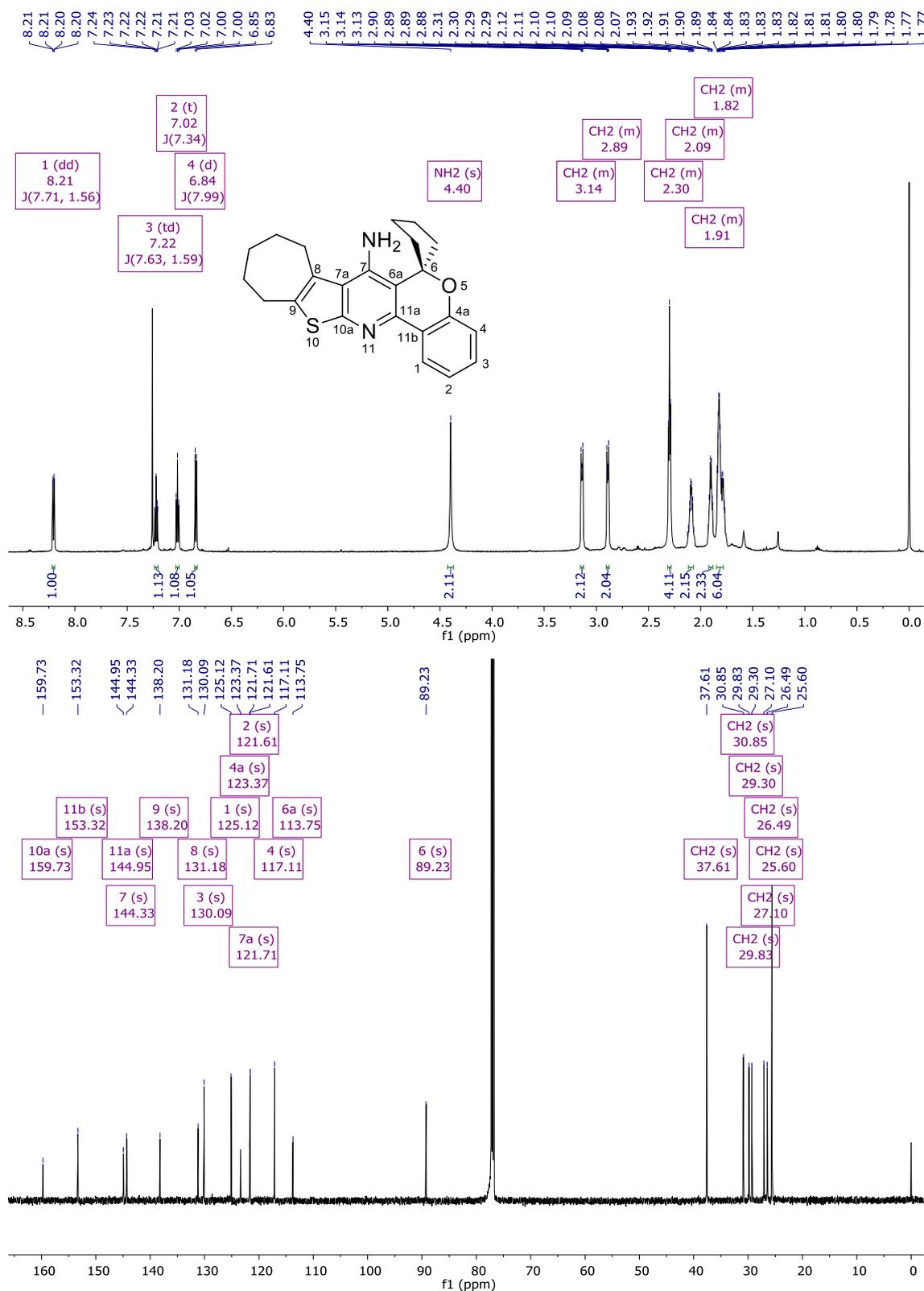
Figura 62- Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8ad**, registrados em CDCl_3 

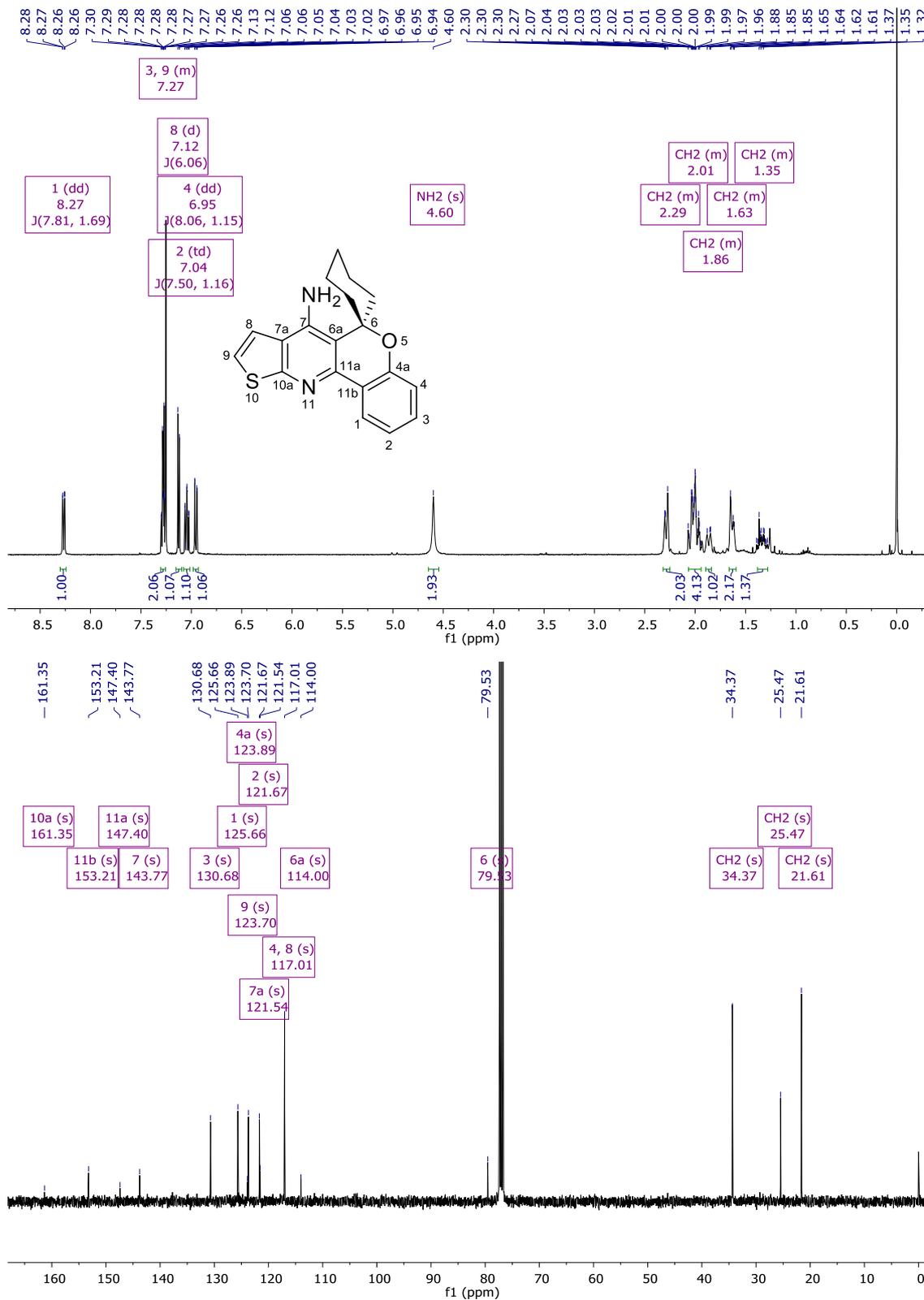
Figura 63 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8ba**, registrados em CDCl_3 

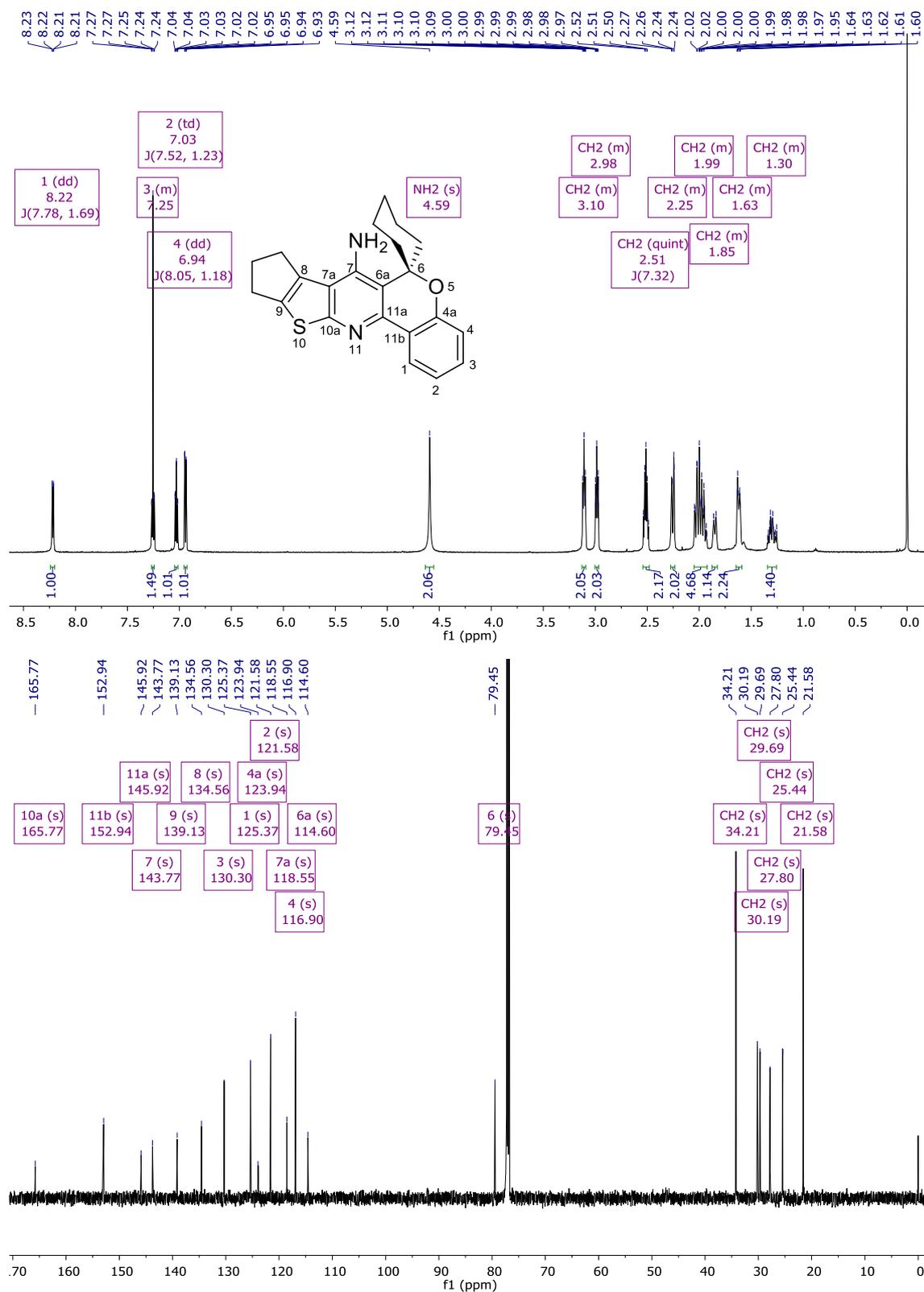
Figura 64 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8bb**, registrados em CDCl_3 

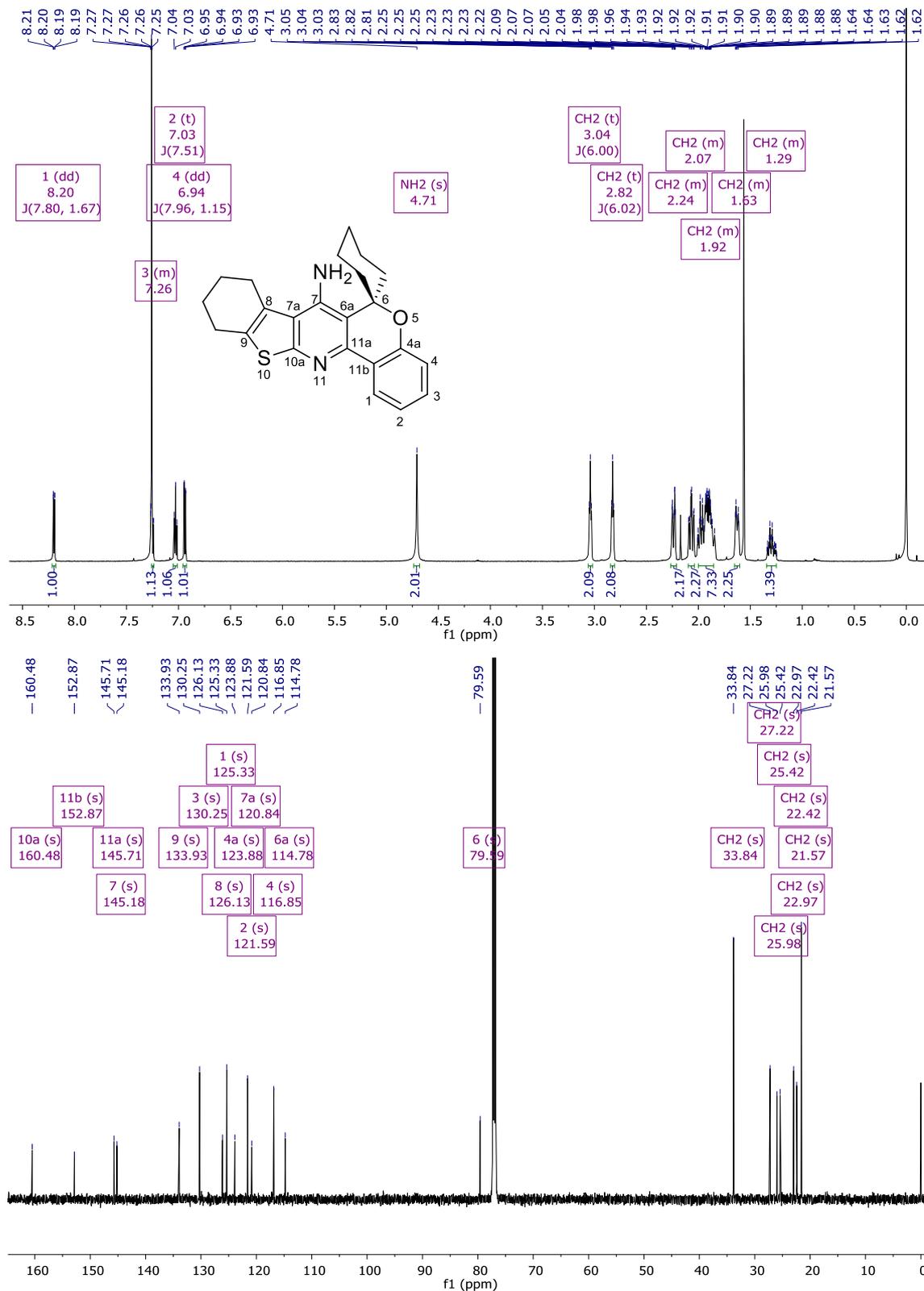
Figura 65 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8bc**, registrados em CDCl_3 

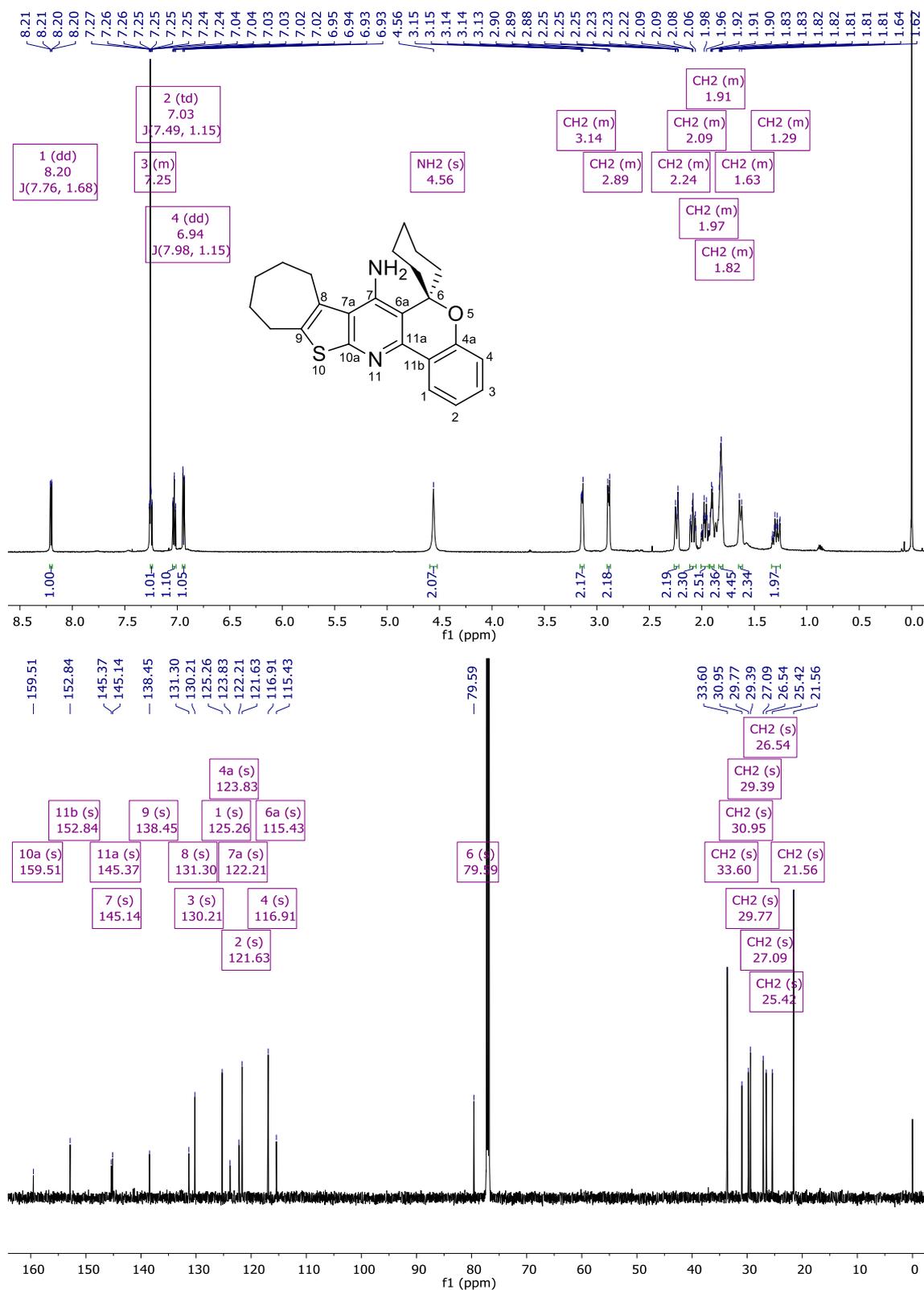
Figura 66 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8bd**, registrados em CDCl_3 

Figura 67 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8ca**, registrados em CDCl_3

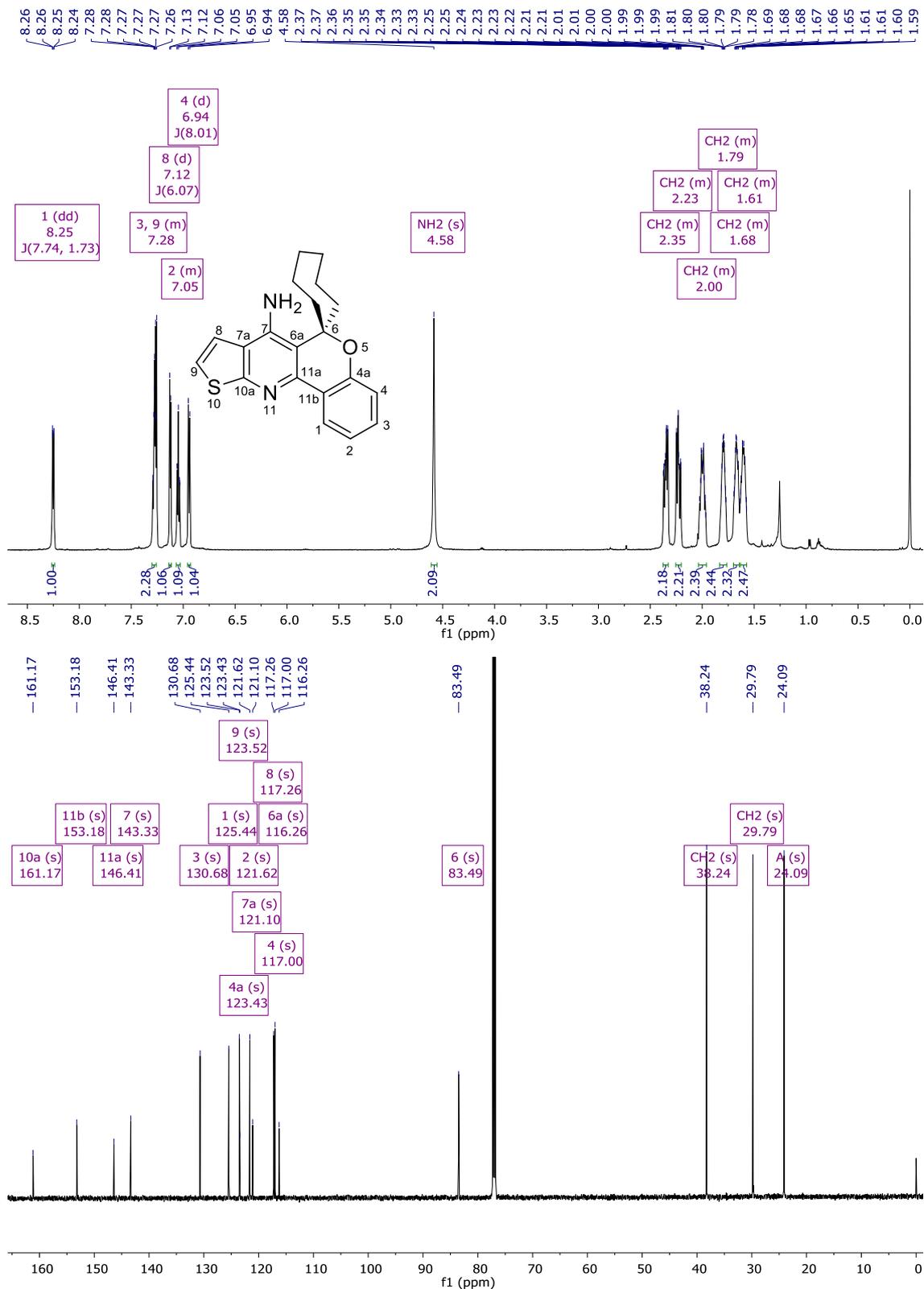


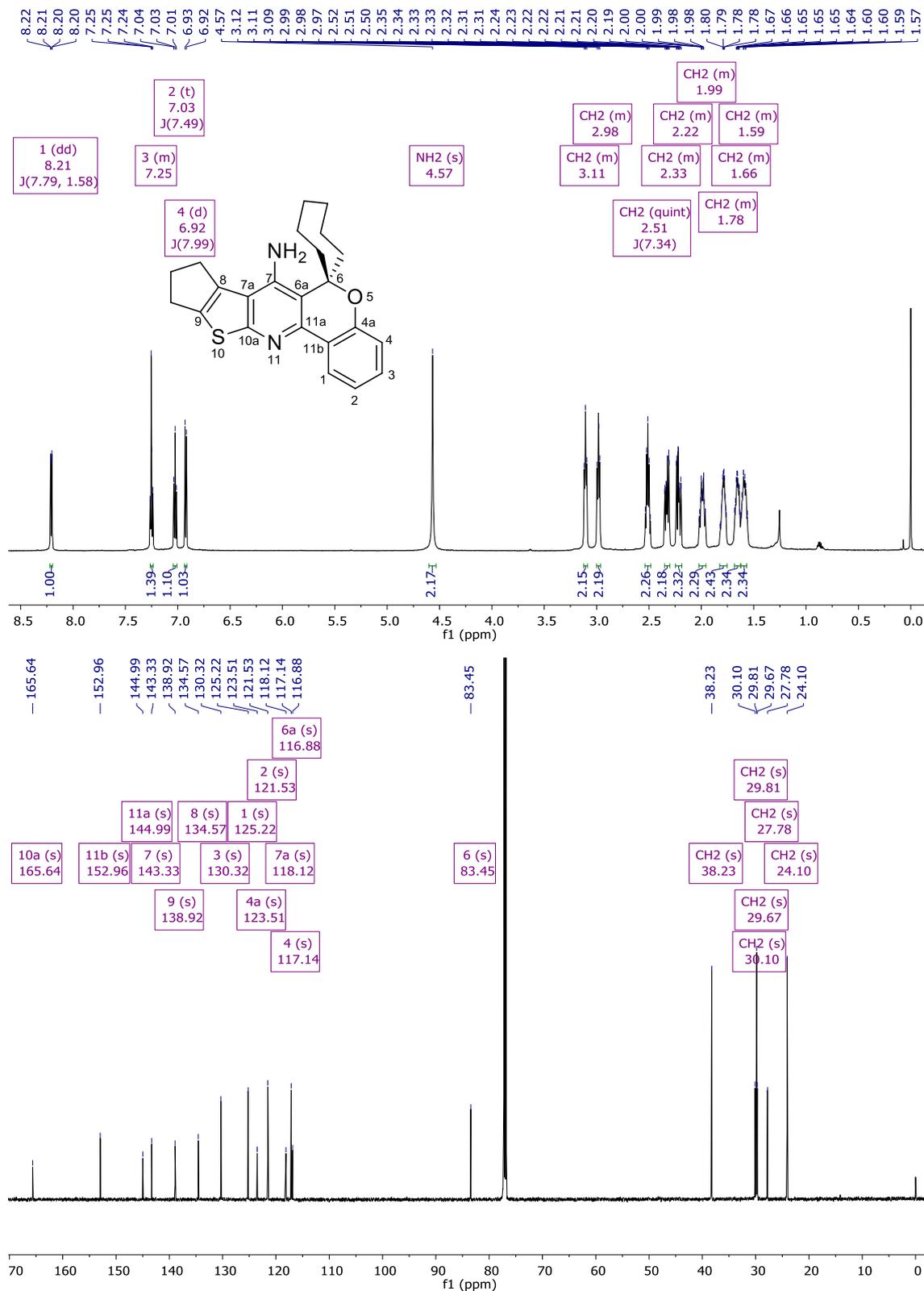
Figura 68 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8cb**, registrados em CDCl_3 

Figura 69 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8cc**, registrados em CDCl_3

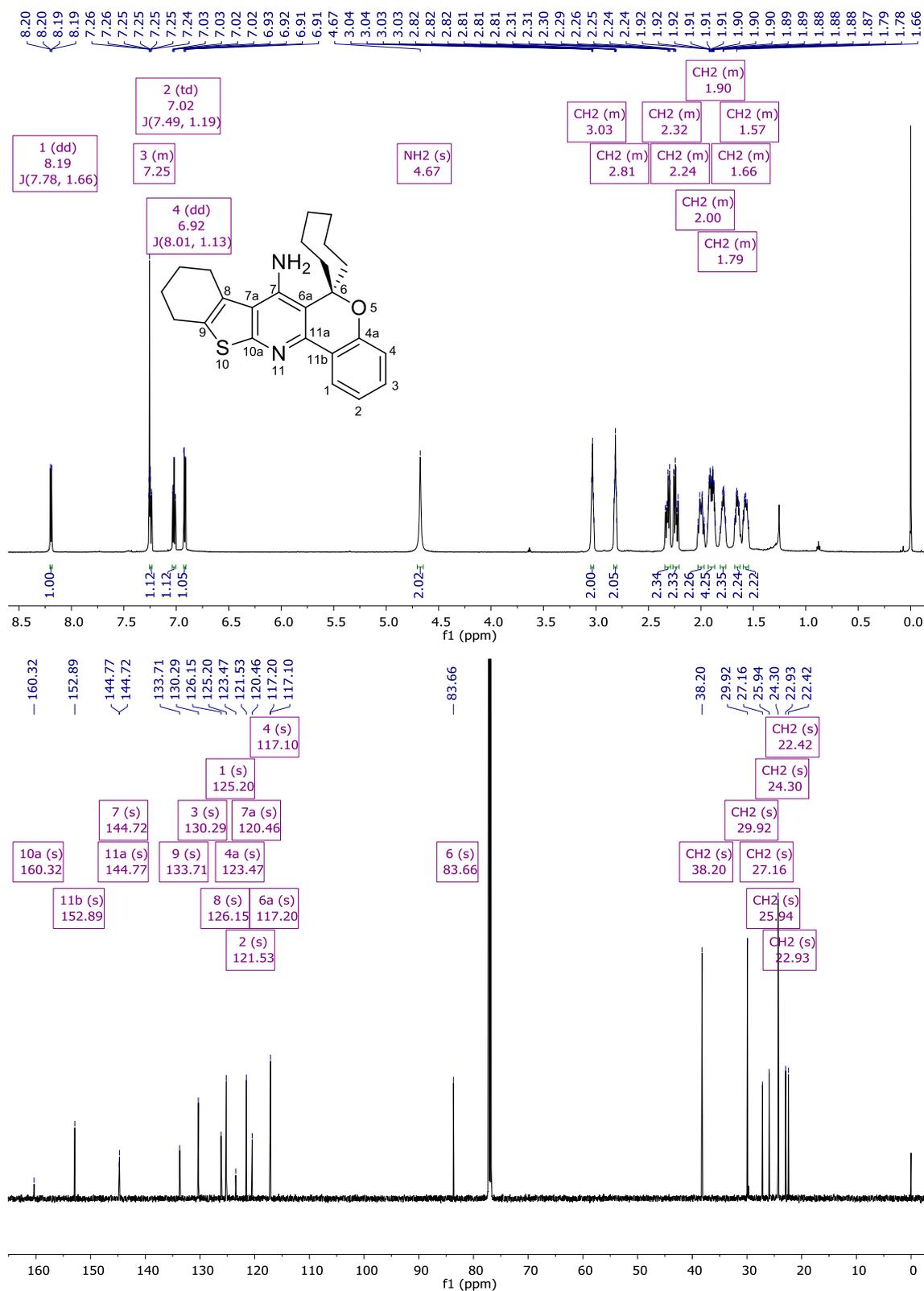


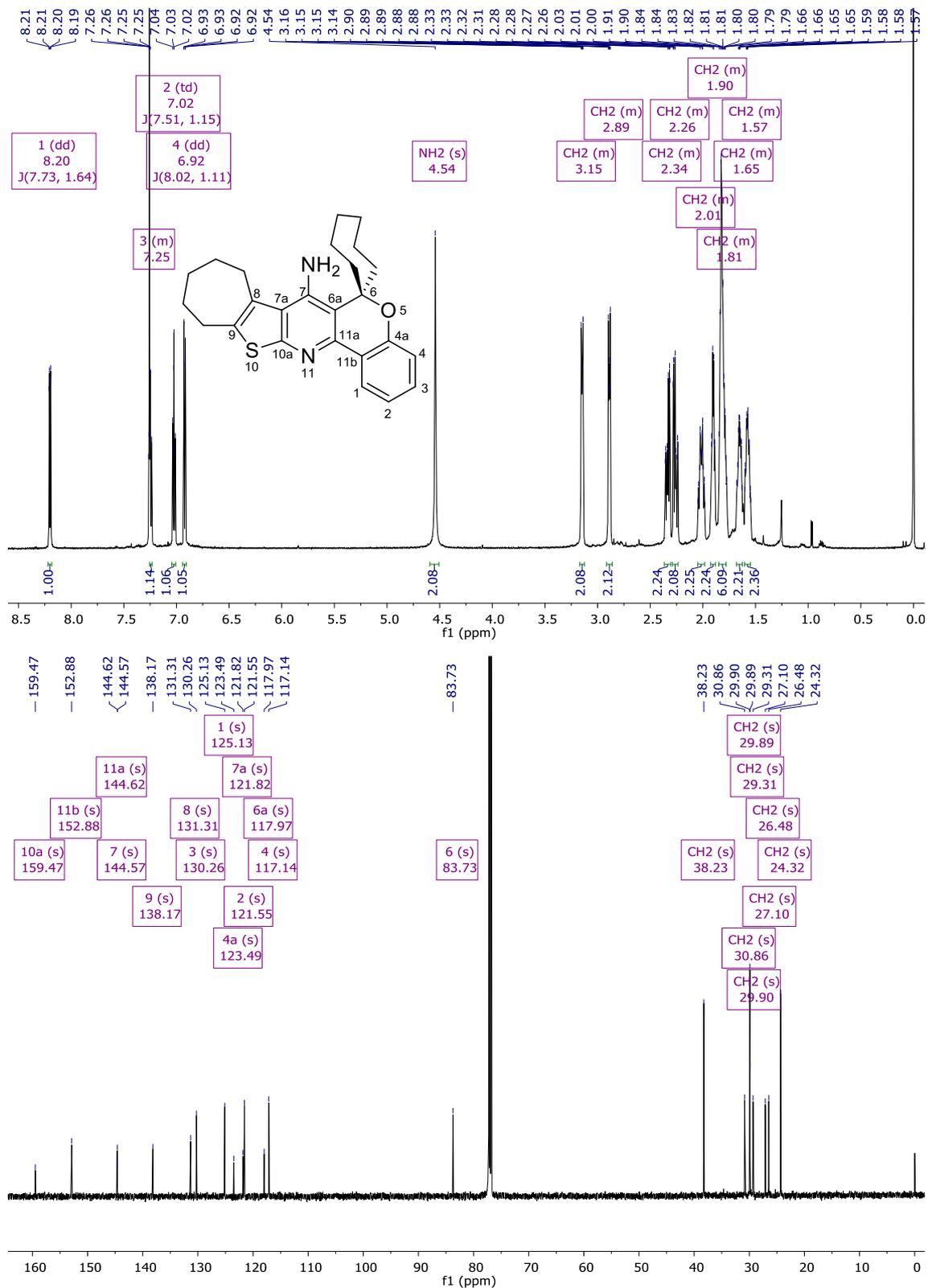
Figura 70 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **8cd**, registrados em CDCl_3 

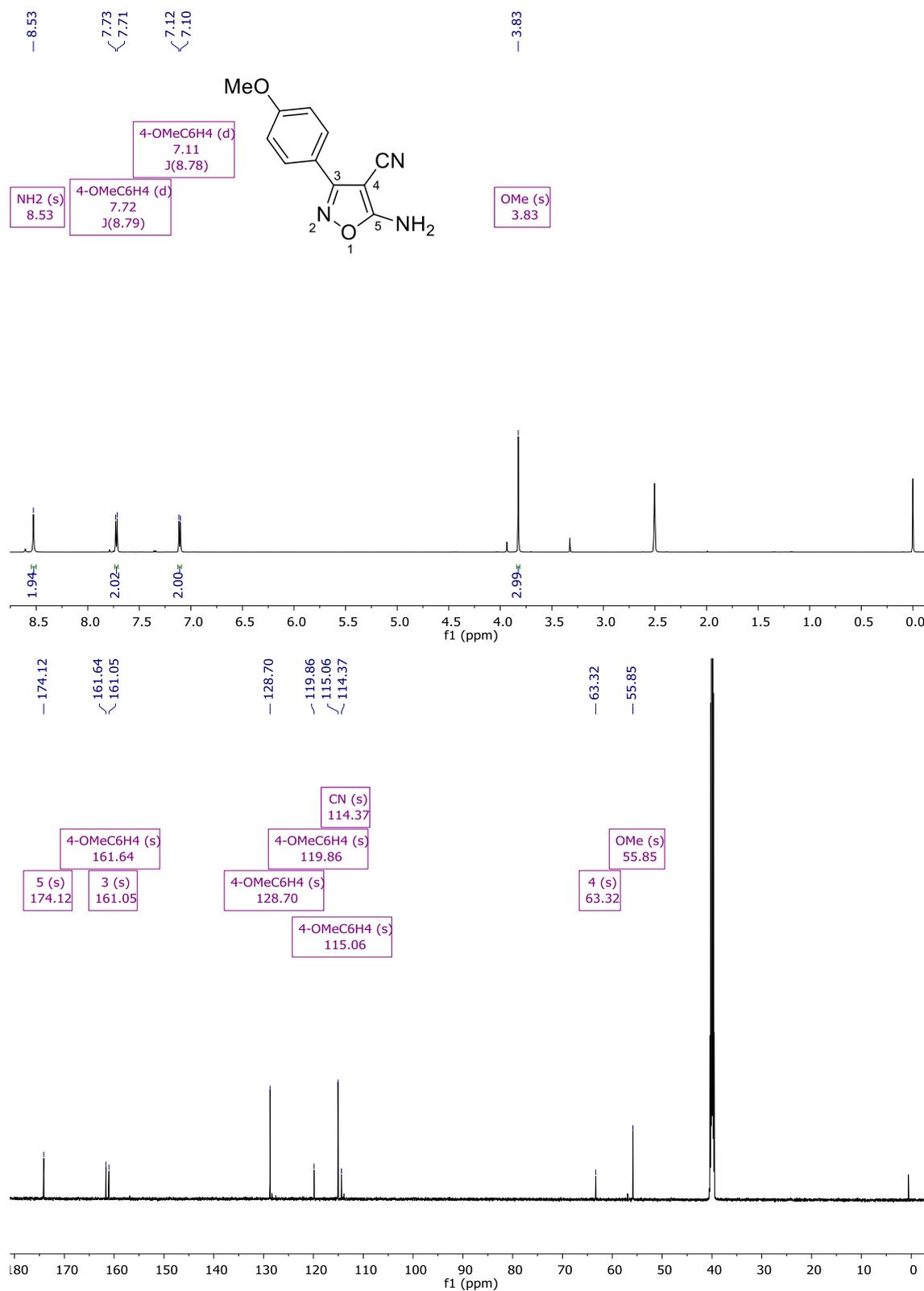
Figura 71 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **10b**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

Figura 72 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **10d**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$

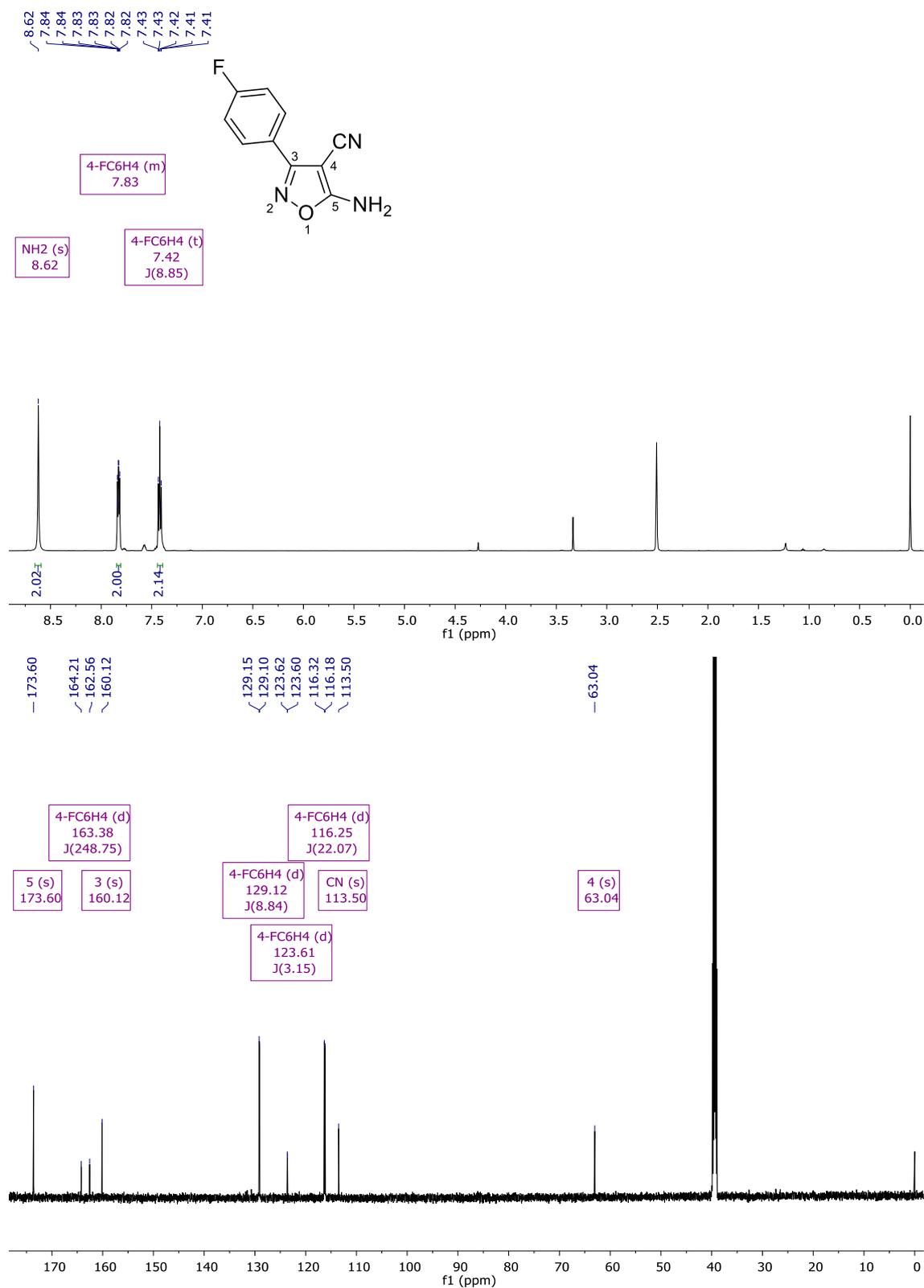


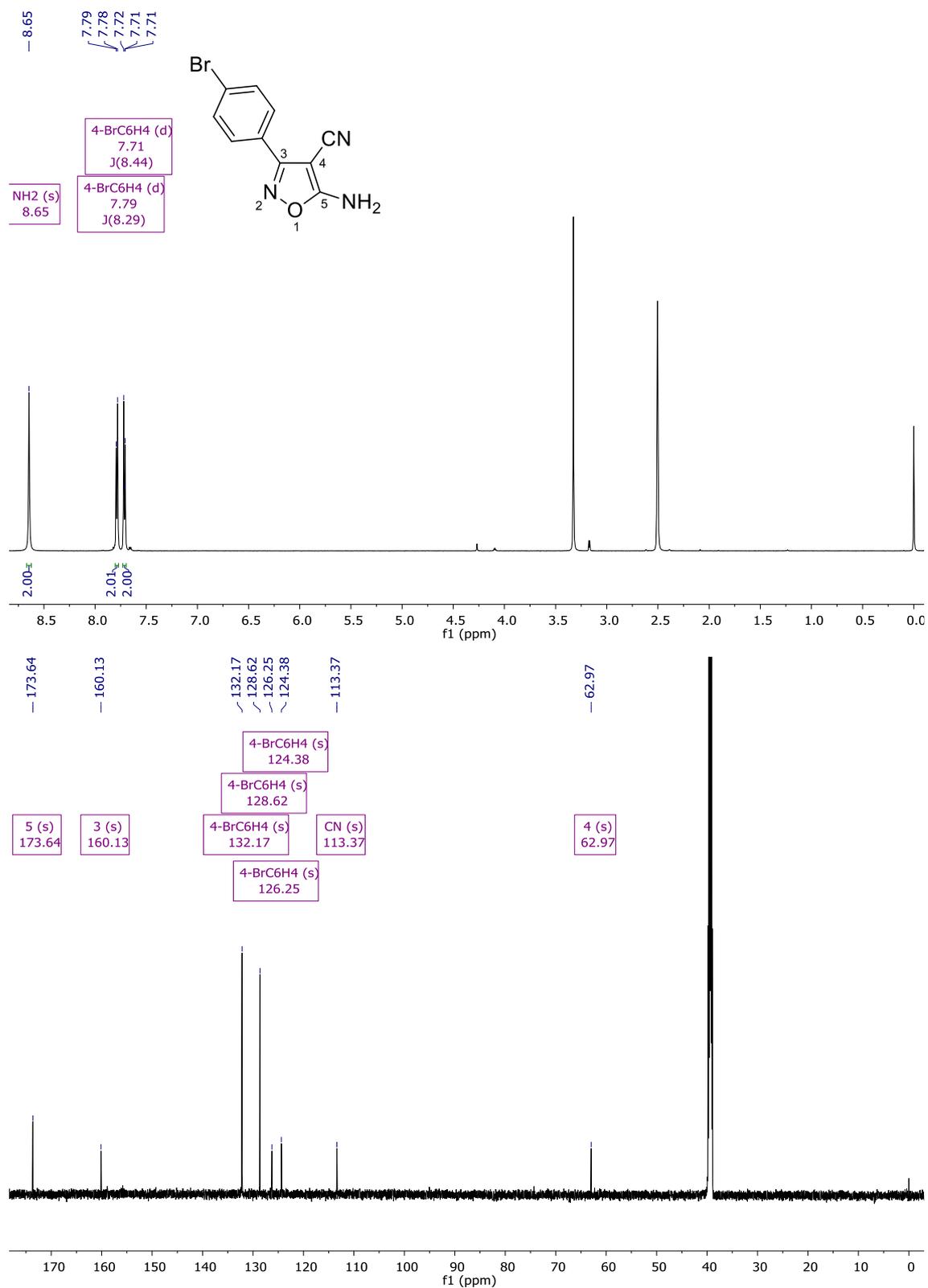
Figura 73 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **10e**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

Figura 74 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **10g**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$

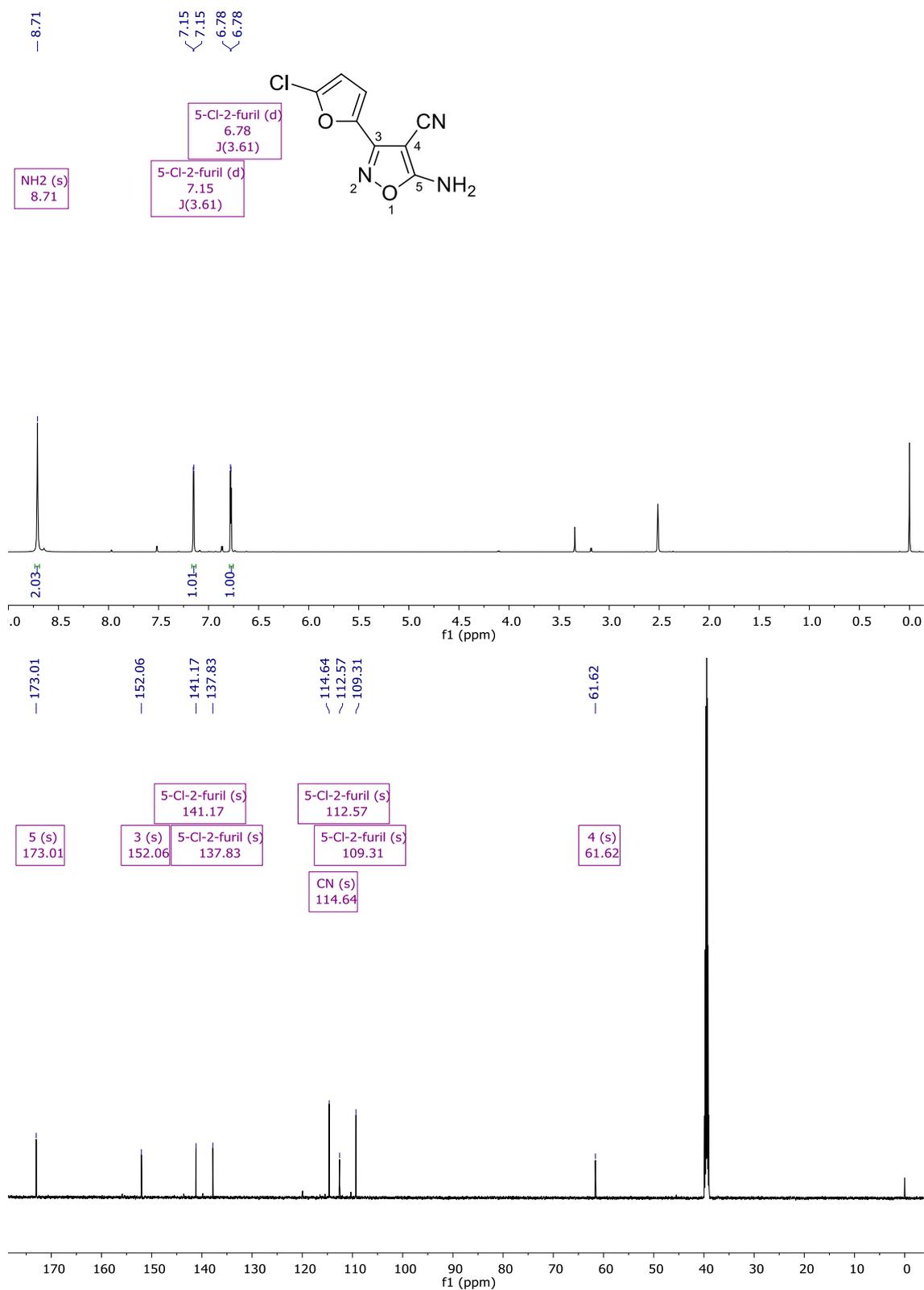


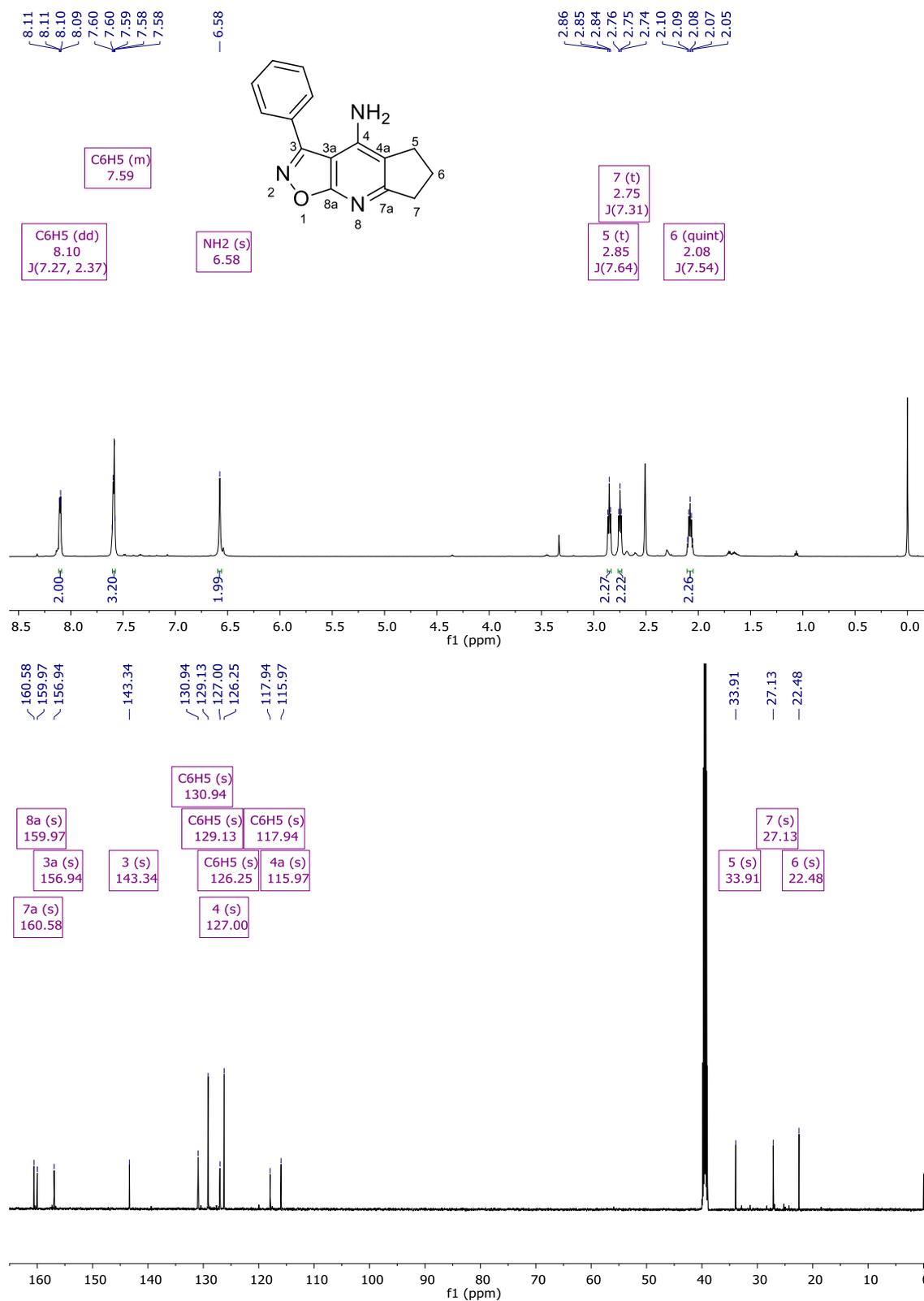
Figura 75 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11aa**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

Figura 76 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11ab**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$

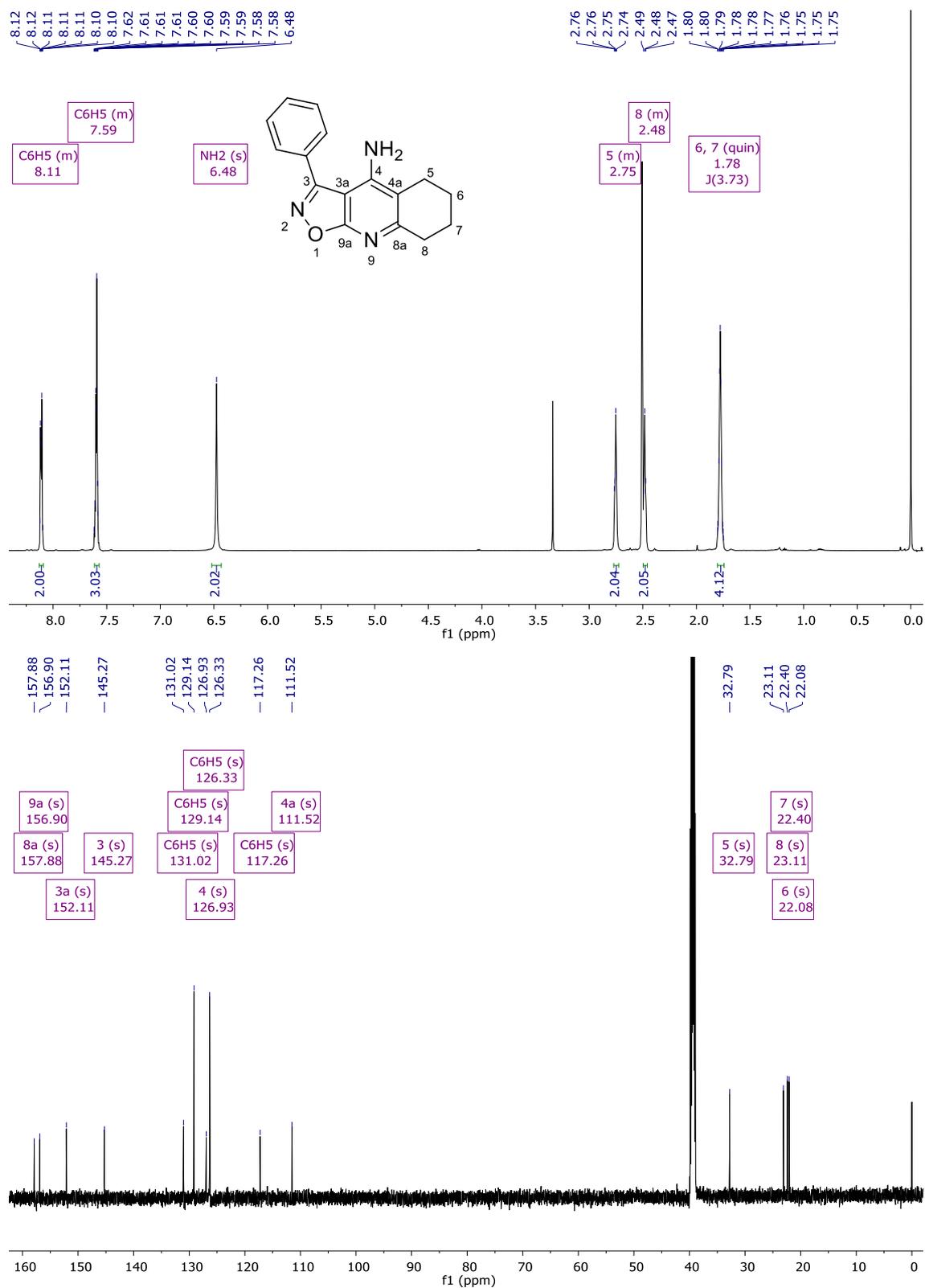


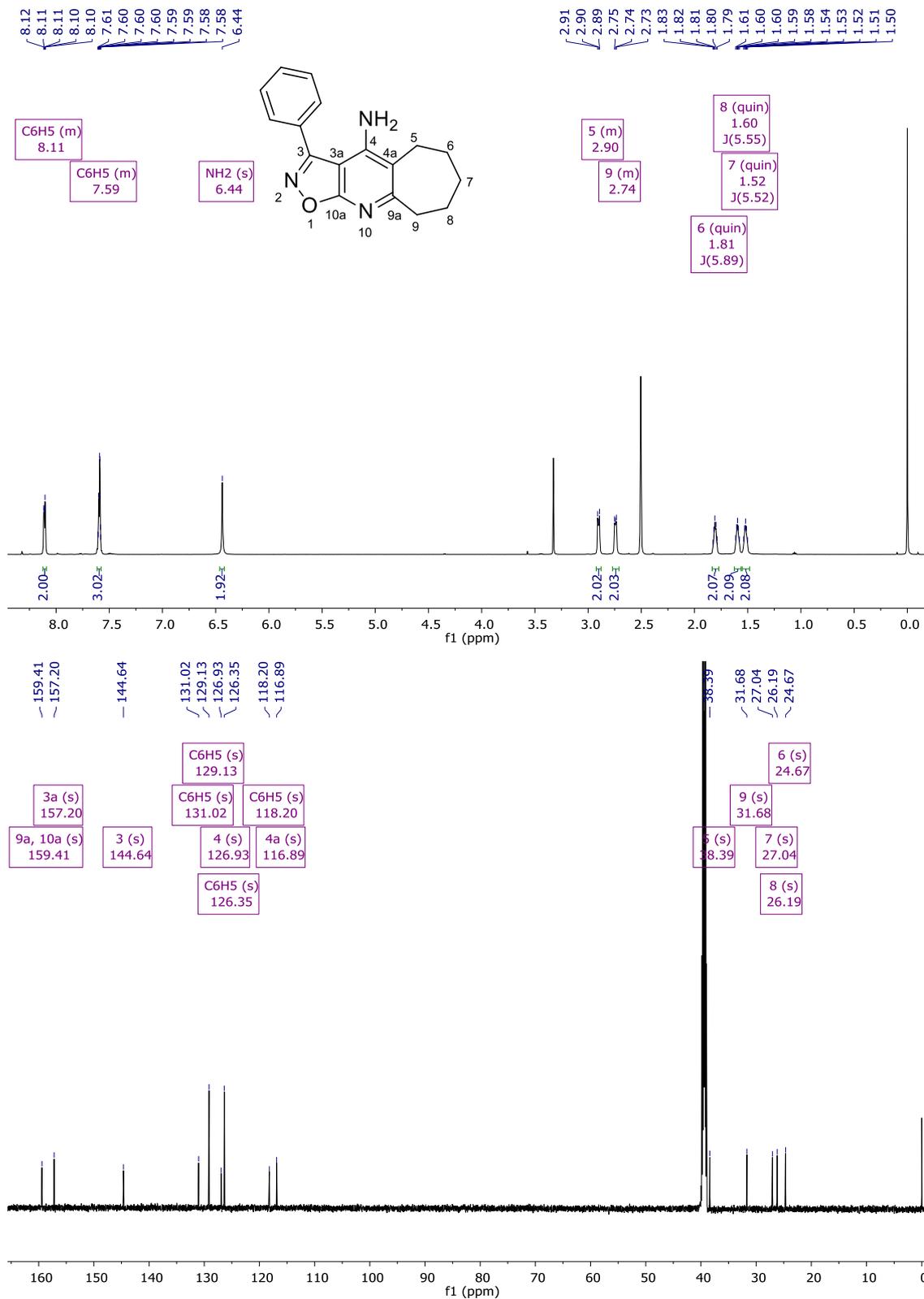
Figura 77 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11ac**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

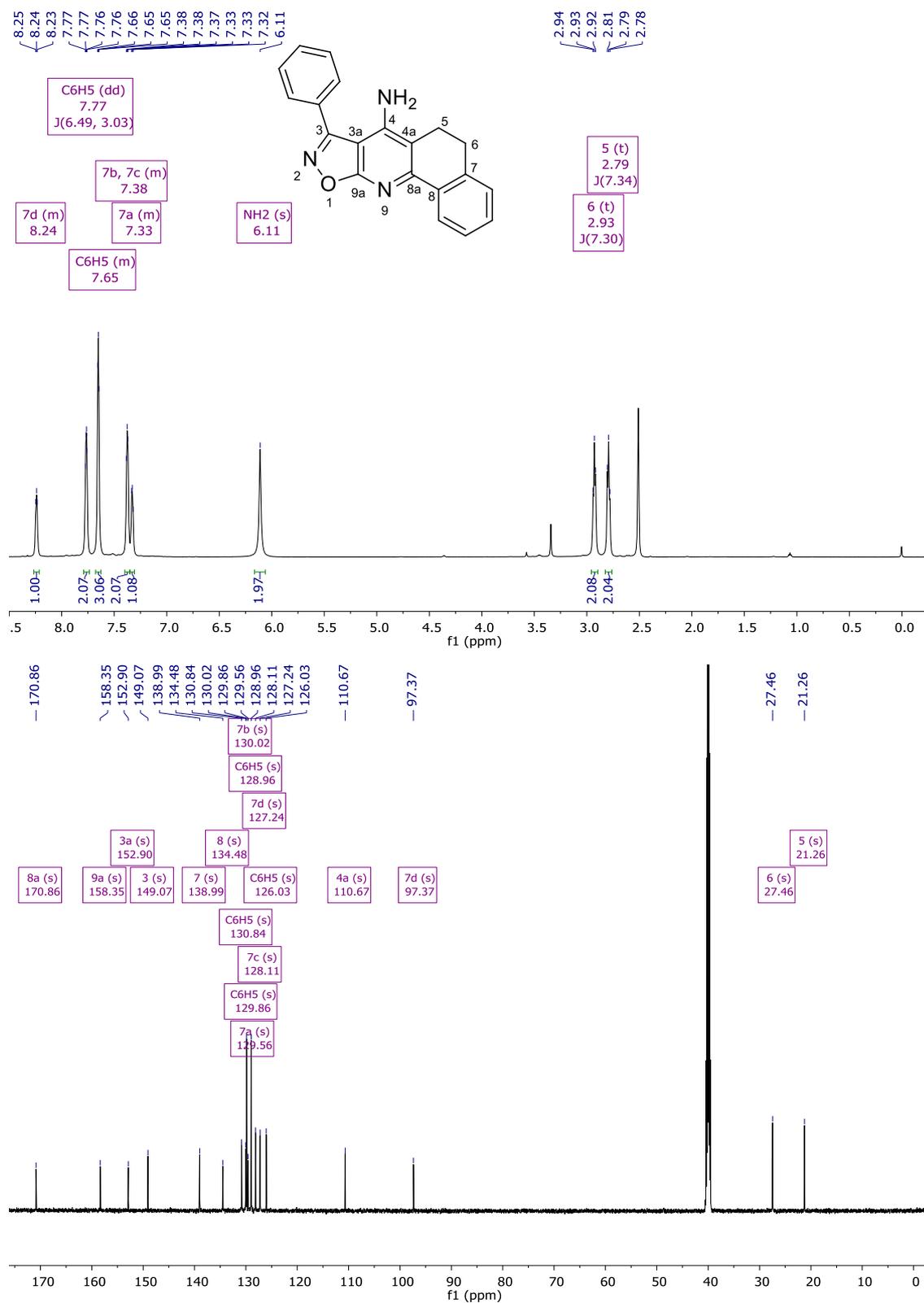
Figura 78 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11ad**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

Figura 79 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11cb**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$

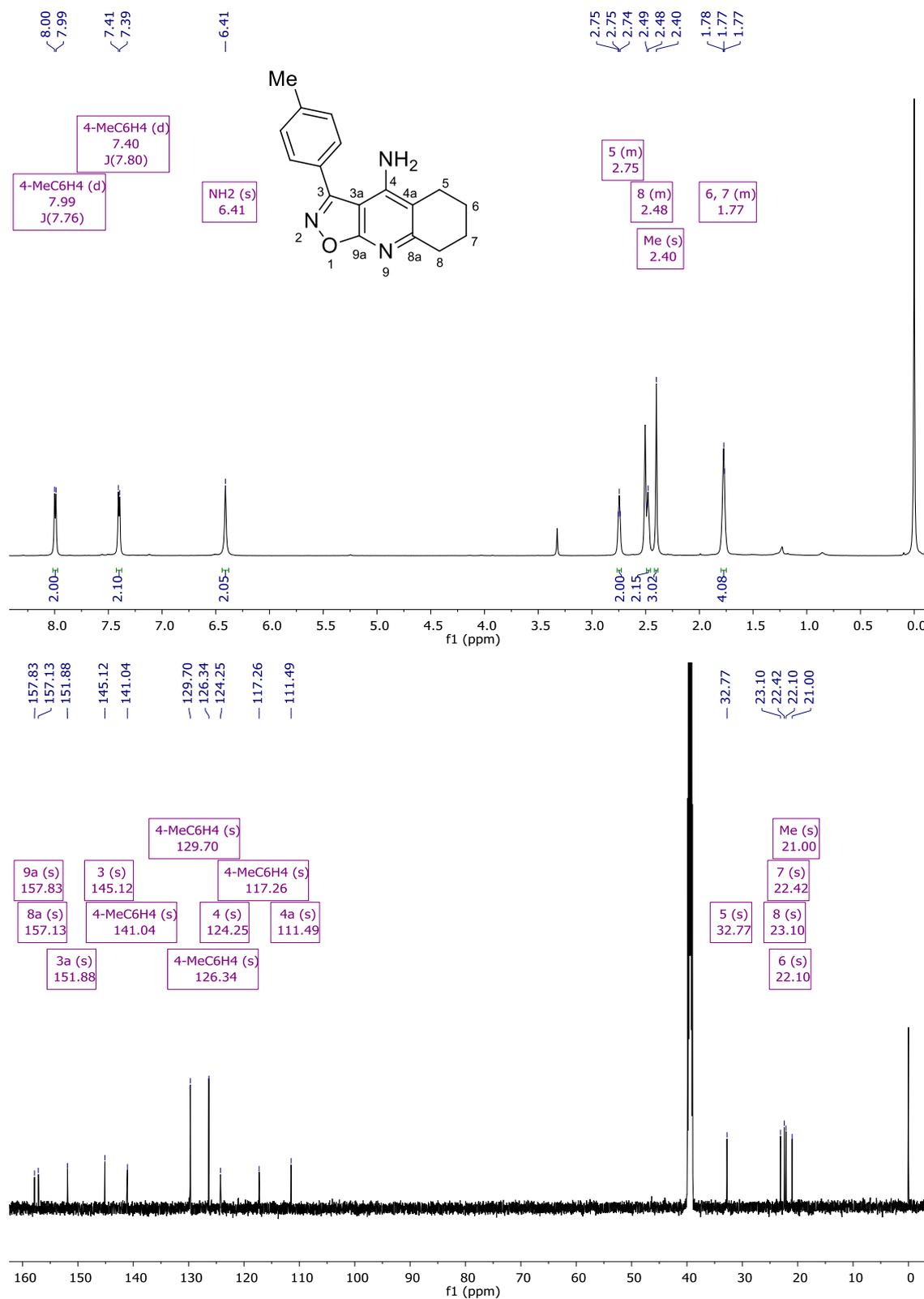


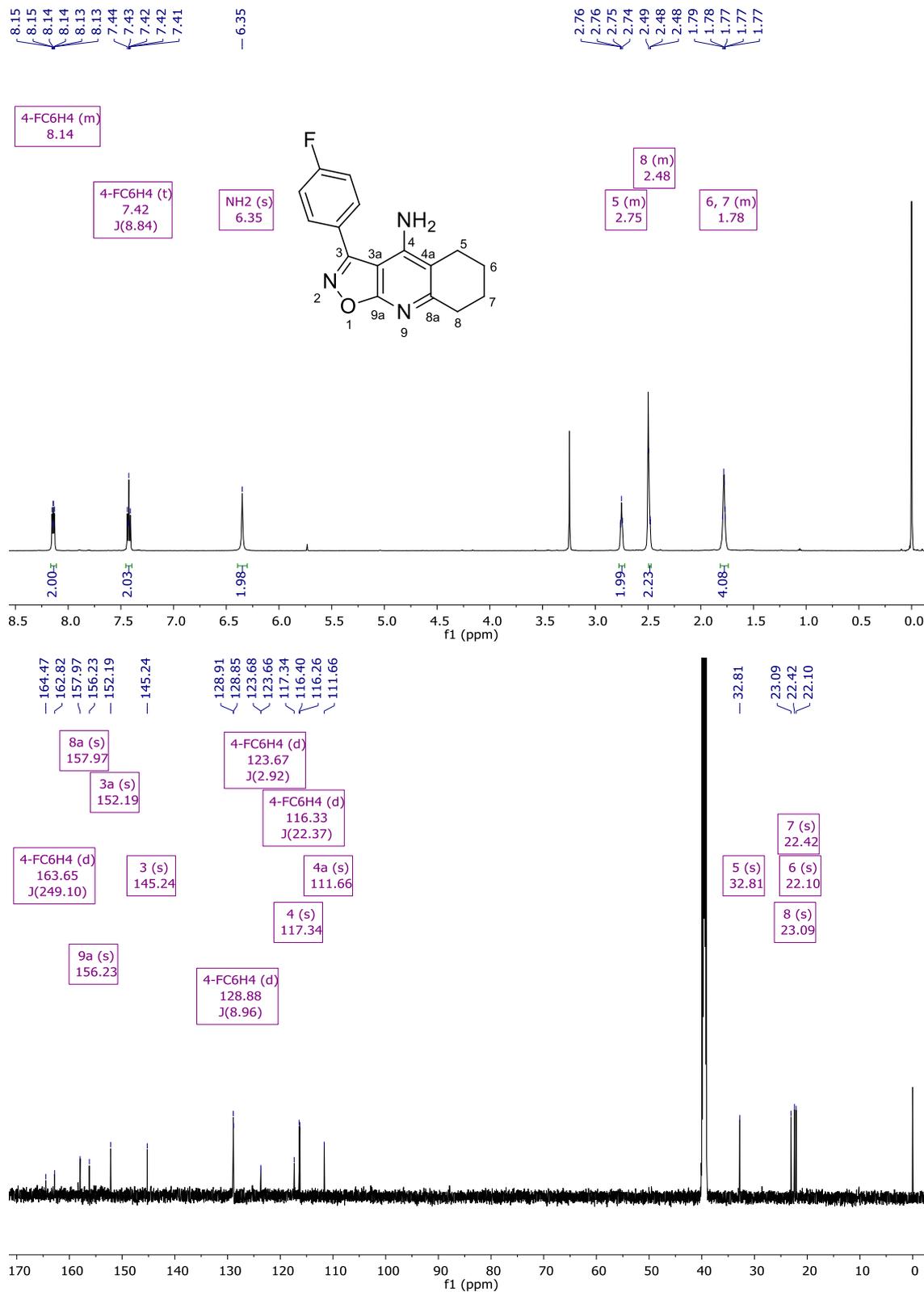
Figura 80 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11db**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

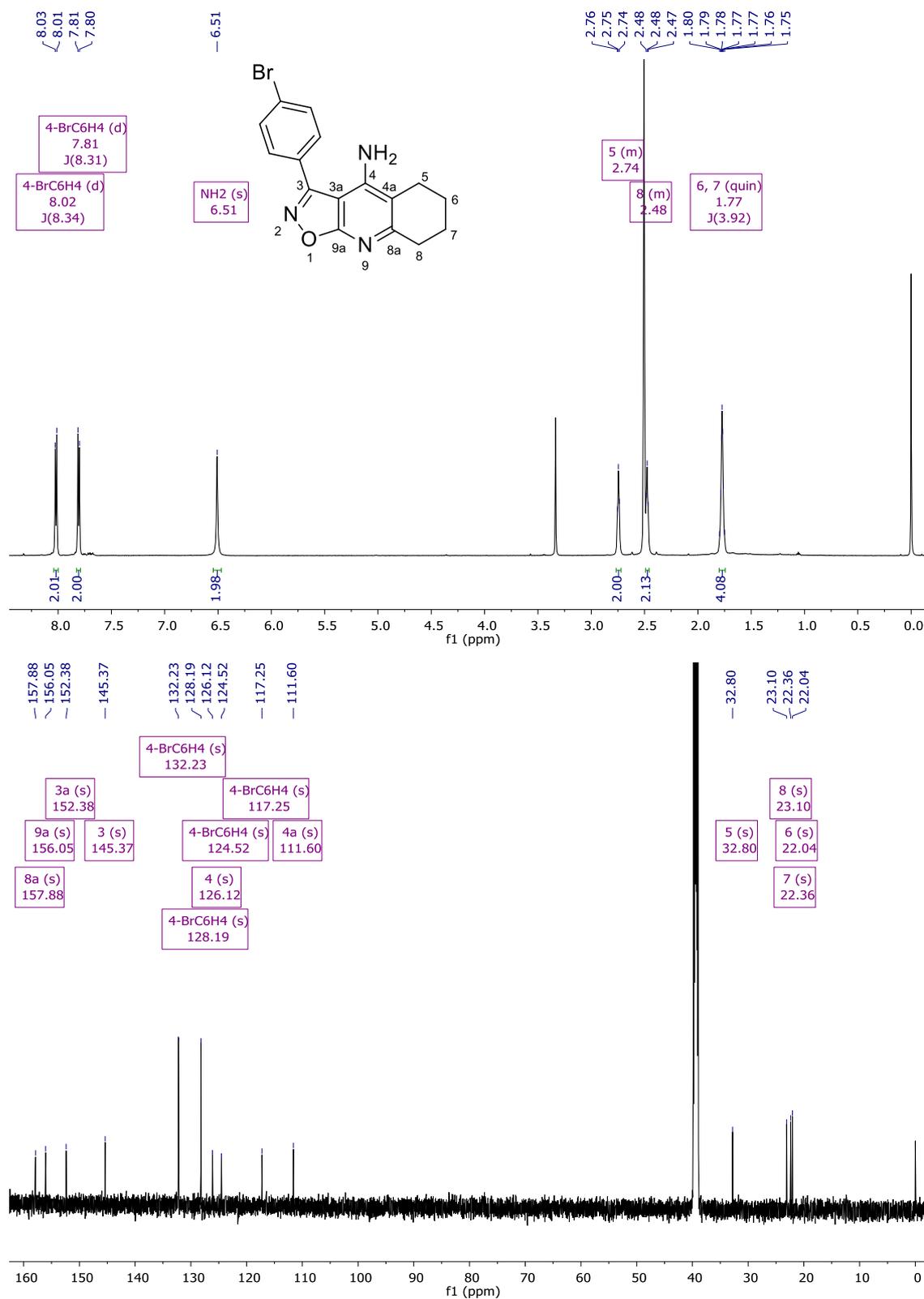
Figura 81 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11eb**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

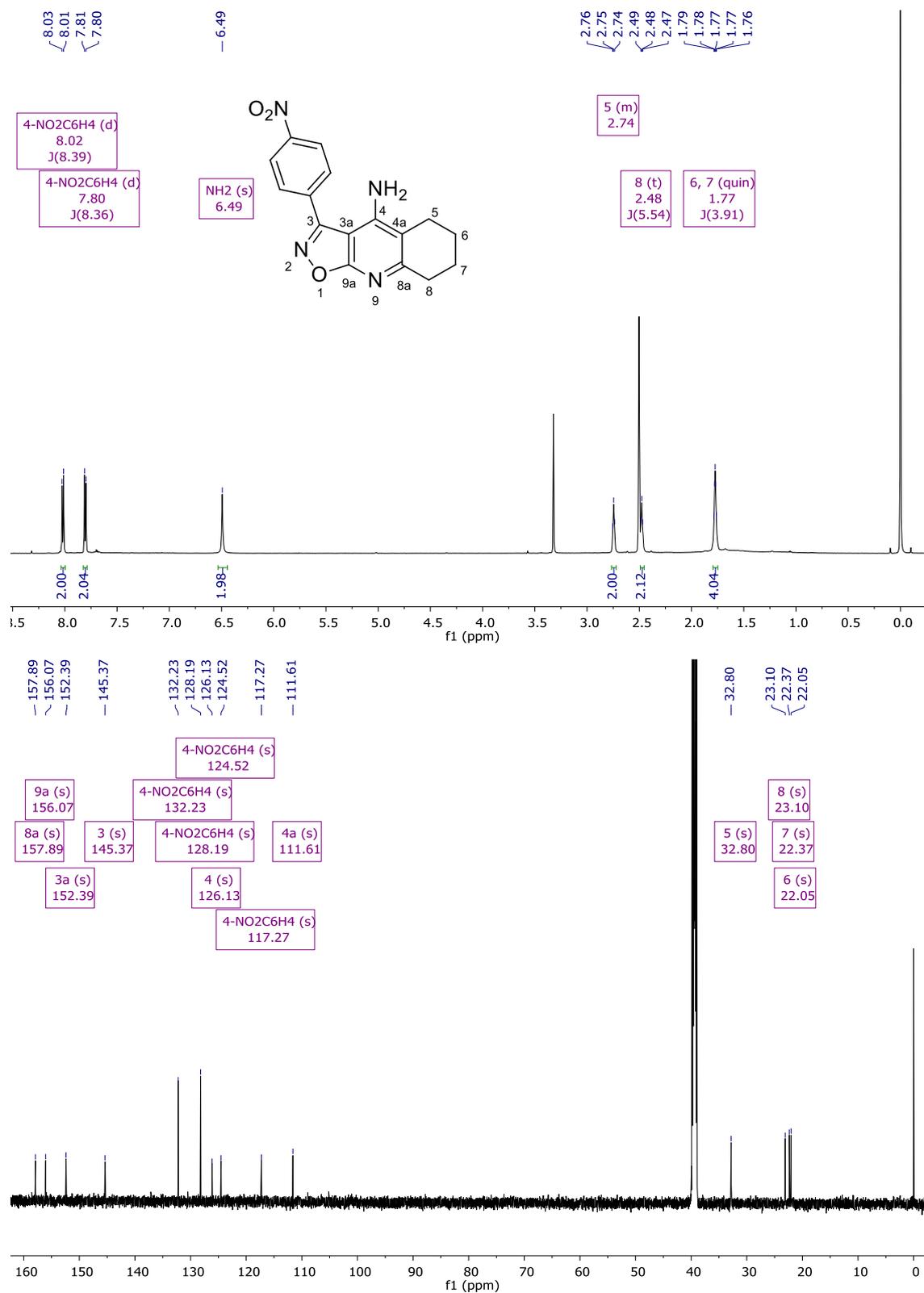
Figura 82 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11fb**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

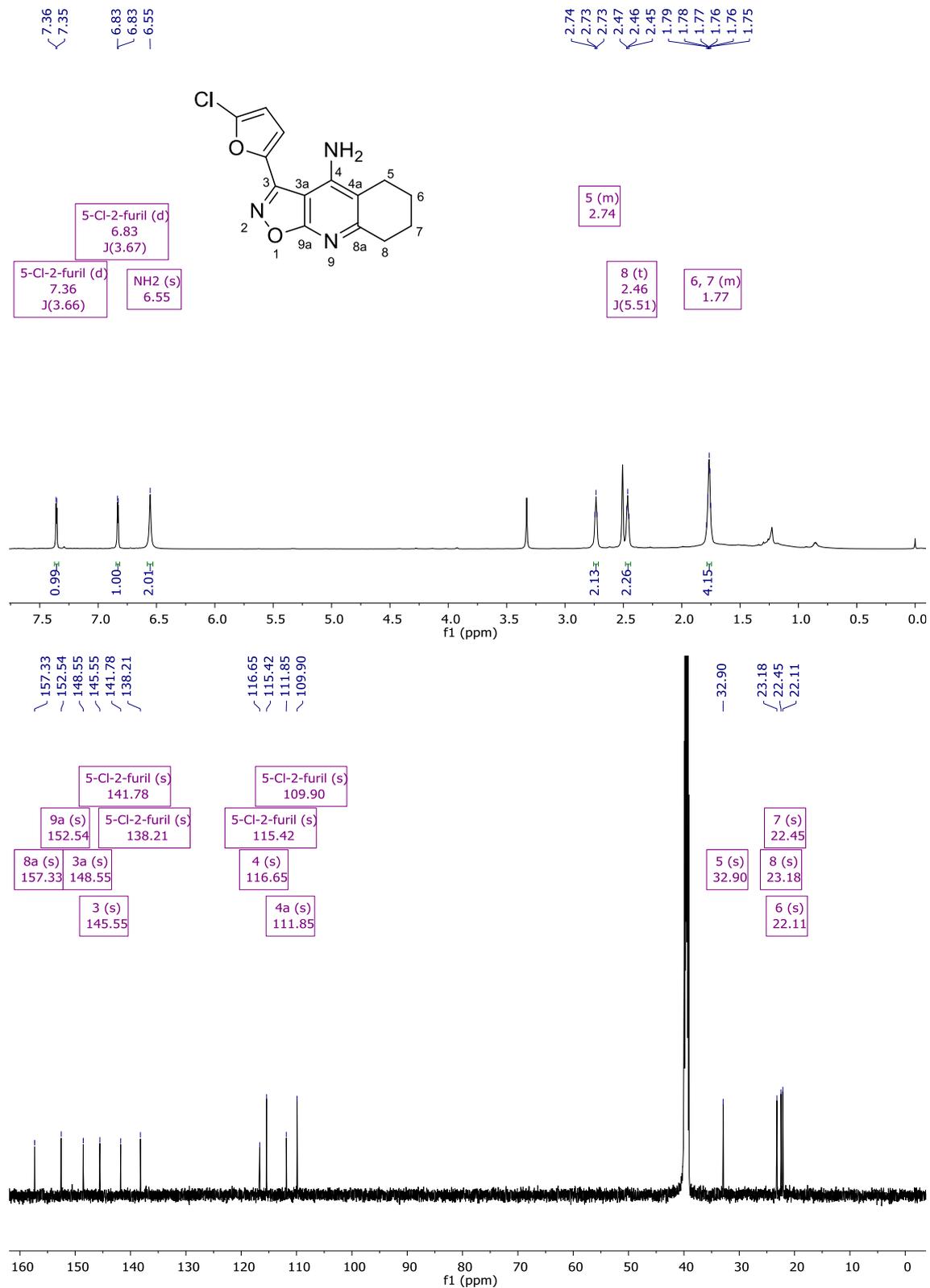
Figura 83 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11gb**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

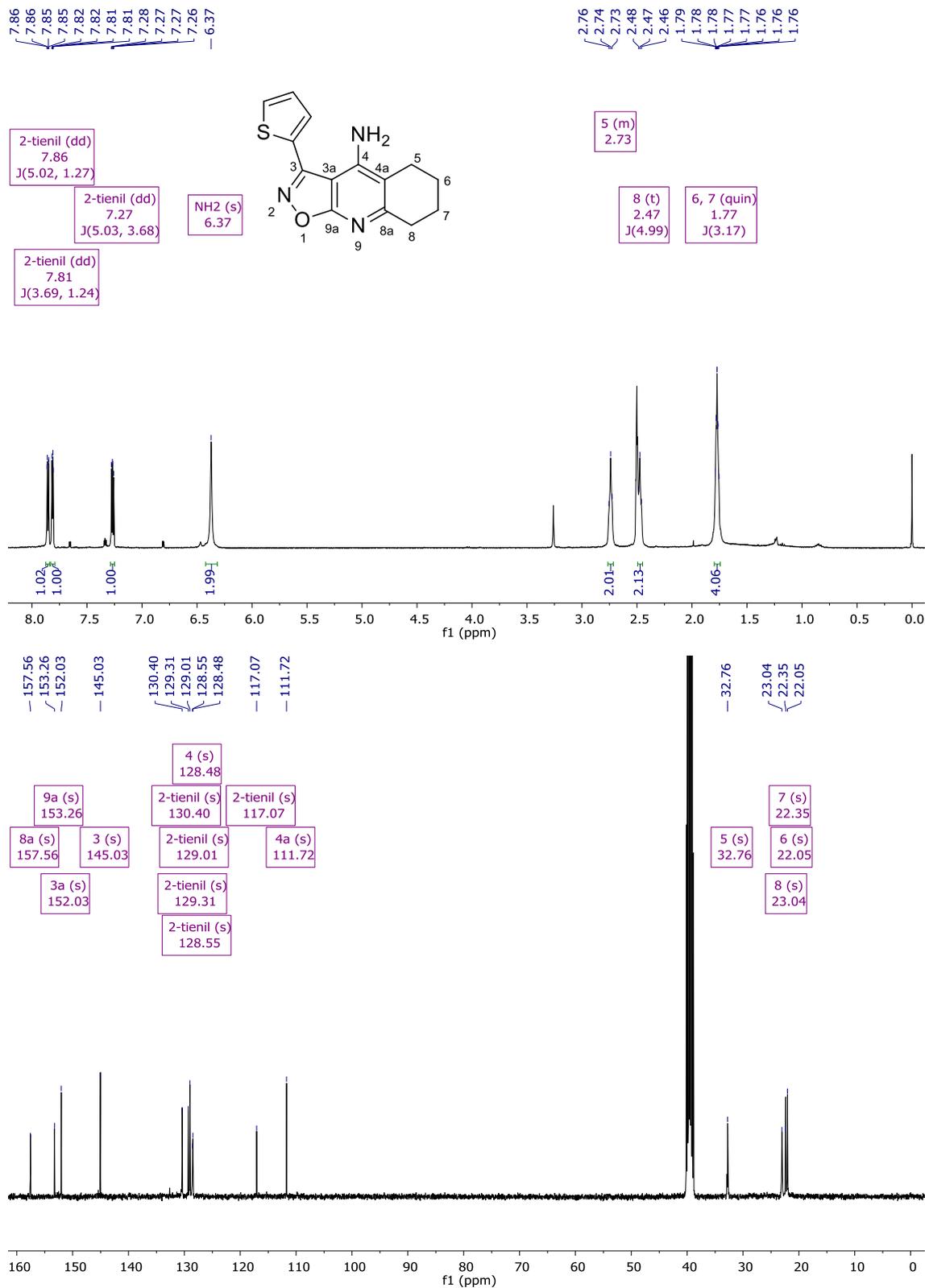
Figura 84 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **11hb**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

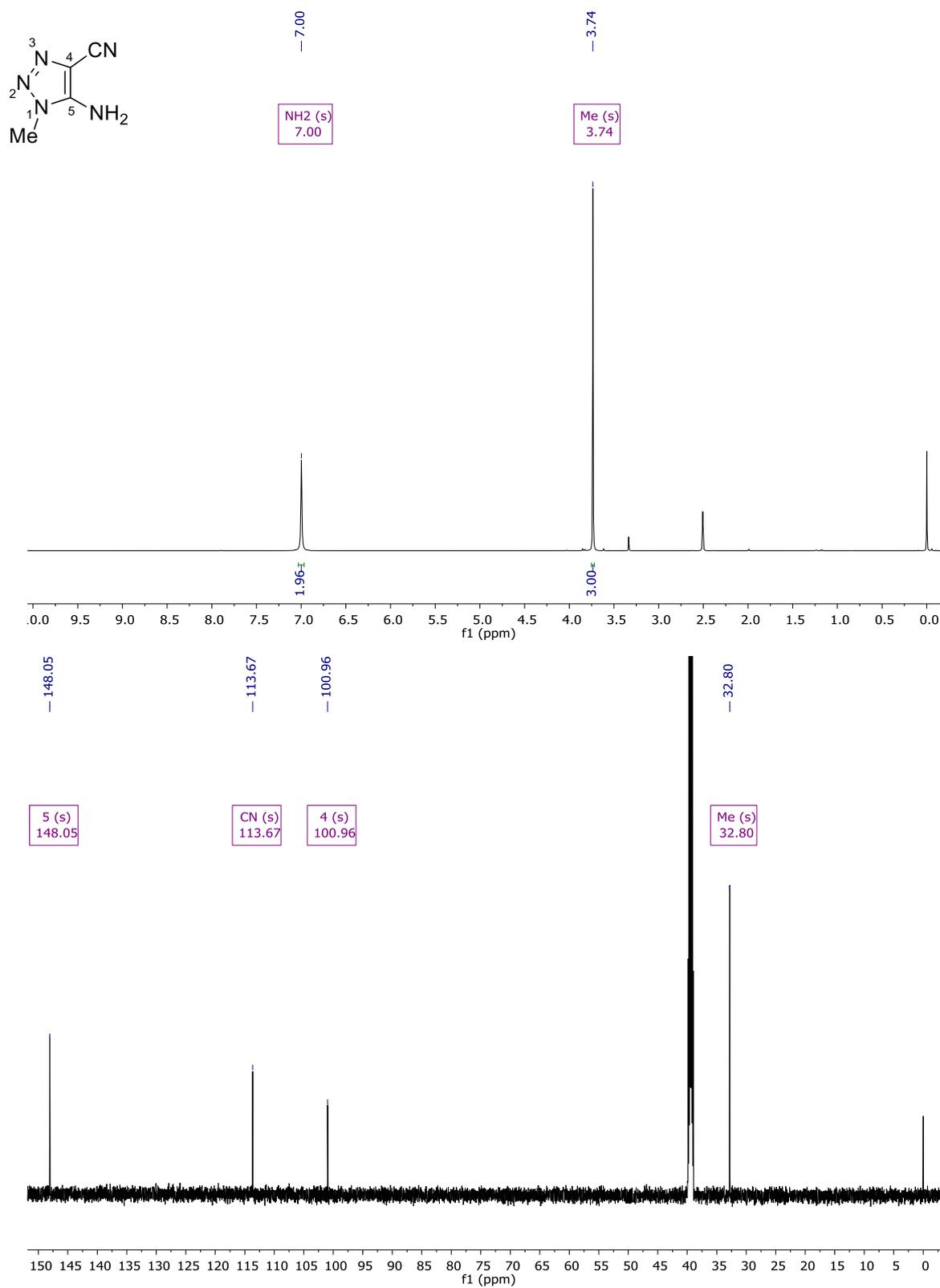
Figura 85 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **14b**, registrados em DMSO- d_6 

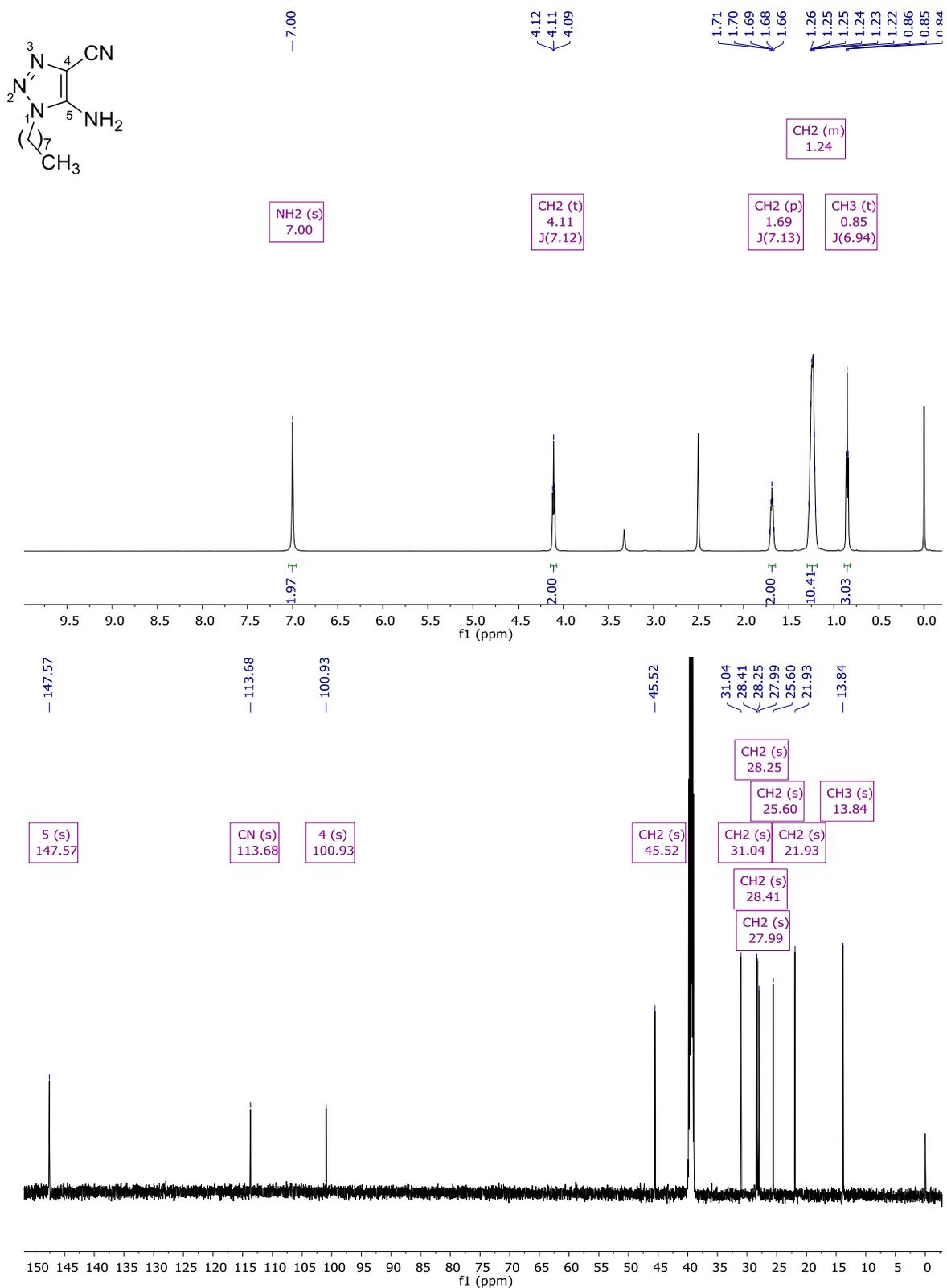
Figura 86 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **14c**, registrados em $\text{DMSO-}d_6$ 

Figura 87 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **14g**, registrados em DMSO- d_6

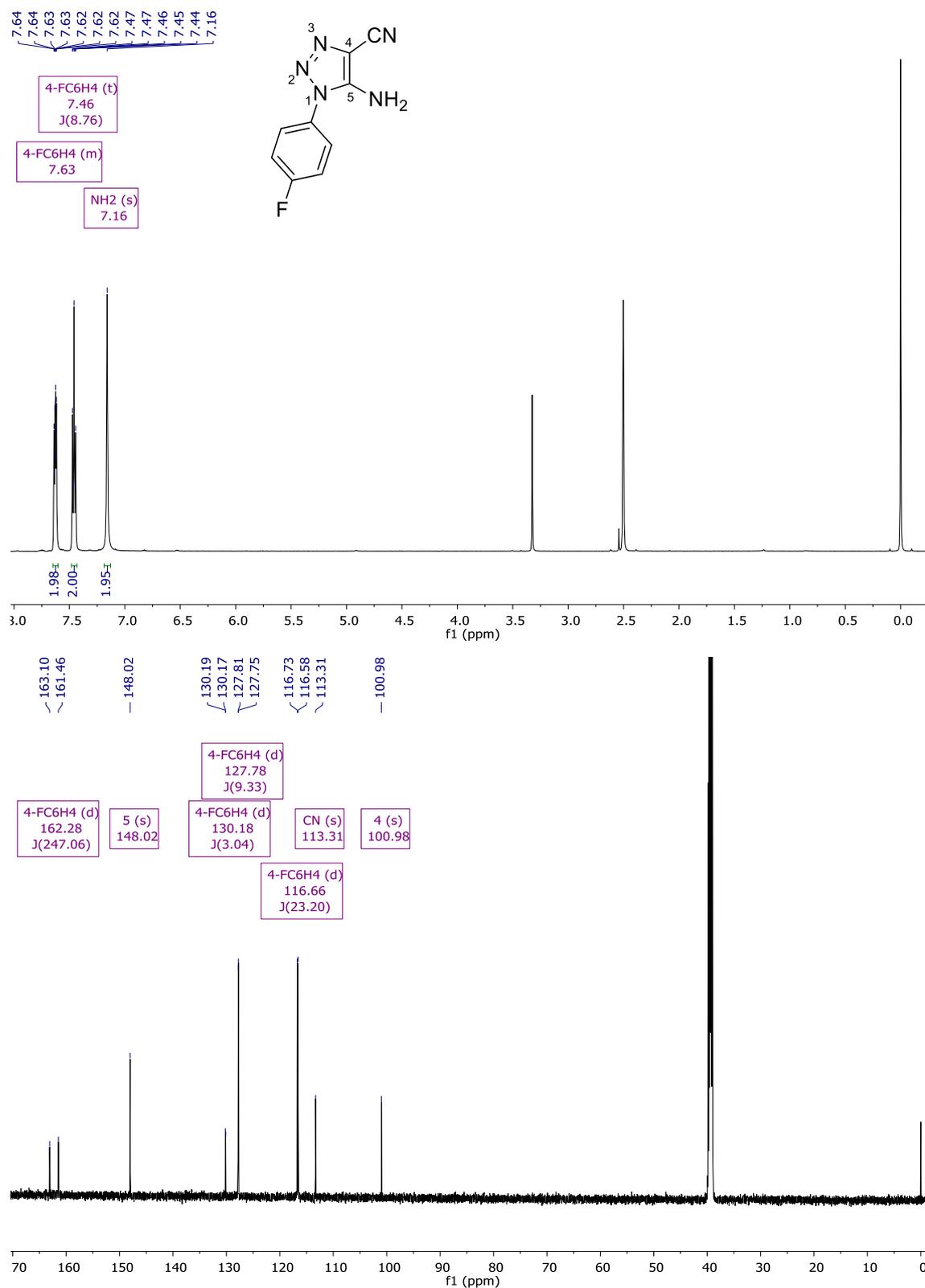


Figura 88 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **14j**, registrados em DMSO- d_6

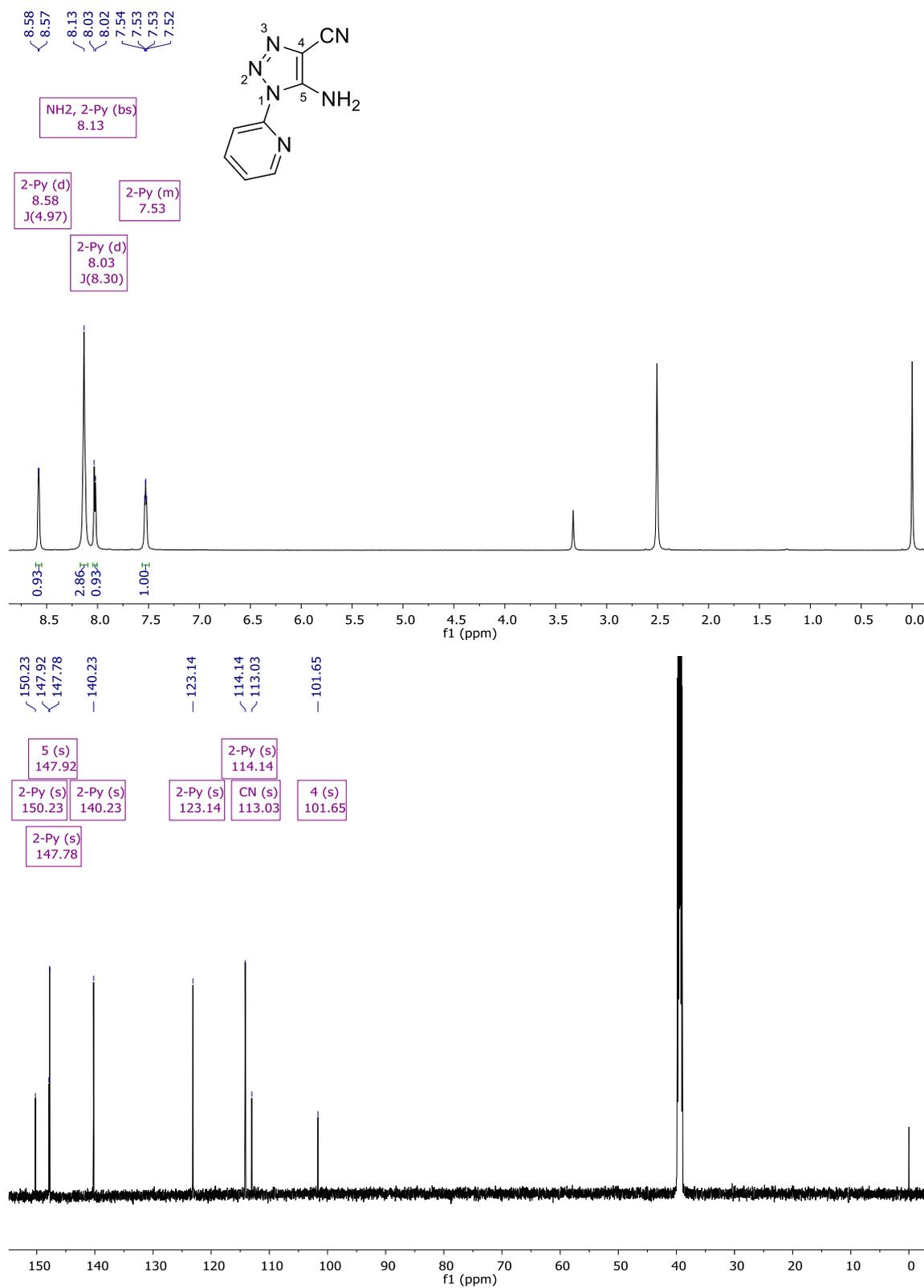


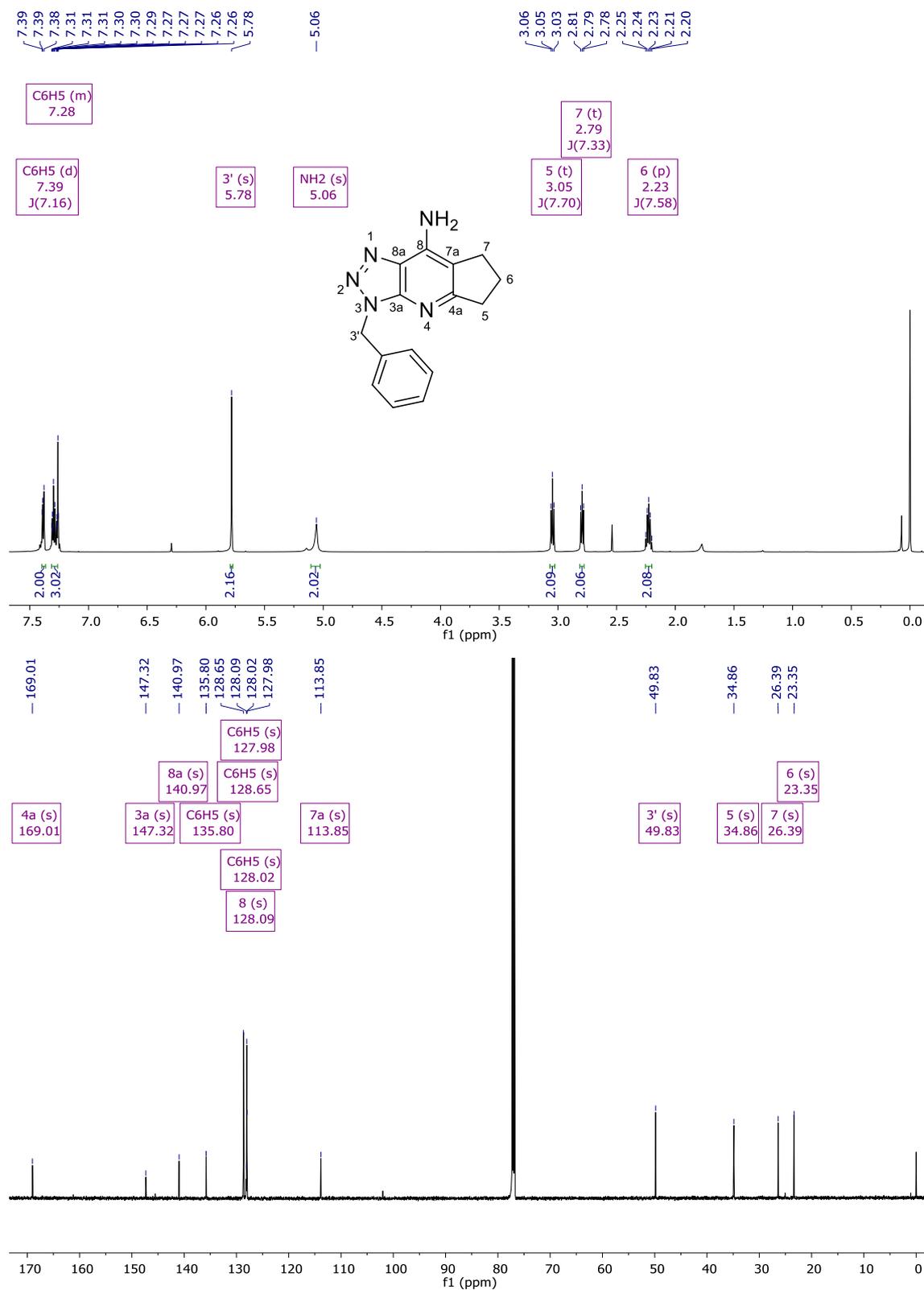
Figura 89 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15aa**, registrados em CDCl_3 

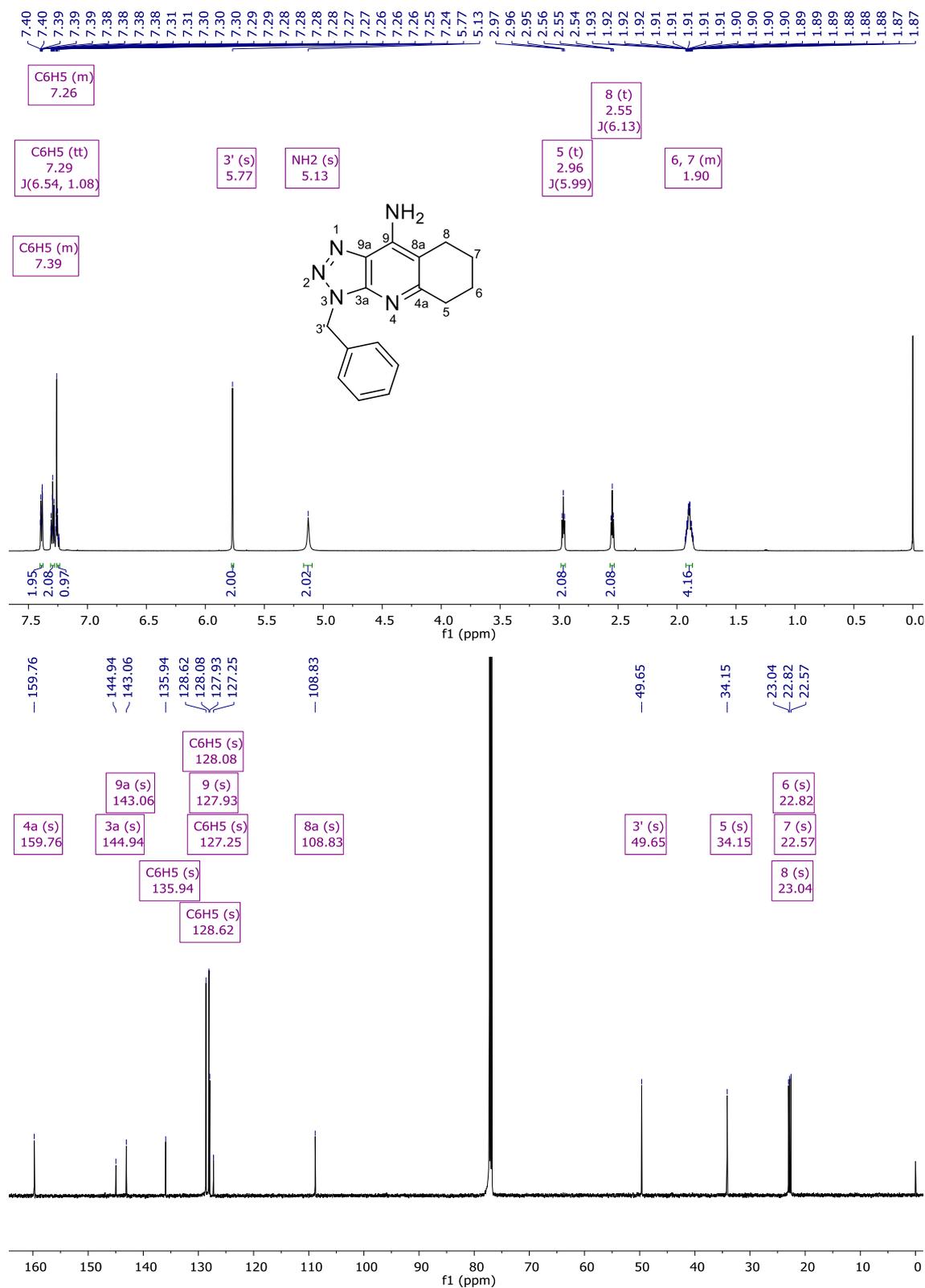
Figura 90 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15ab**, registrados em CDCl_3 

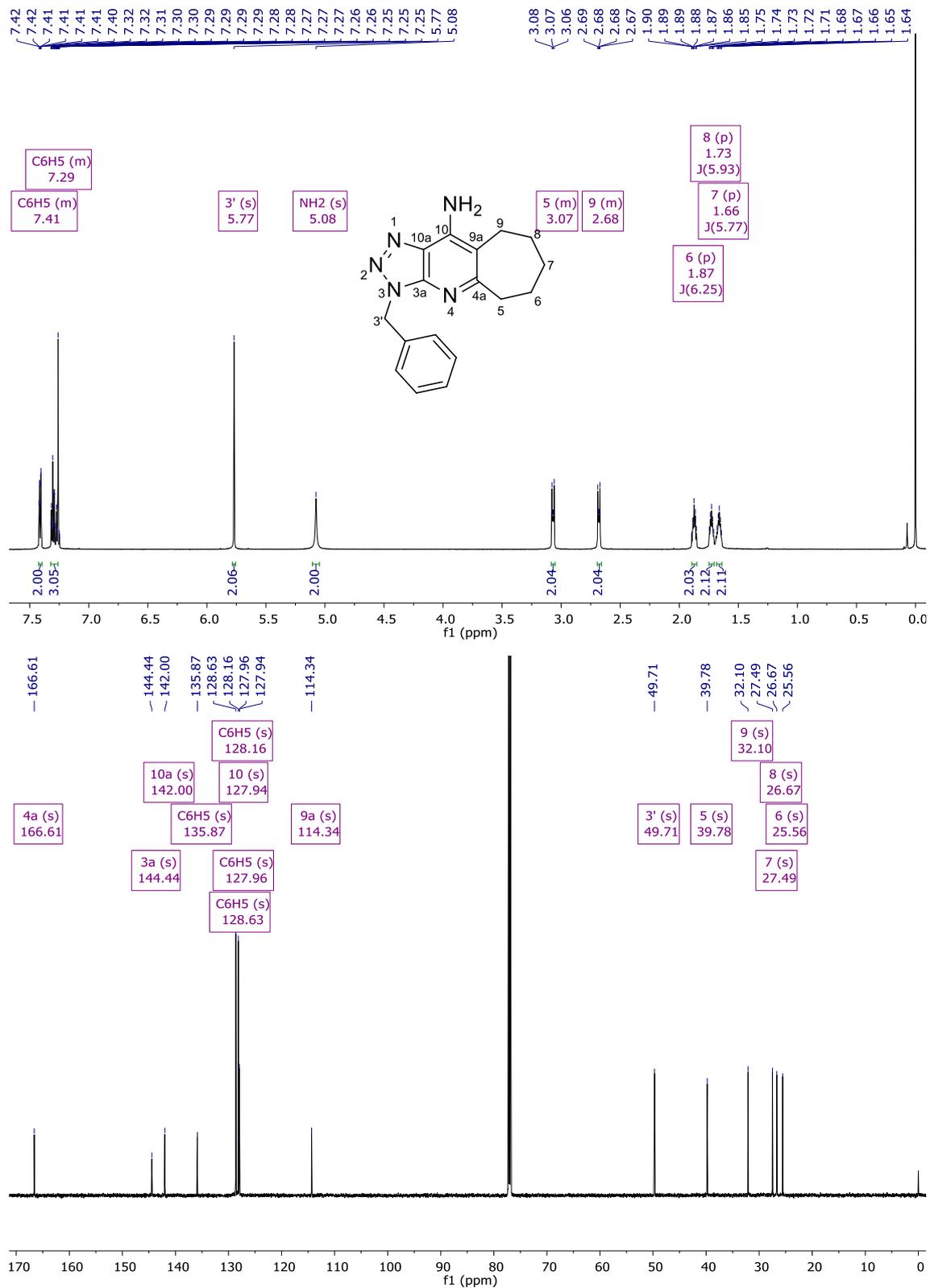
Figura 91- Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15ac**, registrados em CDCl_3 

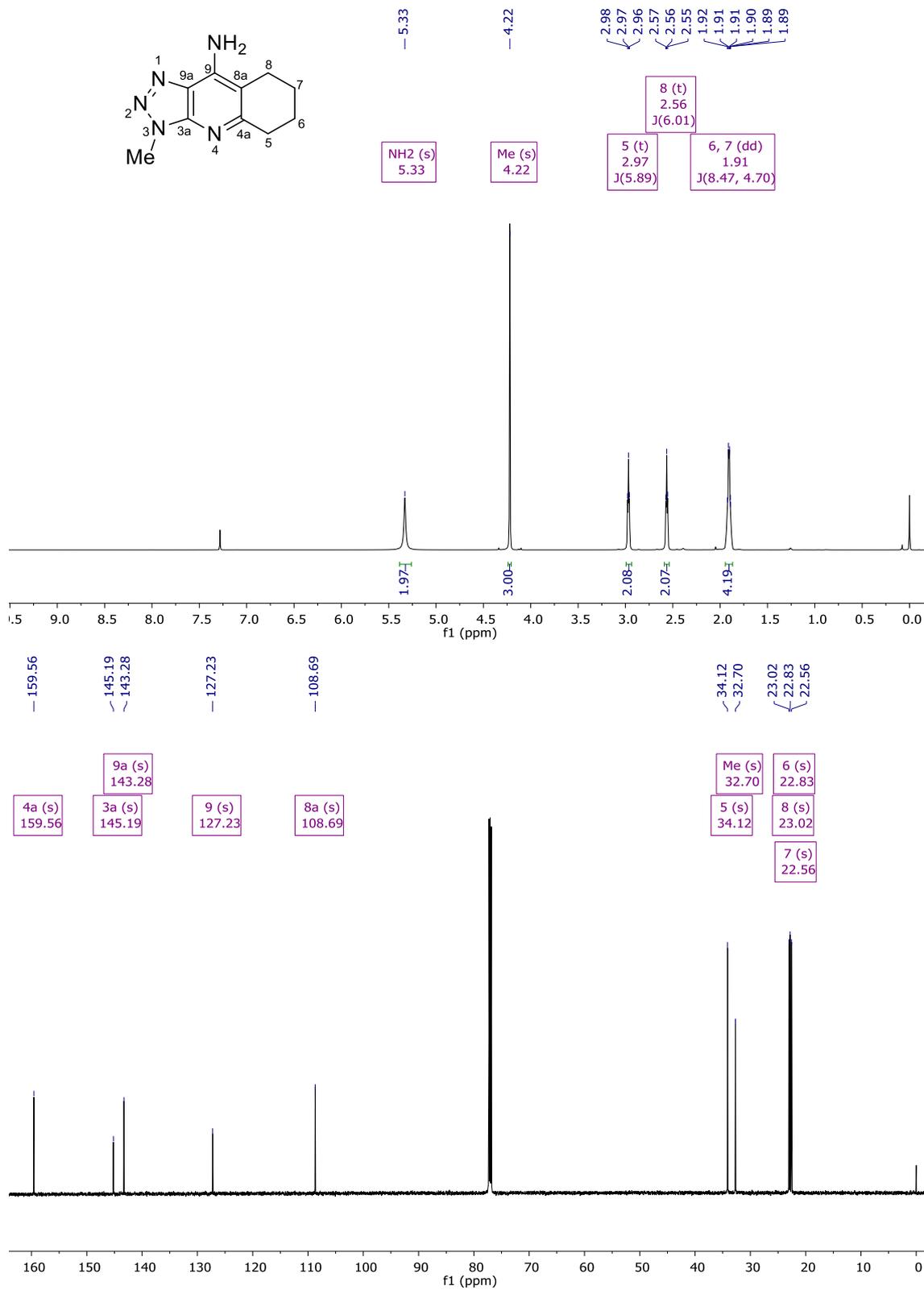
Figura 92 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15ba**, registrados em CDCl_3 

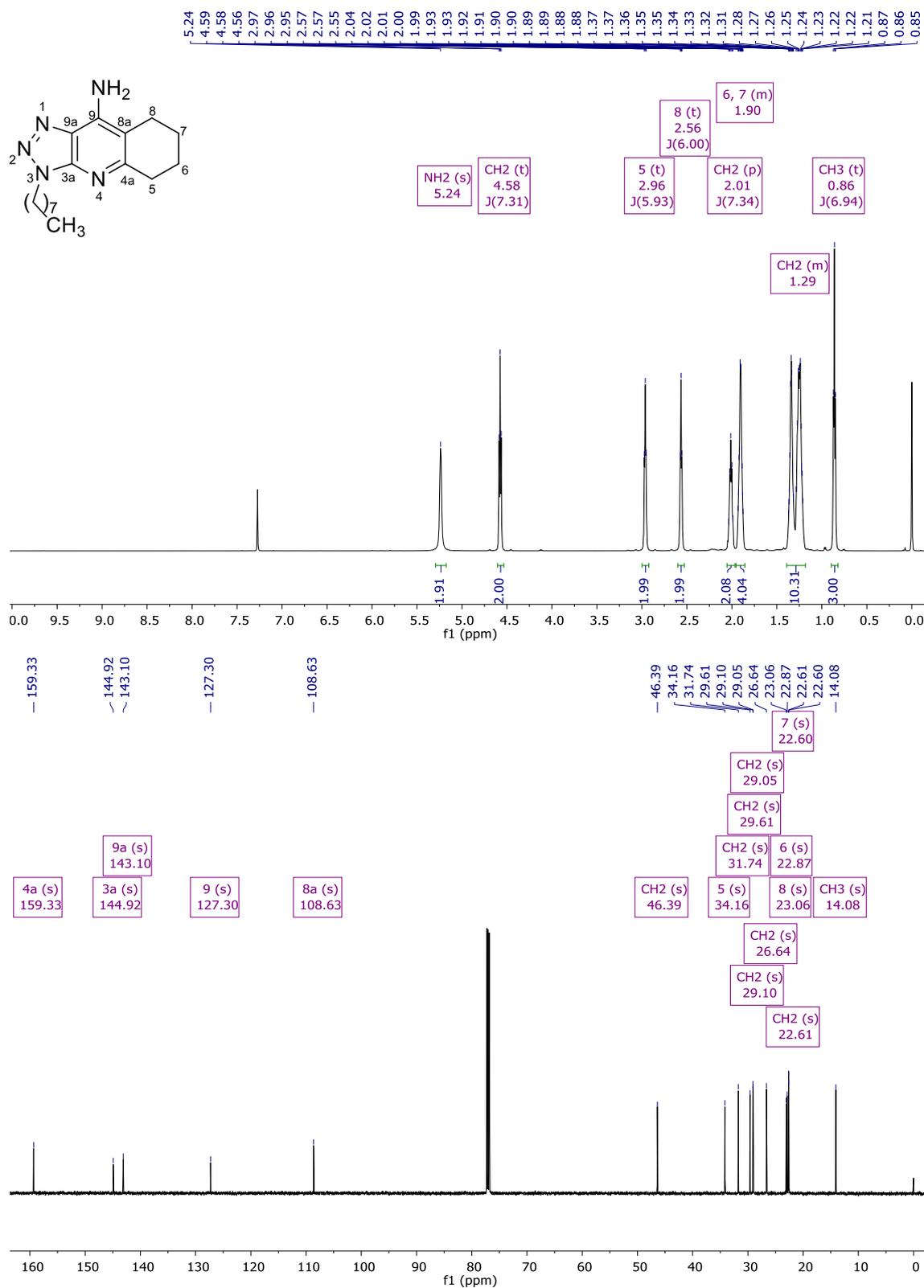
Figura 93 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15ca**, registrados em CDCl_3 

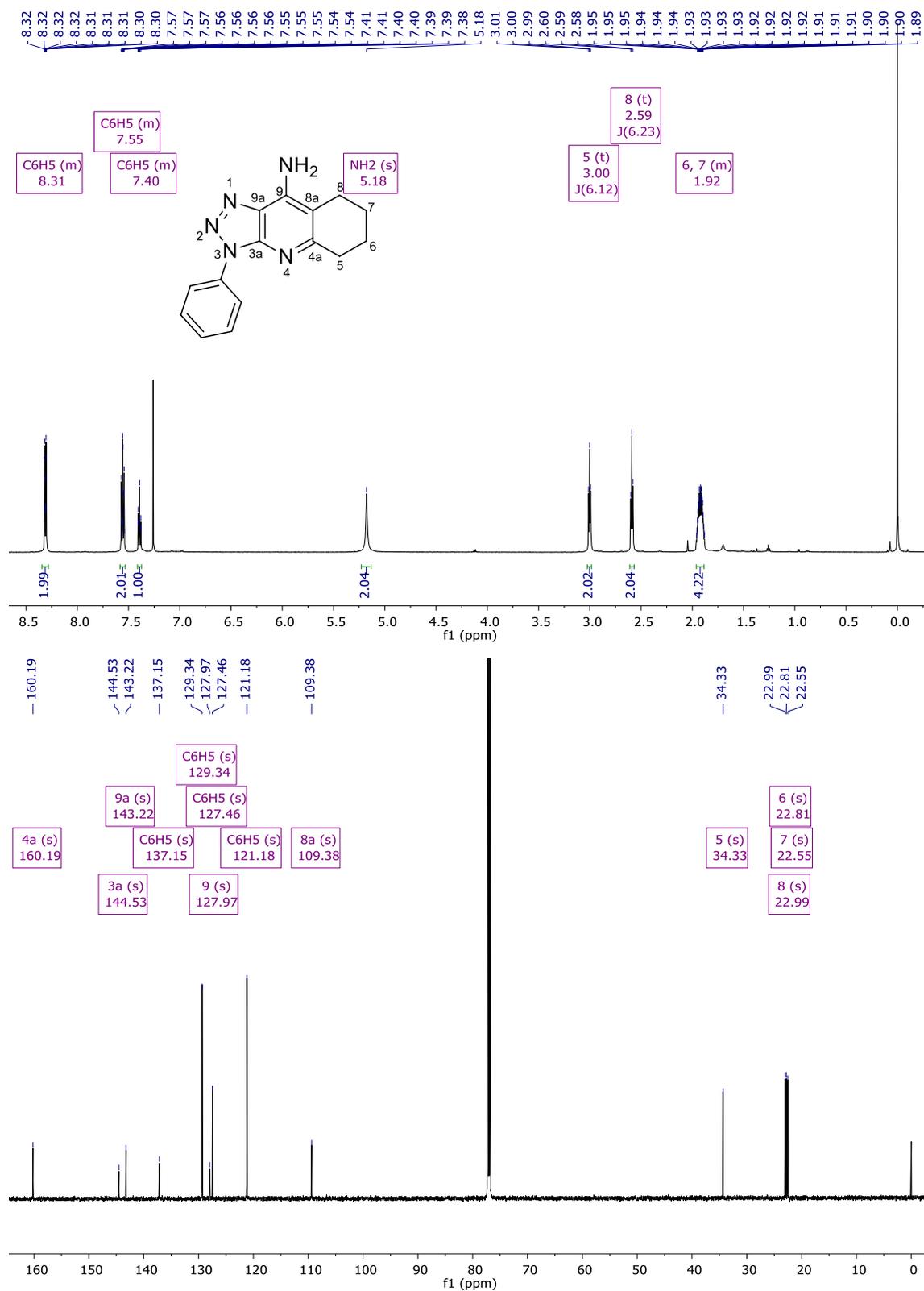
Figura 94 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15da**, registrados em CDCl_3 

Figura 95 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15ea**, registrados em CDCl_3

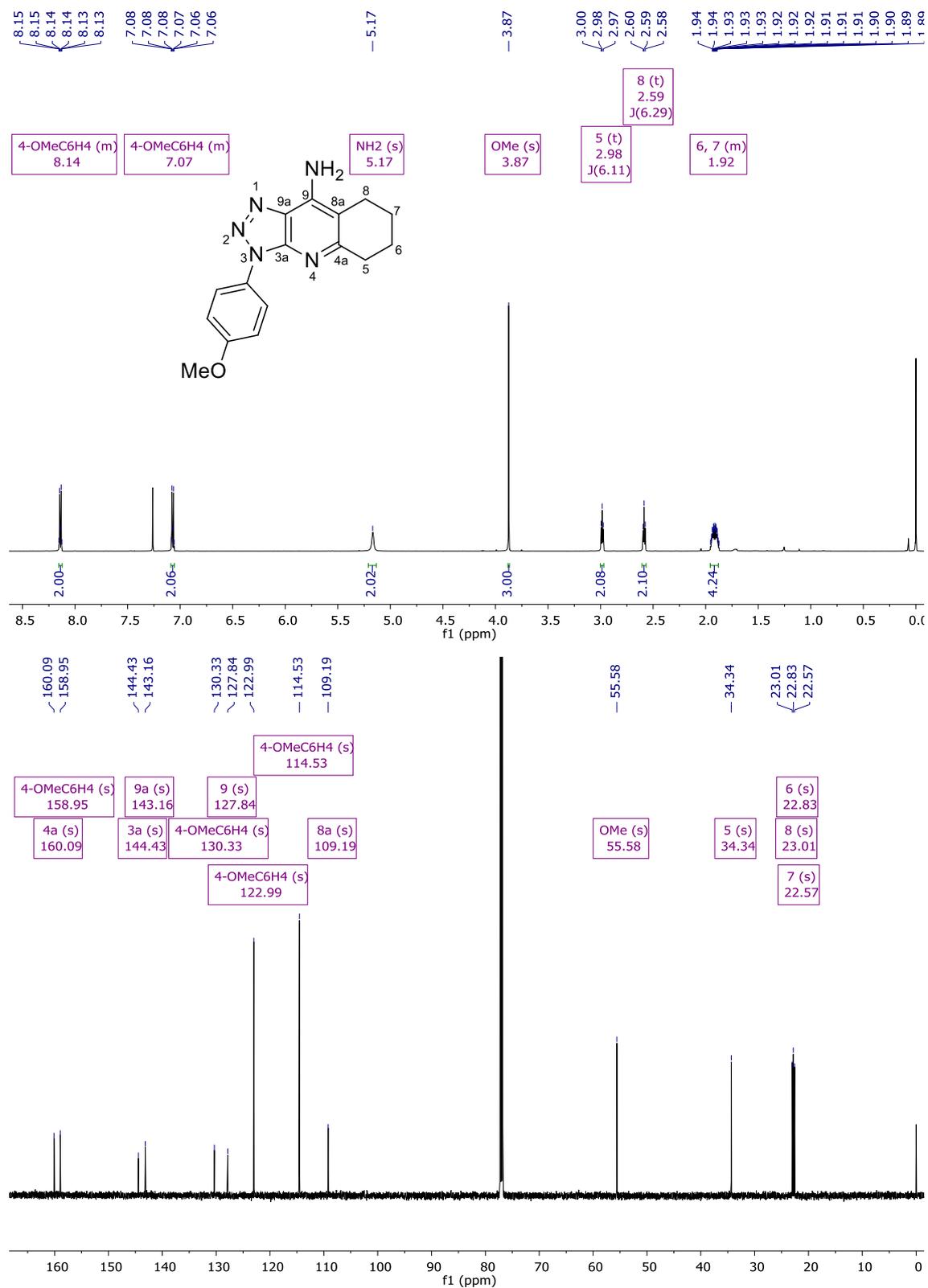


Figura 96 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15fa**, registrados em CDCl_3 

Figura 97 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15ga**, registrados em CDCl_3



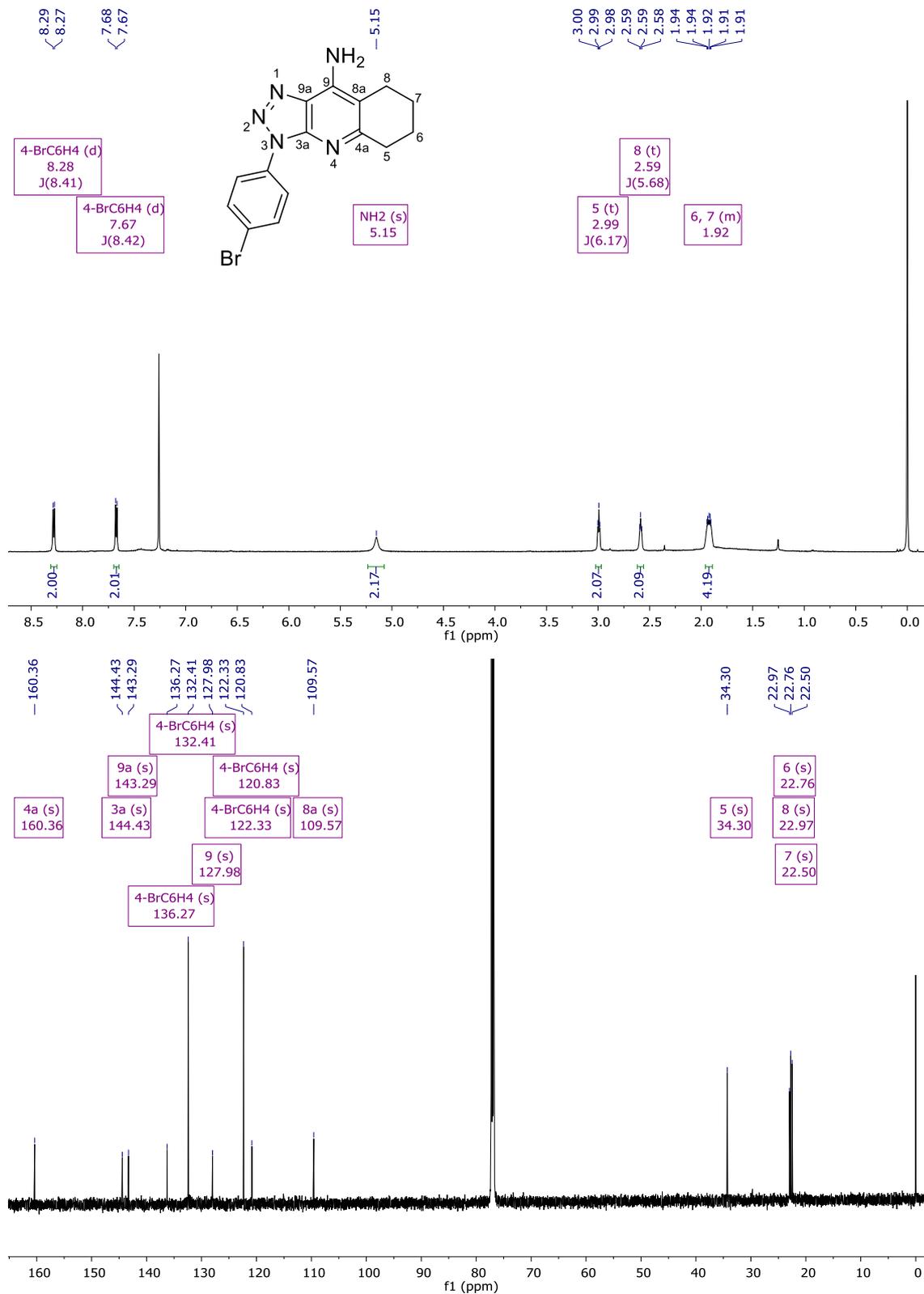
Figura 98 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **15ha**, registrados em CDCl_3 

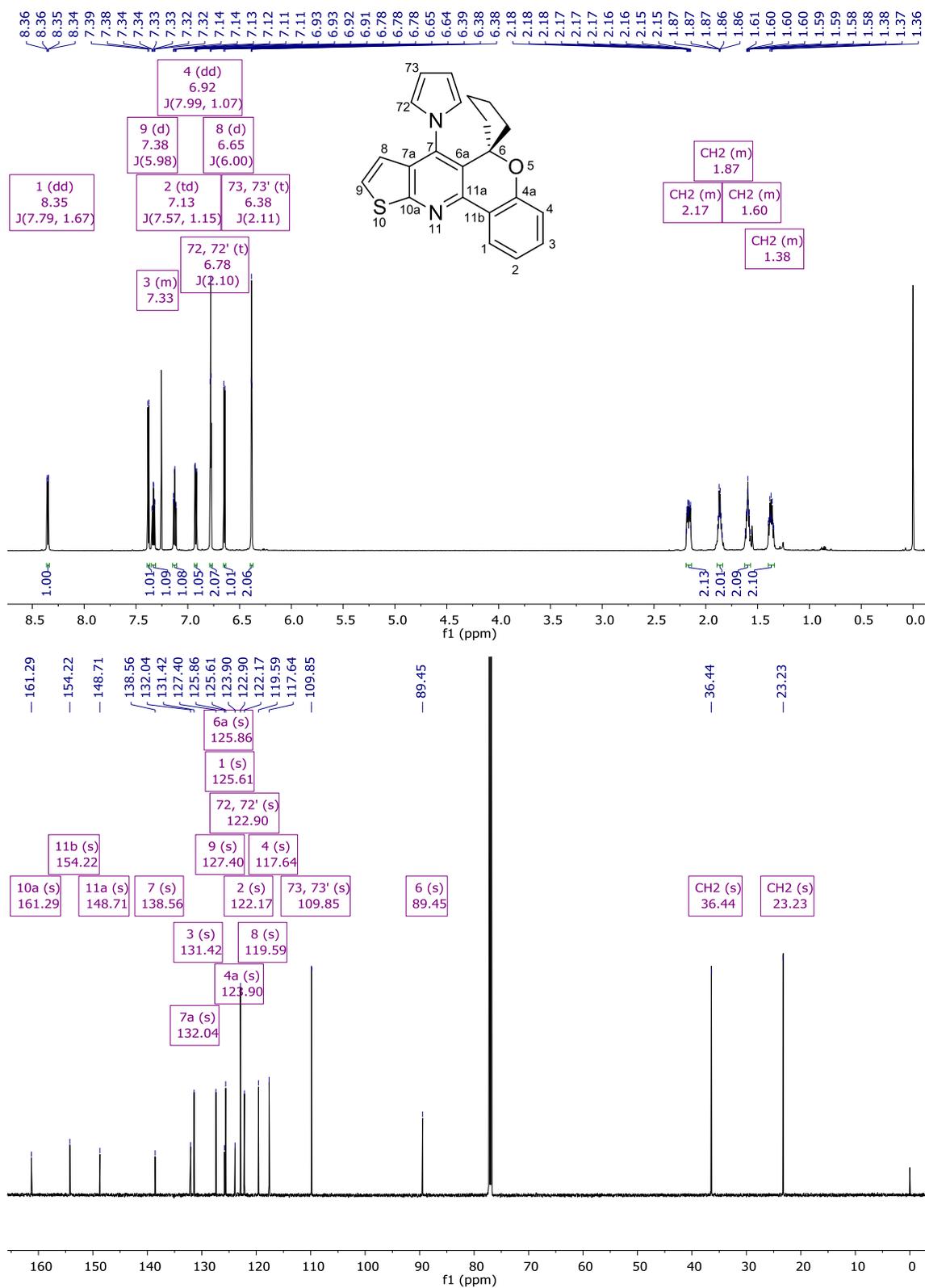
Figura 99 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17aa**, registrados em CDCl_3 

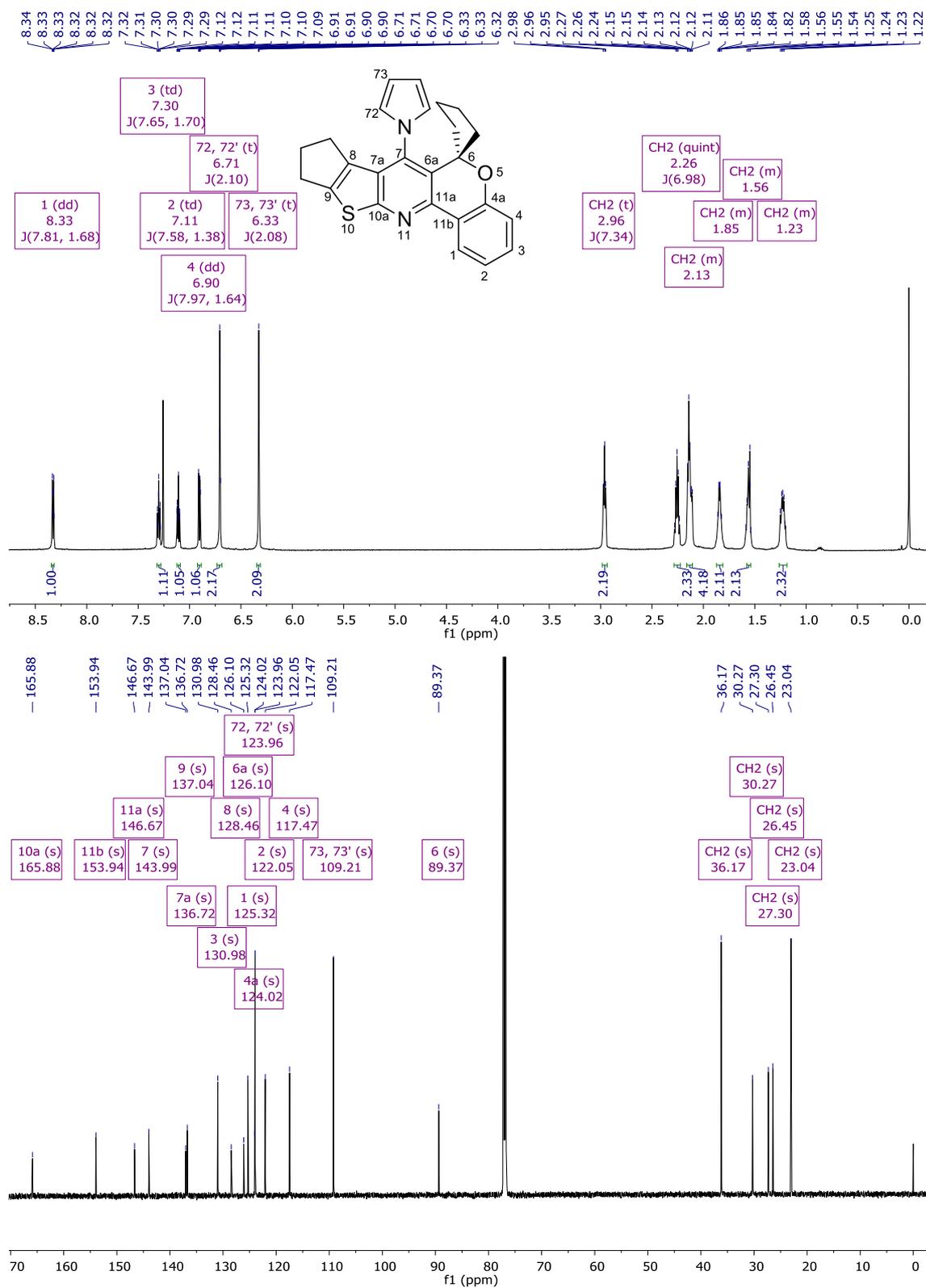
Figura 100 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17ab**, registrados em CDCl_3 

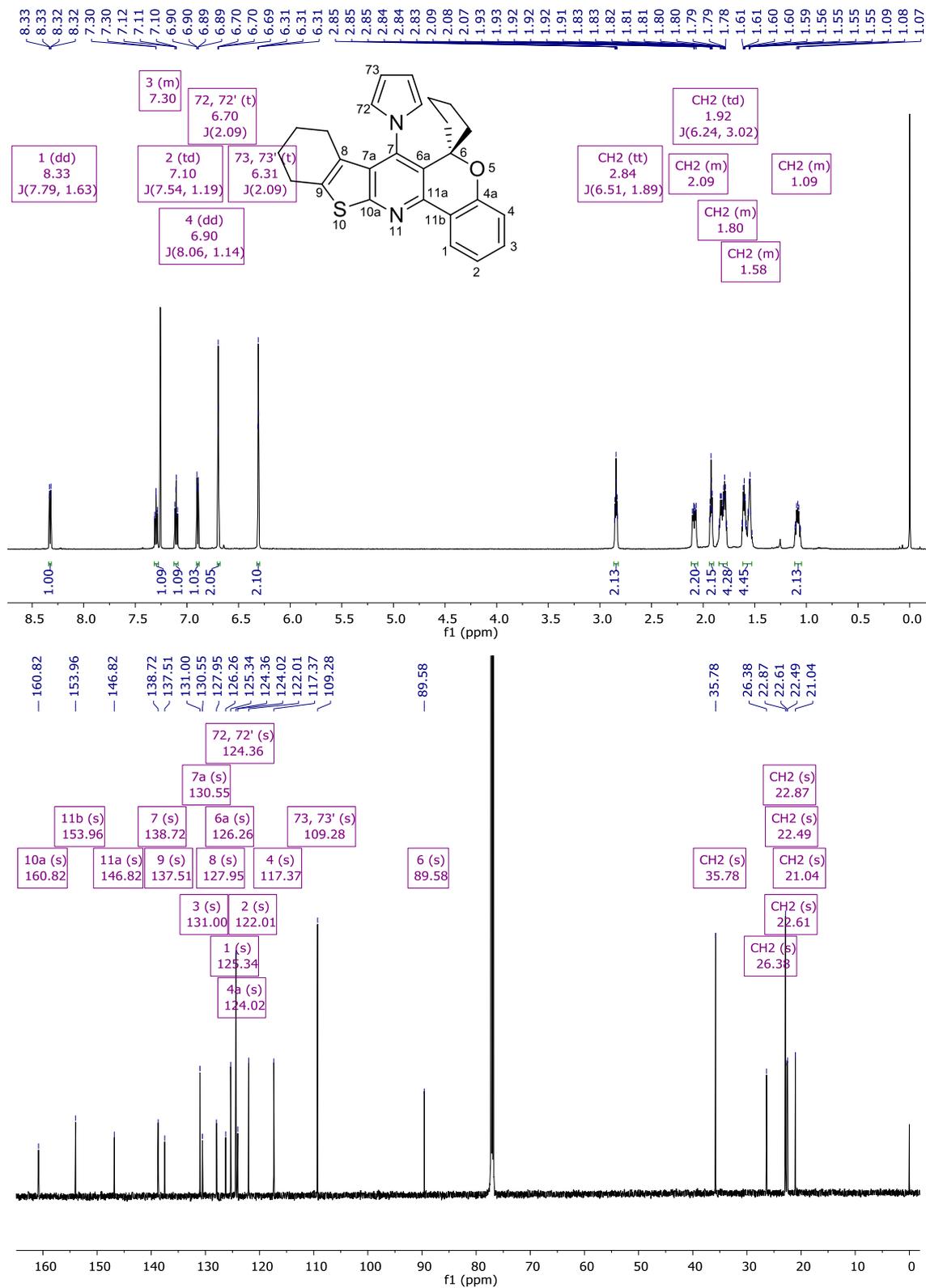
Figura 101 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17ac**, registrados em CDCl_3 

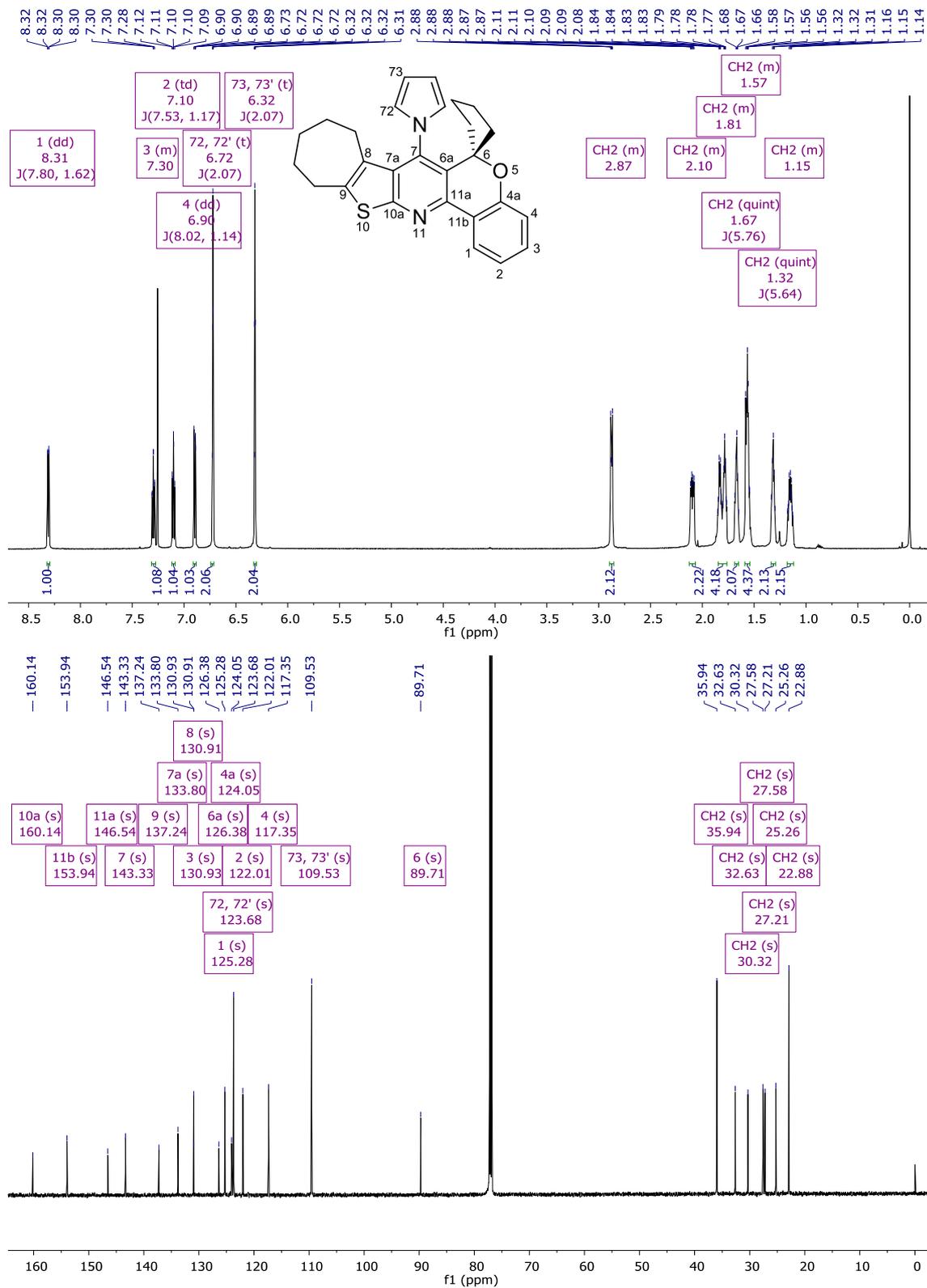
Figura 102 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17ad**, registrados em CDCl_3 

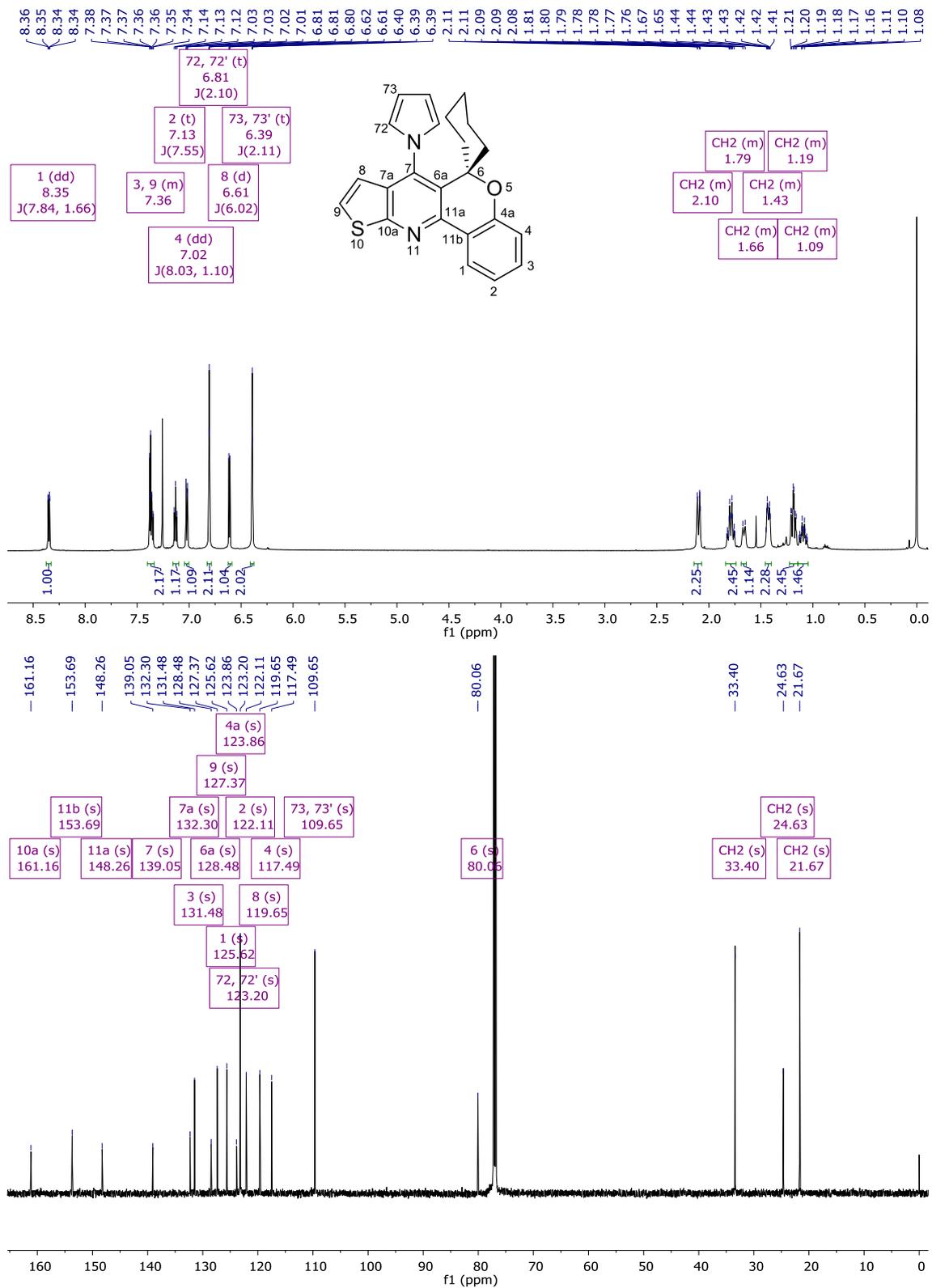
Figura 103 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17ba**, registrados em CDCl_3 

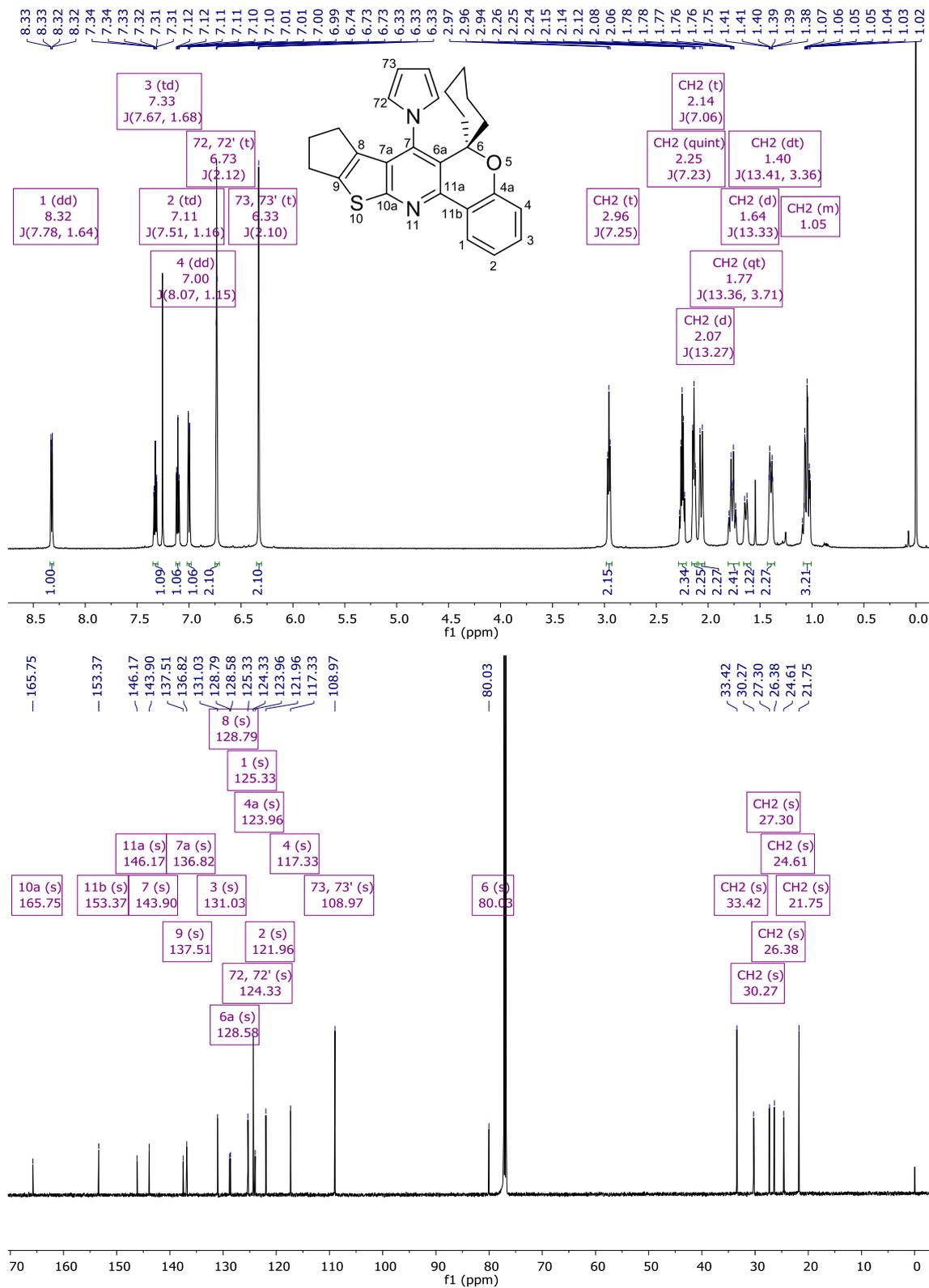
Figura 104 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17bb**, registrados em CDCl_3 

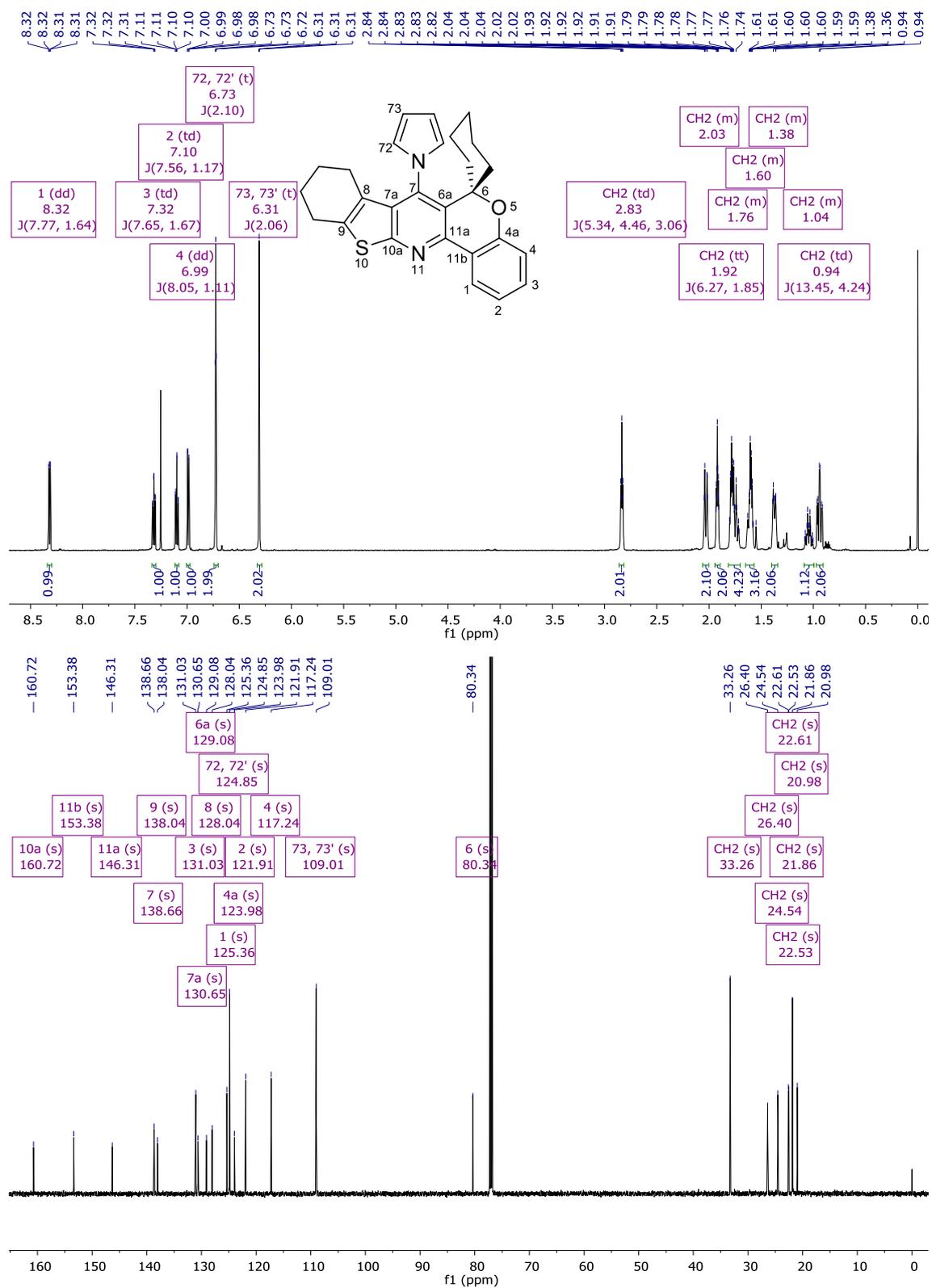
Figura 105 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17bc**, registrados em CDCl_3 

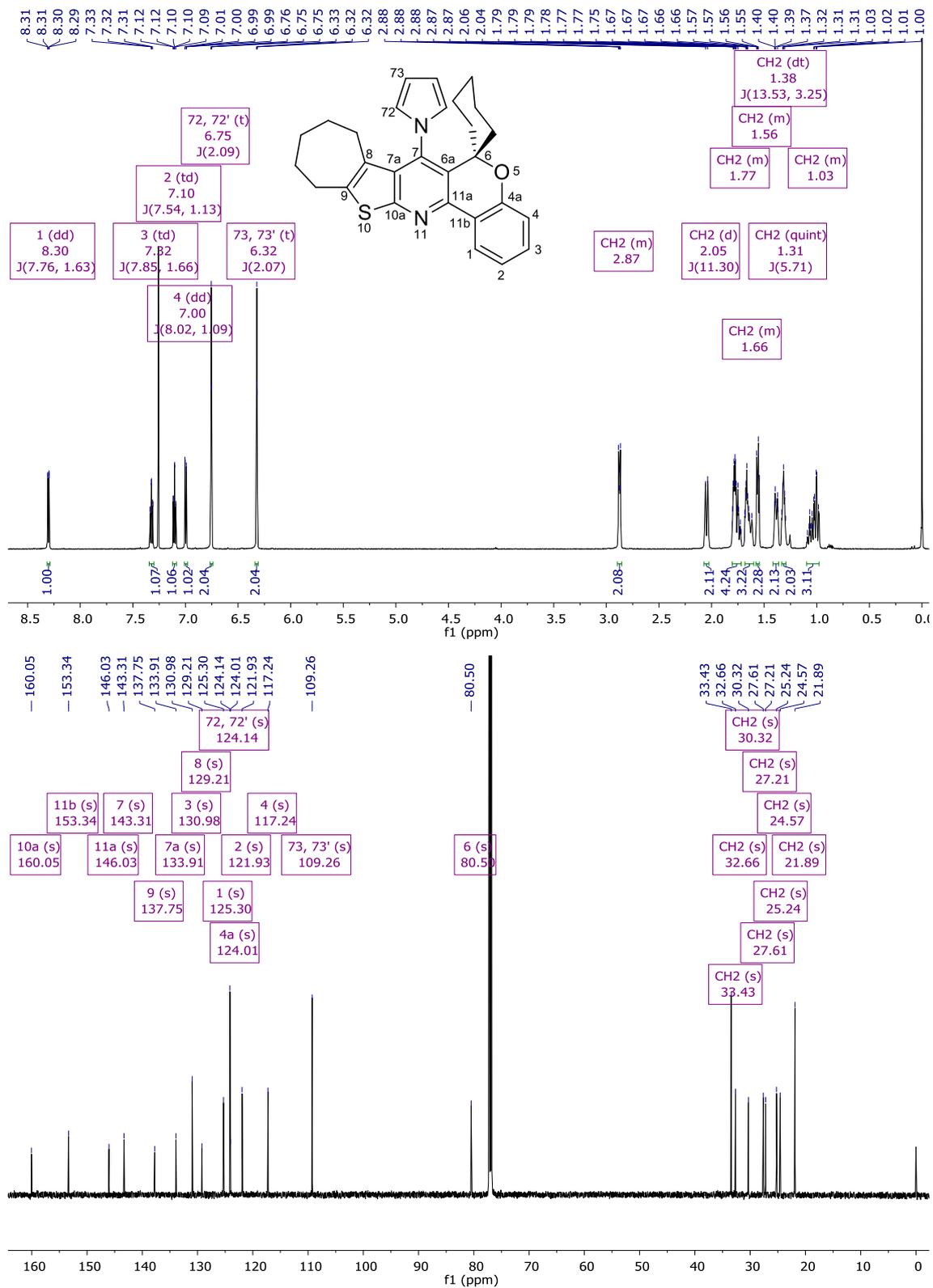
Figura 106 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17bd**, registrados em CDCl_3 

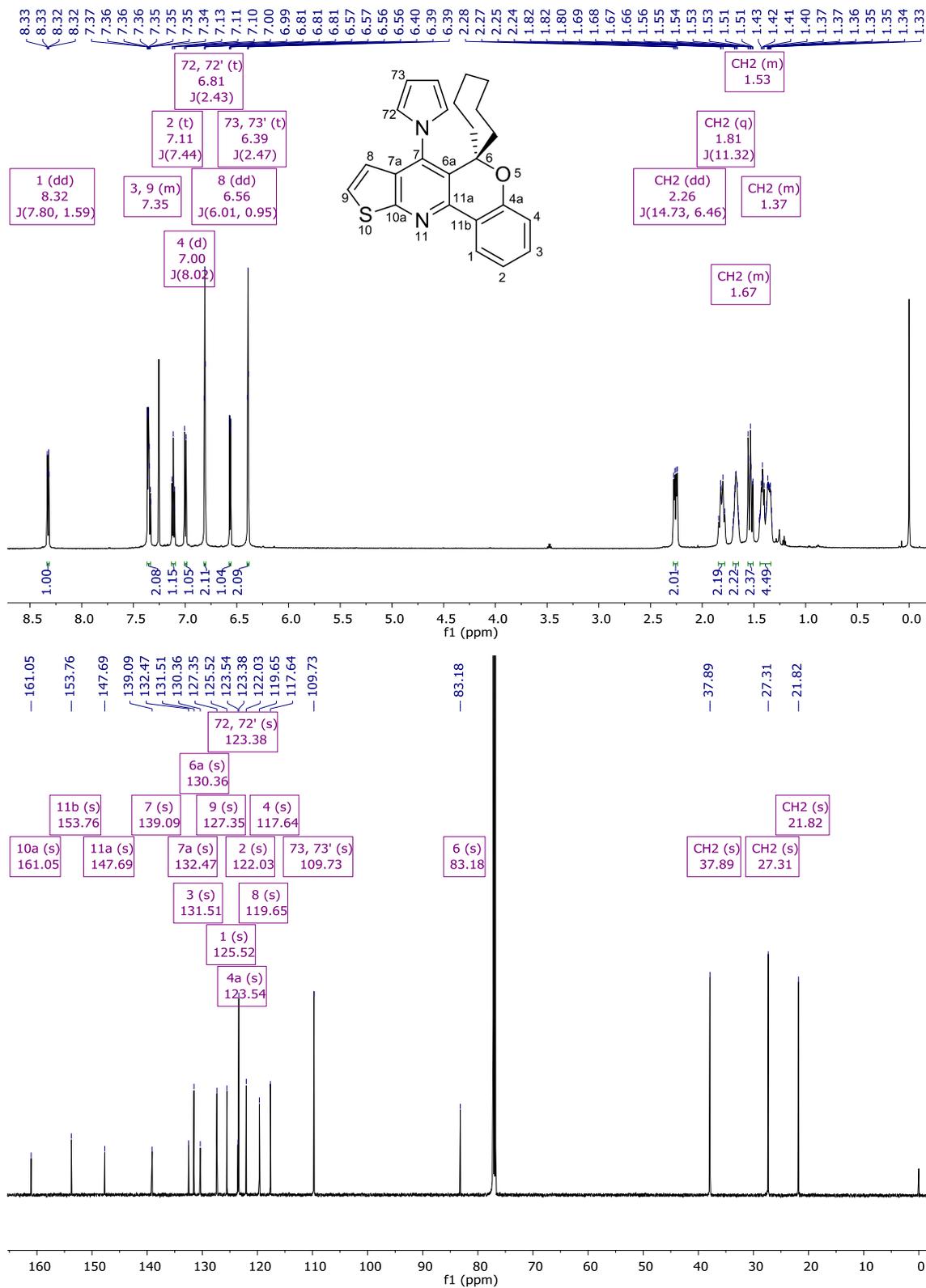
Figura 107 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17ca**, registrados em CDCl_3 

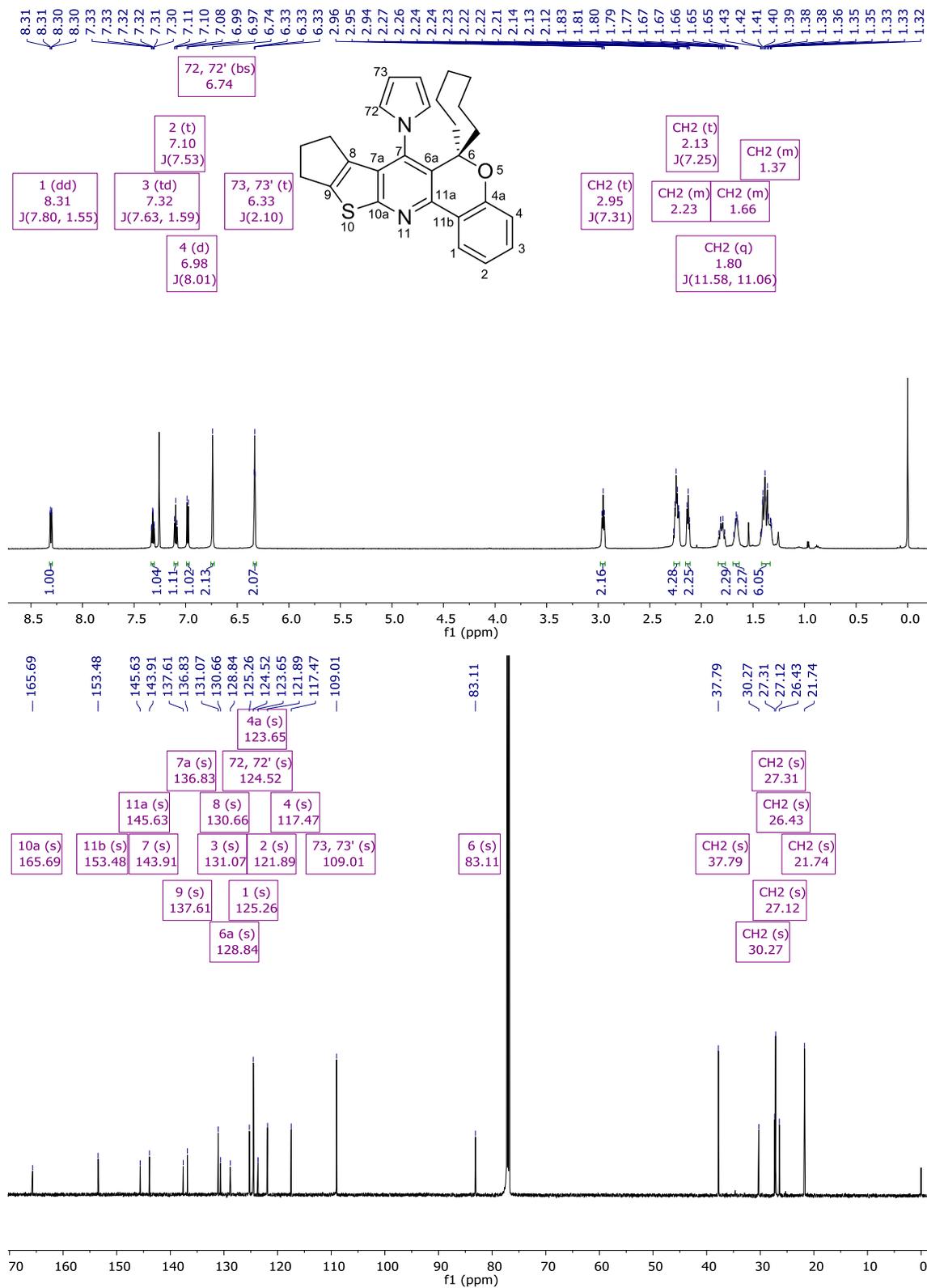
Figura 108 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17cb**, registrados em CDCl_3 

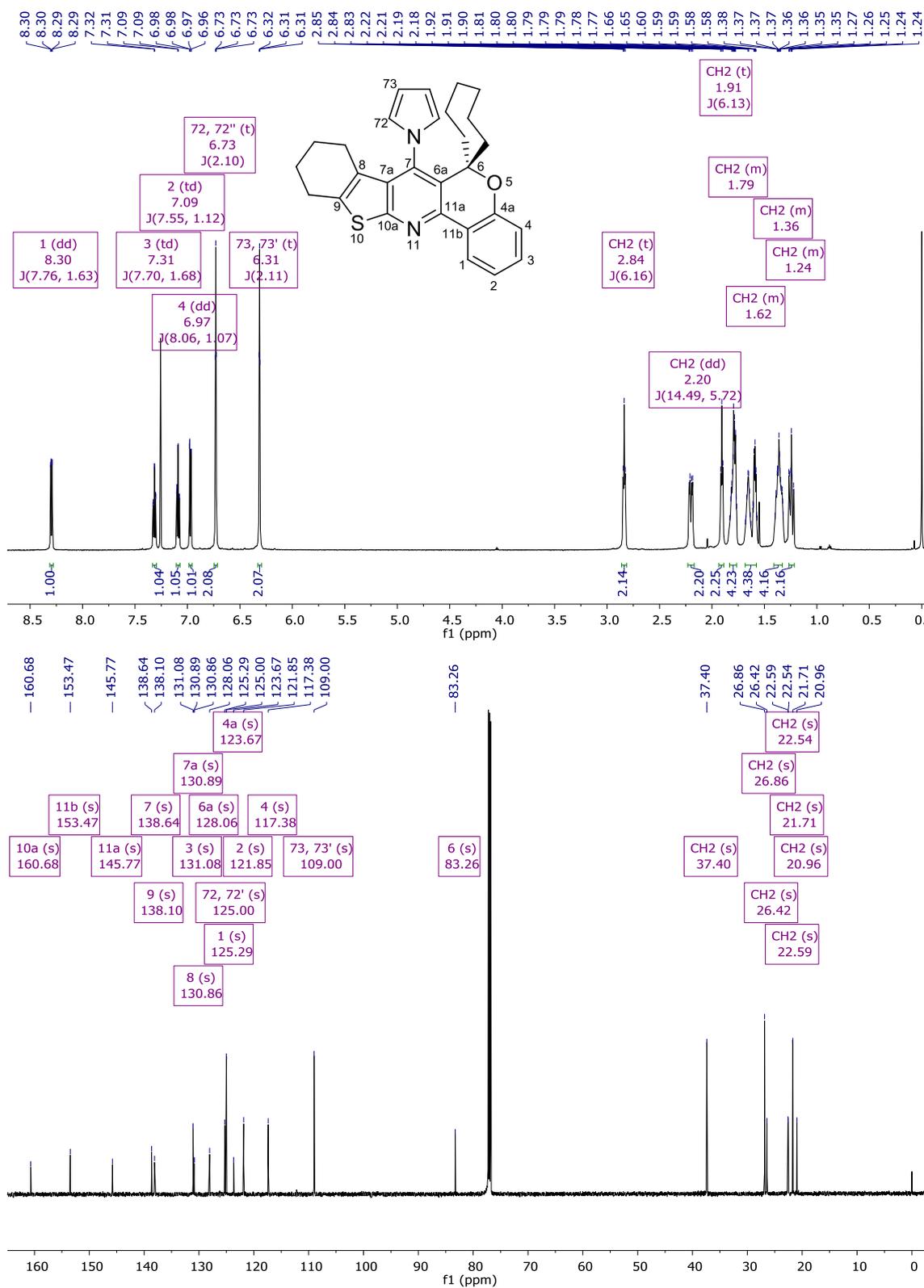
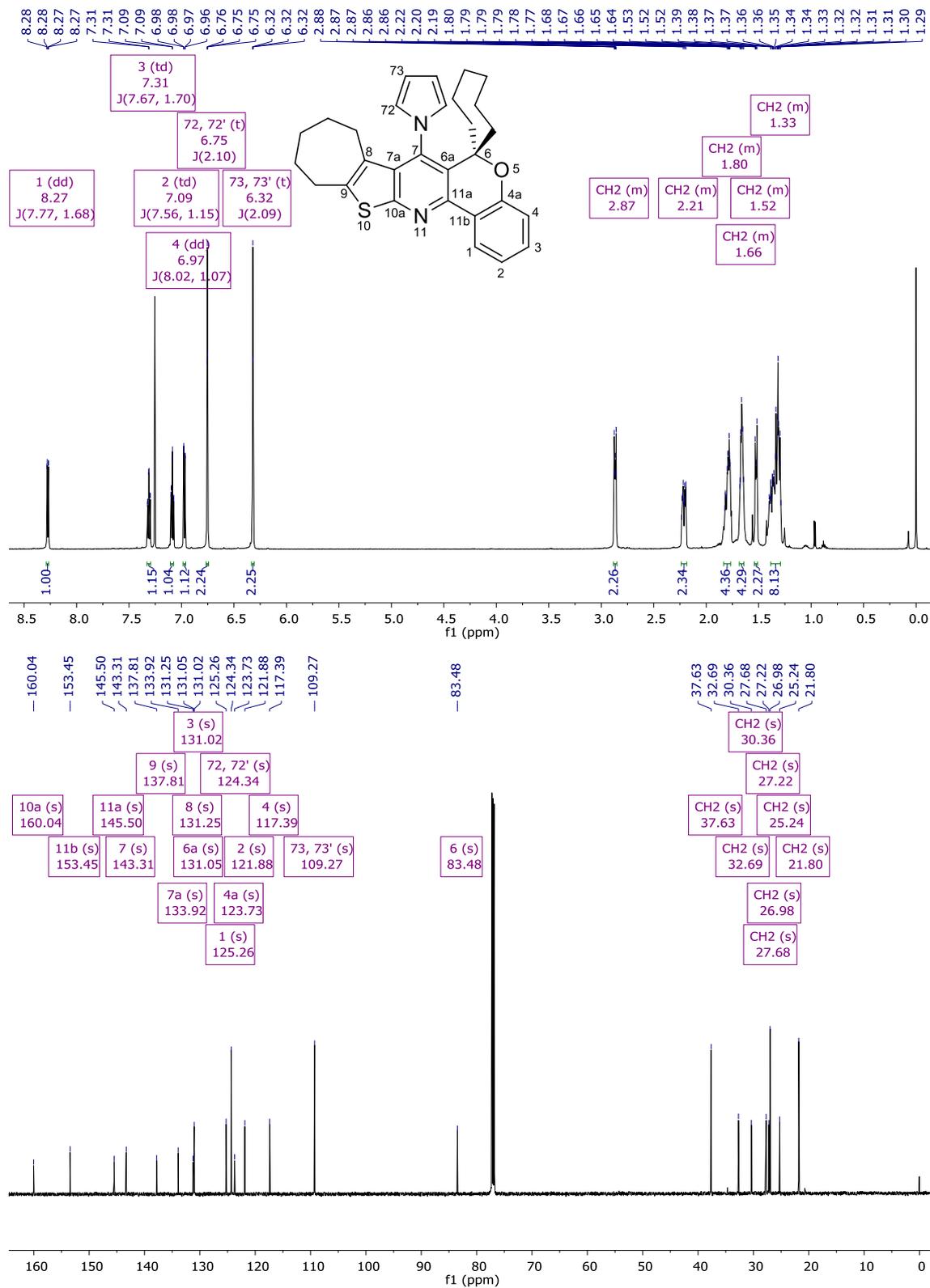
Figura 109 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17cc**, registrados em CDCl_3 

Figura 110 - Espectro RMN ^1H à 600 MHz e RMN ^{13}C à 150 MHz do composto **17cd**, registrados em CDCl_3 

8.2 DADOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X PARA O COMPOSTO 8ba

checkCIF/PLATON report

You have not supplied any structure factors. As a result the full set of tests cannot be run.

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. [CIF dictionary](#) [Interpreting this report](#)

Datablock: shelx

Bond precision:	C-C = 0.0028 A	Wavelength=1.54178	
Cell:	a=11.883 (2)	b=12.051 (2)	c=11.513 (3)
	alpha=90	beta=103.504 (11)	gamma=90
Temperature:	296 K		
	Calculated	Reported	
Volume	1603.1 (6)	1603.2 (6)	
Space group	P 21/c	P 21/c	
Hall group	-P 2ybc	-P 2ybc	
Moiety formula	C19 H18 N2 O S	C19 H18 N2 O S	
Sum formula	C19 H18 N2 O S	C19 H18 N2 O S	
Mr	322.41	322.41	
Dx, g cm-3	1.336	1.336	
Z	4	4	
Mu _j (mm-1)	1.831	1.831	
F000	680.0	680.0	
F000'	683.05		
h, k, lmax	14, 14, 13	14, 14, 13	
Nref	2940	2837	
Tmin, Tmax	0.479, 0.628	0.635, 0.753	
Tmin'	0.421		

Correction method= # Reported T Limits: Tmin=0.635 Tmax=0.753
AbsCorr = MULTI-SCAN

Data completeness= 0.965 Theta(max)= 68.334

R(reflections)= 0.0420 (2523) wR2(reflections)= 0.1177 (2837)

S = 1.076 Npar= 216

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format
test-name_ALERT_alert-type_alert-level.
Click on the hyperlinks for more details of the test.

8.4 DADOS DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X PARA O COMPOSTO 17ba

checkCIF/PLATON report

You have not supplied any structure factors. As a result the full set of tests cannot be run.

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. [CIF dictionary](#) [Interpreting this report](#)

Datablock: shelx

Bond precision: C-C = 0.0026 A Wavelength=1.54178

Cell: a=11.945(4) b=11.911(3) c=13.372(3)
 alpha=90 beta=104.609(8) gamma=90

Temperature: 296 K

	Calculated	Reported
Volume	1841.0(9)	1841.1(8)
Space group	P 21/n	P 21/n
Hall group	-P 2yn	-P 2yn
Moiety formula	C23 H20 N2 O S	C23 H20 N2 O1 S1
Sum formula	C23 H20 N2 O S	C23 H20 N2 O S
Mr	372.47	372.47
Dx, g cm-3	1.344	1.344
Z	4	4
Mu (mm-1)	1.673	1.673
F000	784.0	784.0
F000'	787.33	
h,k,lmax	14,14,16	14,14,16
Nref	3374	3279
Tmin,Tmax	0.703,0.751	0.663,0.753
Tmin'	0.537	

Correction method= # Reported T Limits: Tmin=0.663 Tmax=0.753
 AbsCorr = MULTI-SCAN

Data completeness= 0.972 Theta(max)= 68.296

R(reflections)= 0.0380(2744) wR2(reflections)= 0.0993(3279)

S = 1.074 Npar= 244

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format
test-name ALERT alert-type alert-level.
 Click on the hyperlinks for more details of the test.

9 PUBLICAÇÕES

Journal of Molecular Structure 1266 (2022) 133485



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Molecular Structure

journal homepage: www.elsevier.com/locate/molstr

Design, synthesis, AChE/BChE inhibitory activity, and molecular docking of spiro[chromeno[4,3-*b*]thieno[3,2-*e*]pyridine]-7-amine tacrine hybrids



Yuri G. Kappenberg^a, Pablo A. Nogara^b, Felipe S. Stefanello^a, Luís H. Moretto^a,
 Patrícia M. Santos^b, João B.T. Rocha^b, Nilo Zanatta^a, Marcos A.P. Martins^a,
 Helio G. Bonacorso^{a,*}

^a Núcleo de Química de Heterocidos (NUQUIMHE), Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil

^b Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 25 March 2022

Revised 6 June 2022

Accepted 7 June 2022

Available online 8 June 2022

Keywords:

Tacrine analogues

Thienopyridines

Spirochromene

Cholinesterase inhibition

Molecular docking

ABSTRACT

A new series of 12 examples of spiro[chromeno[4,3-*b*]thieno[3,2-*e*]pyridine]-7-amines tacrine hybrids (**3**) were designed and synthesized as cholinesterase inhibitors. These new compounds were synthesized at 20–33% yields by a one-pot two-step cyclocondensation reaction of 2-aminothiophene-3-carbonitriles (**1**) with spiro[chroman-2,10-cycloalkan]-4-ones (**2**) using AlCl₃ as the catalyst without solvent and under conventional thermal heating. Subsequently, these new tacrine hybrids were subjected to AChE and BChE inhibitory activity evaluation and molecular docking studies. *In vitro* cholinesterase assays and *in silico* docking indicated that all new tacrine analogs **3** were not AChE inhibitors. However, the molecules without a carbocyclic moiety geminated to the thiophene ring, i.e., spiro scaffolds that originated from cyclopentanone (**3aa**), cyclohexanone (**3ba**), and cycloheptanone (**3ca**) showed the highest inhibitory potency against the BChE enzyme, thereby proving to be promising candidates for evaluation in Alzheimer's disease synthetic models.

© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is an age-related neurodegenerative disease resulting in a decline in language skills, memory loss, and cognitive functions accompanied by depression and behavioral disorders. [1–4] One of the major pathogenesis related to AD is synaptic acetylcholine (ACh) deficiency, where acetylcholinesterase (AChE) is the enzyme responsible for its degradation. [1] Thus, AChE inhibition has been the most conventional strategy to clinically treat AD, [1] as well as butyrylcholinesterase (BChE) inhibition due to both being responsible for affecting cholinergic neurotransmission. [1,3,4]

Tacrine (9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridine or Tha) is a reversible AChE and BChE inhibitor responsible for restoring neurotransmitter deficits at the beginning of the neurodegenerative process [2] that has shown a pharmacological profile much broader than AChE inhibition, [3,5] although its use has been restricted given its hepatotoxicity and gastrointestinal disorders. [2,3,6]

Due to its reliable anti-AChE activity, low molecular weight, neurotoxicity attenuating potential, high synthetic accessibility, and the possibility of structural modification, Tha has become a prominent research topic. Efforts have focused on synthesizing its derivatives to treat AD [1–3] using AChE, as this substance has good resistance to possible structural changes, making it an interesting compound to develop new multifunctional structures. In fact, its mechanisms produce therapeutic effects with less or no hepatotoxicity in order to act on multiple neural and biochemical targets, cognitive impairment effects, motor dysfunction, depression, and neurodegeneration. [1,7]

Hence, modifying the Tha core structure has been frequently used to find new compounds with high anti-ChE potency and acceptable toxic safety. This has aimed to develop, synthesize, and evaluate new molecules with beneficial effects in AD treatment, including AChE inhibitors and anti-inflammatory properties, which are structurally designed based on the bioisosteric relationship of new Tha analogues, increasing the effectiveness of drugs and reducing their side effects. [1,8] Several of these modifications concern the benzene ring in Tha, including increasing the number of condensed rings, modifying their size, and introducing heteroatoms, [9] replacing or canceling effects with dif-

* Corresponding author.

E-mail address: helio.bonacorso@ufsm.br (H.G. Bonacorso).

1,2,3-Triazolo[4,5-*b*]aminoquinolines: Design, Synthesis, Structure, AChE/BChE Inhibitory Activity, and Molecular Docking of Novel Modified Tacrines

Yuri G. Kappenberg,^a Pablo A. Nogara,^{b,c} Felipe S. Stefanello,^a Cássia P. Delgado,^b João B. T. Rocha,^b Nilo Zanatta,^a Marcos A. P. Martins,^a and Helio G. Bonacorso*^a

^a*Núcleo de Química de Heterociclos (NUQUIMHE), Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 – Santa Maria, RS – Brazil.*

^b*Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 - Santa Maria, RS, Brazil.*

^c*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense (IFSul), CEP 96418-400 - Bagé, RS, Brazil.*

Abstract

An efficient [4+2] cyclization protocol for the synthesis of a series of twelve examples of 1,2,3-triazolo[4,5-*b*]aminoquinolines (**5**), as a novel structurally modified tacrine, have been developed from readily accessible precursors, i.e., 3-alky(aryl)-5-amino-1,2,3-triazole-4-carbonitriles (**3**) and selected cycloalkanones (**4**) (five-, six- and seven-membered rings). The novel tacrine hybrids were subjected to AChE and BChE inhibitory activity evaluation. The compounds derivatives from cyclohexanone (**4b**) showed the best AChE and BChE inhibitory activities. Specifically, tacrine **5bb** obtained from 3-methyl-carbonitrile (**3b**) showed the highest AChE (IC₅₀ = 12.01 μM), while that **5ib** derivative from 3-sulfonamido-carbonitrile (**3i**) was the most inhibitor for BChE (IC₅₀ = 1.78 μM). In general, the inhibitory potency of compounds **5** was weaker than that pure tacrine reference. The findings noticed herein may help in the design and development of novel anticholinesterase drugs based on tacrine hybrids.

Keywords: *Tacrine analogues; 1,2,3-Triazoles, Triazolopyridines; Cholinesterase inhibition; Molecular docking.*

*Corresponding author: e-mail: helio.bonacorso@ufsm.br (H.G. Bonacorso).