



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

GIOVANA DA SILVA RAMOS

**HÍBRIDOS MOLECULARES DERIVADOS DO SCYLLO-
INOSITOL COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA
AGREGAÇÃO DO PEPTÍDEO B-AMILOIDE**

Londrina
2020

GIOVANA DA SILVA RAMOS

**HÍBRIDOS MOLECULARES DERIVADOS DO SCYLLO-
INOSITOL COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA
AGREGAÇÃO DO PEPTÍDEO B-AMILOIDE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química pelo Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Anna Paola Butera.
Co-orientador: Prof. Dr. Fernando C. de Macedo Jr.

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

R175h Ramos, Giovana da Silva.

Híbridos moleculares derivados do *scyllo*-inositol como potenciais inibidores da agregação do peptídeo B-amiloide / Giovana da Silva Ramos. - Londrina, 2020.
56 f. : il.

Orientador: Anna Paola Butera.

Coorientador: Fernando Cesar de Macedo Júnior.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, 2020.

Inclui bibliografia.

1. Alzheimer - Tese. 2. Scyllo-inositol - Tese. 3. Curcumina - Tese. 4. Ácido Ferúlico - Tese. I. Butera, Anna Paola. II. Macedo Júnior, Fernando Cesar de. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU 54

GIOVANA DA SILVA RAMOS

**HÍBRIDOS MOLECULARES DERIVADOS DO *scyllo*-INOSITOL
COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA AGREGAÇÃO DO PEPTÍDEO
 β -AMILOIDE**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química pelo Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Anna Paola Butera.
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Renato Márcio Ribeiro Viana
Universidade Tecnológica Federal do Paraná -
UTFPR

Prof^a. Dr^a. Marcelle de Lima Ferreira Bispo
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 18 de fevereiro de 2020.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à CAPES pela bolsa de estudos fornecida e ao Programa de Mestrado em Química da UEL. Algumas análises contidas neste trabalho foram realizadas através da colaboração de laboratórios e funcionários responsáveis. As análises por HPLC foram realizadas graças à contribuição do Dr. Jurandir Pereira Pinto no LPMBA e as análises por RMN foram realizadas no LABSPEC.

Aos membros da banca: Prof^a. Dr^a. Marcelle Bispo, Prof^a. Dr^a. Carla Perez e Prof. Dr. Renato Márcio Ribeiro Viana por prontamente aceitarem participar da avaliação deste trabalho. Obrigada por doarem seu tempo e contribuírem com seu conhecimento.

Aos meus orientadores, Prof^a. Dr^a. Anna Paola Butera e Prof. Dr. Fernando Macedo por me guiarem no começo dessa trajetória. Em especial agradeço à Profa. Anna Paola pelo constante acompanhamento durante o andar desse projeto e mais que isso, agradeço pelas orientações concedidas em todos os momentos.

Não poderia deixar de agradecer aos meus colegas de laboratório, que tornaram meu mestrado esta experiência incrível. Priscila Carvalho, vulgo D. Priscilinha, obrigada por ser uma mãe de laboratório tão ótima, sempre cuidando de nós, nos dando umas chamadas de atenção quando necessário e por cima de tudo, sendo uma ótima amiga. João Zimmerman, Jhones, obrigada por ser meu amigo e companheiro no lab. Fabrício Santos, Vini Mauri, por me auxiliar tanto na bancada e sempre estar de bom humor mesmo quando as coisas davam errado. Victor Kemmer e Adson Lemos pela companhia no laboratório em todos os momentos.

Aos meus amigos, que mesmo nem sempre perto, me auxiliaram de uma forma ou de outra nesse trabalho. Isabela Naomi, sempre presente em minha vida, obrigada por ser minha irmã de mãe diferente e estar ao meu lado em todas as situações. José Aleixo, obrigada por mesmo longe torcer por mim e acreditar no meu sucesso. Maria Almeida, companheira de carreira acadêmica que sempre teve ótimos conselhos para dar.

À minha família. Meus pais, Eugênio e Ivanilde, por sempre me darem do melhor e me incentivarem em todos os momentos, sempre me lembrando que eu sou capaz. Meus irmãos, Gustavo e Guilherme, por sempre estarem disponíveis

quando precisei, sempre sendo meus apoios nos momentos difíceis e os melhores irmãos que eu poderia pedir.

Enfim, a todos que me apoiaram de alguma forma neste trabalho, obrigada.

“Se eu esperar o pior, não importa o que aconteça na minha vida, eu vou viver uma vida ruim, de sofrimento e desespero. Mas se eu acreditar que tudo vai ficar bem, então, não importa como acaba, porque eu vou ter vivido uma vida melhor apenas por acreditar no melhor.”

O Mercador de Sonhos (Morserus)
(Schweitzer, M. M.)

RAMOS, Giovana da Silva. **Híbridos moleculares derivados do scyllo-inositol como potenciais inibidores da agregação do peptídeo β -amilóide**. 2020. 70 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2020.

RESUMO

O Alzheimer é uma doença neurodegenerativa, multifatorial, de etiologia ainda não conhecida. Apesar disto, sabe-se que o acúmulo e agregação do peptídeo β -amilóide ($A\beta$) no tecido cerebral possui um papel fundamental no progresso da doença. Nas últimas décadas, na busca por uma terapia curativa para o Alzheimer, substâncias capazes de inibir a agregação de $A\beta$ foram identificadas e avaliadas. Dentre estas, o ácido ferúlico, a curcumina e o *scyllo*-inositol foram descritos como inibidores de agregação de $A\beta$. No sentido de contribuir para a identificação de um inibidor da agregação de $A\beta$ com propriedades otimizadas, desenvolveu-se, no contexto do presente trabalho, a síntese de híbridos do *scyllo*-inositol com a curcumina e com o ácido ferúlico. De acordo com a rota sintética proposta, partiu-se do *myo*-inositol para obtenção do DL-1,4,5,6-tetra-*O*-benzil-*myo*-inositol, um precursor-chave para preparação dos híbridos planejados. A partir deste diol e dos ácidos bromo- ou cloroacético, nas condições da reação de Mitsunobu, esperava-se obter α -halo ésteres derivados do *scyllo*-inositol, precursores de híbridos da curcumina. Entretanto, o uso da reação de Mitsunobu para derivatização e inversão do centro estereogênico do diol se mostrou eficaz apenas para a reação com o ácido cloroacético e obtenção do derivado α -cloroacetato. A remoção dos grupos benzila protetores, em presença de bromato de sódio e ditionito de sódio, conduziu à formação do derivado que foi submetido à reação de alquilação da curcumina. No entanto, o híbrido esperado não foi obtido. Adversamente, as condições empregadas (carbonato de potássio em *N,N*-dimetilformamida), favoreceram a hidrólise do grupo éster do derivado inositol, em lugar da alquilação da hidroxila fenólica da curcumina. Por outro lado, a reação entre o DL-1,4,5,6-tetra-*O*-benzil-*myo*-inositol e o ácido ferúlico, empregando-se as condições de Mitsunobu, permitiu a obtenção do híbrido (*scyllo*-inositol benzilado)-ácido ferúlico, que foi caracterizado por análise dos seus espectros de RMN. Espera-se a obtenção do híbrido planejado após etapa de desbenzilação oxidativa. O híbrido (*scyllo*-inositol)-ácido ferúlico será avaliado quanto ao seu potencial de inibir a formação de fibrilas de $A\beta$, utilizando-se microscopia eletrônica.

Palavras-chave: Alzheimer. *Scyllo*-inositol. Curcumina. Ácido ferúlico. Reação de Mitsunobu.

RAMOS, Giovana da Silva. **Híbridos moleculares derivados do scyllo-inositol como potenciais inibidores da agregação do peptídeo β -amiloide**. 2019. 70 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

Alzheimer is neurodegenerative disease, multifactorial and its etiology is still not known. Despite that, it is known that the accumulation and aggregation of amyloid- β ($A\beta$) in the brain tissue has a crucial in the disease's progression. In the last decades, during the search for Alzheimer treatments, some molecules were identified and evaluated as capable of inhibit the $A\beta$ aggregation. Ferulic acid, curcumin and *scyllo*-inositol were reported as inhibitors of $A\beta$ aggregation. In order to contribute to the identification of an optimized $A\beta$ aggregation inhibitor, the synthesis of *scyllo*-inositol hybrids with curcumin and ferulic acid was developed, in the context of the present work. According to the proposed synthetic route, from the *myo*-inositol the DL-1,4,5,6-tetra-O-benzyl-*myo*-inositol, a key precursor for preparing the planned hybrids, was obtained. From this diol and the bromo- or chloroacetic acids, under the Mitsunobu reaction conditions, α -halo esters derived from *scyllo*-inositol, precursors of curcumin hybrids, were expected. However, the use of the Mitsunobu reaction for derivatization and inversion of the diol stereogenic center was effective only for the reaction with chloroacetic acid to obtain the α -chloroacetate derivative. Removal of the benzyl protecting groups in the presence of sodium bromate and sodium dithionite led to the formation of the derivative which was subjected to the curcumin alkylation reaction. Nevertheless, the expected hybrid was not obtained. Instead, the conditions employed (N, N-dimethylformamide potassium carbonate) favored hydrolysis of the ester group of the inositolic derivative rather than alkylation of the phenolic hydroxyl of curcumin. On the other hand, the reaction between DL-1,4,5,6-tetra-O-benzyl-*myo*-inositol and ferulic acid, using Mitsunobu conditions, allowed to obtain the hybrid (benzylated *scyllo*-inositol)-ferulic acid, which was characterized by analysis of its NMR spectra. It is expected to obtain the planned hybrid after a oxidative debenzylation step. The hybrid (*scyllo*-inositol)-ferulic acid will be evaluated for its potential to inhibit $A\beta$ fibril formation using electron microscopy.

Key words: Alzheimer. *Scyllo*-inositol. Curcumin. Ferulic Acid. Mitsunobu reaction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

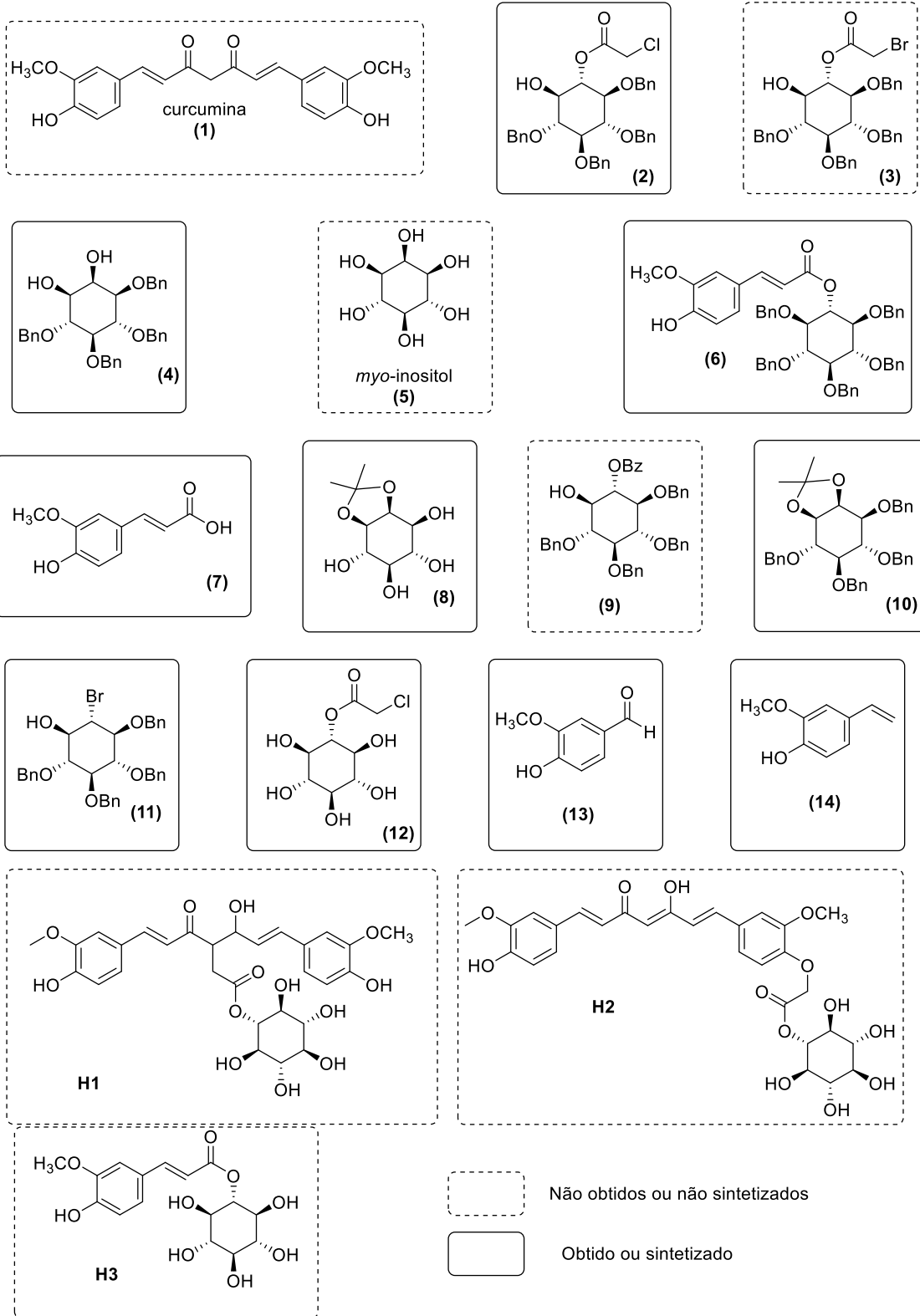
Figura 1	Neuropatologias do Alzheimer (Adaptado de Lashley et al 2018)	16
Figura 2	Papel das secretases na formação do peptídeo β -amiloide e suas consequências para o desenvolvimento do Alzheimer (Adaptado de Makin, 2018).	17
Figura 3	Processo de agregação do peptídeo β -amiloide – nomenclatura e solubilidade de cada estrutura formada ao longo do processo. ..	18
Figura 4	Fármacos atualmente disponíveis para o tratamento sintomático do Alzheimer: Tacrina, donepezil, galantamina e rivastigmina (inibidores de acetilcolinesterase); memantina (antagonista NMDA).	19
Figura 5	Inibidores de β -secretase.	20
Figura 6	Estruturas de inibidores da agregação do peptídeo $A\beta$	23
Figura 7	Estereoisômeros do inositol.	25
Figura 8	Derivados hidrossolúveis do ácido ferúlico com atividade inibitória da agregação de $A\beta$ reportados por Kikugawa et al., 2015.	26
Figura 9	Corantes utilizados no método de fluorescência para quantificar $A\beta$	21
Figura 10	Híbridos de resveratrol sintetizados por Saini et al., 2019 e Cheng et al., 2018.	28
Figura 11	Híbridos moleculares derivados 4-hidroxicinamoilicos.	29
Figura 12	Análise retrossintética para a obtenção de H1 e H2.	31
Figura 13	Análise retrossintética para a obtenção de H3.	32
Figura 14	Rota sintética para obtenção dos híbridos H1, H2 e H3.	32
Figura 15	Rota para obtenção do derivado scyllo-inositol a partir do myo-inositol descrita por Chung et al. (1999).	33
Figura 16	Numeração dos átomos do myo-inositol e de derivados estabelecida pelo Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica empregada na designação da atribuição dos sinais de RMN.	34

Figura 17	Caracterização da configuração myo do composto 4 por RMN de 1H.....	35
Figura 18	Mecanismo da reação de Mitsunobu envolvendo o diol 30 e ácidos carboxílicos.....	36
Figura 19	Seletividade da reação de Mitsunobu para o diol 30 de configuração myo.....	37
Figura 20	Plano de obtenção dos híbridos H1 e H2 a partir dos ésteres 2 e 3.....	37
Figura 21	Estrutura proposta para o produto isolado da reação entre 4 e o ácido bromoacético, nas condições da reação de Mitsunobu, com base na análise dos espectros de RMN de 1H e 13C.....	39
Figura 22	Proposta de reação paralela nas condições de Mitsunobu. Justificativa para obtenção de 11.....	40
Figura 23	Caracterização estrutural de 2 por RMN de 1H, destacando a identificação da configuração scyllo.....	41
Figura 24	Condições da Condensação de Knoevenagel e a modificação de Doebner.....	45
Figura 25	Espectro de RMN de 1H (CDCl ₃ , 400 MHz) da mistura 6/4 (proporção 4:1).....	47
Figura 26	Espectro de RMN de 1H (DMSO-d ₆ , 400 MHz) da mistura 6/7 (proporção 1:3,2).....	47

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Síntese do DL-1,2-O-isopropilideno-myo-inositol (8)	33
Esquema 2	Síntese do DL-1,4,5,6-tetra-O-benzil-2,3-isopropilideno-myo-inositol (10).....	34
Esquema 3	Síntese do DL-1,4,5,6-tetra-O-benzil-myo-inositol (4)	35
Esquema 4	Síntese do DL-1-O-(2-cloroacetil)-2,3,4,5-tetra-O-benzil-scyllo-inositol (2).....	40
Esquema 5	Síntese do DL-1-O-(2-cloroacetil)-2,3,4,5-tetra-hidroxi-scyllo-inositol (2).....	41
Esquema 6	Tentativa de obtenção de derivados C-alkilados da curcumina realizada por RIVERO-JEREZ (2016).....	42
Esquema 7	Condição reacional proposta para a alquilação da curcumina com 12.	43
Esquema 8	Síntese do ácido ferúlico pela metodologia de Doebner	45
Esquema 9	Reação adversa de descarboxilação do ácido ferúlico, ocorrente nas condições empregadas para sua obtenção.....	45
Esquema 10	Condições reacionais para a obtenção de 6	46

LISTA DE ESTRUTURAS



LISTA DE APÊNDICE

Apêndice 1	Espectro de RMN de 1H de 8 (CDCl ₃ , 400 MHz)	65
Apêndice 2	Espectro de RMN de 1H de 10 (CDCl ₃ , 400 MHz)	65
Apêndice 3	Espectro de RMN de 1H de 4 (CDCl ₃ , 400 MHz)	66
Apêndice 4	Espectro de RMN de 1H de 11 (CDCl ₃ , 400 MHz)	66
Apêndice 5	Espectro de RMN de 13C de 11 (CDCl ₃ , 400 MHz)	67
Apêndice 6	Espectro de RMN de 1H de 2 (CDCl ₃ , 400 MHz)	67
Apêndice 7	Espectro de RMN de 1H de 12 (D ₂ O, 400 MHz)	68
Apêndice 8	Espectro de RMN de HSQC de 12 (D ₂ O, 400 MHz)	68
Apêndice 9	Espectro de RMN de HMBC de 12 (D ₂ O, 400 MHz)	69
Apêndice 10	Espectro de RMN de 1H de 7 (DMSO-d ₆ , 400 MHz).....	69
Apêndice 11	Espectro de RMN de 1H de 7 (DMSO-d ₆ , 400 MHz).....	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	ALZHEIMER	15
1.1.1	Cascata β -amiloide	16
1.1.2	Vias Terapêuticas	18
1.1.3	Metodologias De Avaliação Da Atividade Inibitória Da Agregação De $A\beta$	21
1.1.4	Inibidores Da Agregação Do Peptídeo β -amiloide	22
1.2	HIBRIDAÇÃO MOLECULAR COMO ESTRATÉGIA NO PLANEJAMENTO DE NOVOS FÁRMACOS.....	27
1.3	DESENVOLVIMENTO DE HÍBRIDOS MOLECULARES DO SCYLLO-INOSITOL	28
2	OBJETIVOS	30
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.1	OBTENÇÃO DO PRECURSOR-CHAVE 4, O DL-1,4,5,6-TETRA-O-BENZIL-MYO-INOSITOL	33
3.2	OBTENÇÃO DOS ÉSTERES HALOGENADOS 2 E 3 POR REAÇÃO DE MITSUNOBU	36
3.3	TENTATIVAS DE OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS (SCYLLO-INOSITOL)-CURCUMINA (H1 E H2)	42
3.4	OBTENÇÃO DE HÍBRIDO ÁCIDO FERÚLICO-SCYLLO-INOSITOL (H3).....	44
4	CONCLUSÃO E PESPECTIVAS FUTURAS	49
5	METODOLOGIA	50
5.1	MÉTODOS DE SECAGEM E PURIFICAÇÃO DE REAGENTES E SOLVENTES.....	50
5.2	MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	50
5.2.1	Cromatografia Líquida De Alta Eficiência (CLAE)	50
5.3	CARACTERIZAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	51
5.4	PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS	51
5.4.1	Obtenção Do DL-1,2-O-Isopropilideno-Myo-Inositol (CHUNG Et Al., 1999)	51

5.4.2	Obtenção Do DL-O-1,4,5,6-Tetra-O-Benzil-2,3-Isopropilideno-Myo-Inositol (CHUNG Et Al., 1999)	52
5.4.3	Obtenção Do DL-1,4,5,6-Tetra-O-Benzil-Myo-Inositol (CHUNG Et Al., 1999)	53
5.4.4	Obtenção Do DL-1-O-(2-Cloroacetil)-2,3,4,5-Tetra-O-Benzil-Scyllo-Inositol	53
5.4.5	Obtenção Do DL-1-O-(2-Cloroacetil)-Scyllo-Inositol	54
5.4.6	Obtenção Do Ácido (2E)-3-(4-Hidroxi-3-Metoxifenil)-2-Propenóico	55
5.4.7	Obtenção Do Ferulato De DL-1,4,5,6-Tetra-O-Benzil-Myo-Inositila.....	56

REFERÊNCIAS	57
--------------------------	-----------

APÊNDICES	65
------------------------	-----------

APÊNDICE 1	Espectro de RMN de 1H de 8 (CDCl ₃ , 400 MHz)	65
APÊNDICE 2	Espectro de RMN de 1H de 10 (CDCl ₃ , 400 MHz)	65
APÊNDICE 3	Espectro de RMN de 1H de 4 (CDCl ₃ , 400 MHz)	66
APÊNDICE 4	Espectro de RMN de 1H de 11 (CDCl ₃ , 400 MHz)	66
APÊNDICE 5	Espectro de RMN de 13C de 11 (CDCl ₃ , 400 MHz)	67
APÊNDICE 6	Espectro de RMN de 1H de 2 (CDCl ₃ , 400 MHz)	67
APÊNDICE 7	Espectro de RMN de 1H de 12 (D ₂ O, 400 MHz)	68
APÊNDICE 8	Espectro de RMN de HSQC de 12 (D ₂ O, 400 MHz)	68
APÊNDICE 9	Espectro de RMN de HMBC de 12 (D ₂ O, 400 MHz)	69
APÊNDICE 10	Espectro de RMN de 1H de 7 (DMSO-d ₆ , 400 MHz)	69
APÊNDICE 11	Espectro de RMN de 1H de 7 (DMSO-d ₆ , 400 MHz)	70

1 INTRODUÇÃO

1.1 ALZHEIMER

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa caracterizada pela morte progressiva de neurônios. É definida pela perda de células colinérgicas, emaranhados neurofibrilares, deposição de placas formadas pelo peptídeo beta-amiloide ($A\beta$) no hipocampo e neocortex cerebral, que resultam na perda de sinapses. Desta forma, apresenta como sintomas a demência, perturbações comportamentais e declínio cognitivo (CREED; MILGRAM, 2010).

Estima-se que mais de 80% dos casos de demência no mundo estejam relacionados a esta doença (POSPICH; RAUNSER, 2017). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em todo o mundo, o número de pessoas sofrendo com demência é estimado em 50 milhões, sendo que 30-35 milhões possuem Alzheimer, que acomete principalmente pessoas idosas. Em pessoas entre 65 e 69 anos, uma dentre 50 sofre de demência. Essa razão é de uma dentre cinco pessoas com idade entre 85-89 anos.

A etiologia do Alzheimer não é completamente compreendida até o momento, sendo uma doença de origem complexa e multifatorial. No entanto, dentre dos marcadores neuropatológicos da mesma se encontram as placas senis formadas por agregados de proteína β -amiloide, acumulação de filamentos de proteína *tau* nos emaranhados neurofibrilares e degeneração neural associada à gliose extensiva (Figura 1). Processos inflamatórios, anomalias mitocondriais e redução dos níveis de acetilcolina também são associadas à doença (LASHLEY *et al.*, 2018; PRATICÒ, 2005).

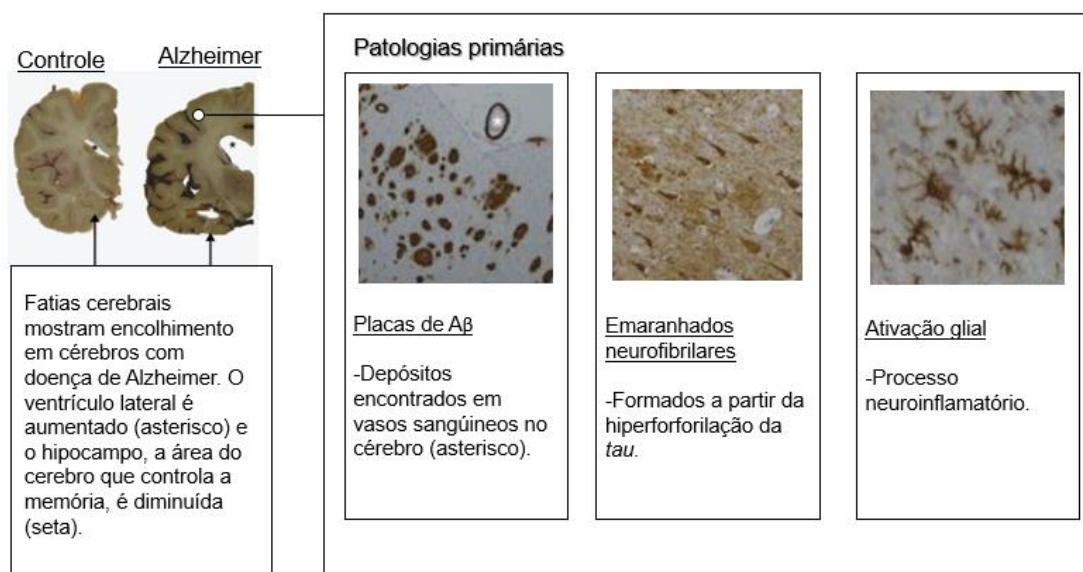


Figura 1. Neuropatologias do Alzheimer (Adaptado de Lashley et al 2018).

A cascata β -amiloide fomenta uma das principais hipóteses etiológicas do Alzheimer. É amplamente aceito que o acúmulo de $A\beta$ no cérebro seja um fator determinante da doença, desta forma, justifica-se o estudo intenso desta hipótese na busca por novas alternativas terapêuticas (SOTO-ORTEGA *et al.*, 2011).

1.1.1 Cascata β -amiloide

A hipótese da cascata de $A\beta$, desenvolvida em 1991 por Hardy e Higgins, considera que o acúmulo do peptídeo $A\beta$ no tecido neural seja o evento inicial que desencadeia o Alzheimer. O acúmulo de $A\beta$ leva então à agregação desse peptídeo, formando estruturas menos solúveis que dariam origem a placas que, por sua vez, originam os emaranhados neurofibrilares em conjunto com proteína *tau* (MACLEOD *et al.*, 2015; SELKOE, 1999).

O peptídeo $A\beta$ é proveniente da clivagem de uma proteína transmembrana denominada *Proteína Precursora de Amiloide* (APP). Esse peptídeo corresponde à parte do domínio extracelular e parte do domínio transmembrana da APP (Figura 2). A clivagem da APP envolve enzimas proteolíticas, dentre as quais, α , β e γ -secretases. As duas primeiras competem pela clivagem do domínio extracelular da APP, em diferentes pontos, participando do processo central de regulação da formação de $A\beta$.

A clivagem da APP por α -secretase ocorre no segmento A β e leva à formação sAPP α , um peptídeo com atividade neurotrófica e neuroprotetora. Por outro lado, a clivagem do domínio extracelular conduzida pela β -secretase ocorre na terminação-N do A β , constituindo a primeira etapa para sua formação, concluída pela ação da γ -secretase que cliva na terminação-C. Essa segunda clivagem pode acontecer entre diferentes resíduos de aminoácidos, o que permite que o peptídeo A β possa ser constituído de 37 a 42 aminoácidos, sendo A β_{40} e A β_{42} as isoformas mais comuns (Figura 2) (DE JESUS DE PAULA *et al.*, 2009; MAKIN, 2018; O'BRIEN; WONG, 2011; POSTINA, 2008).

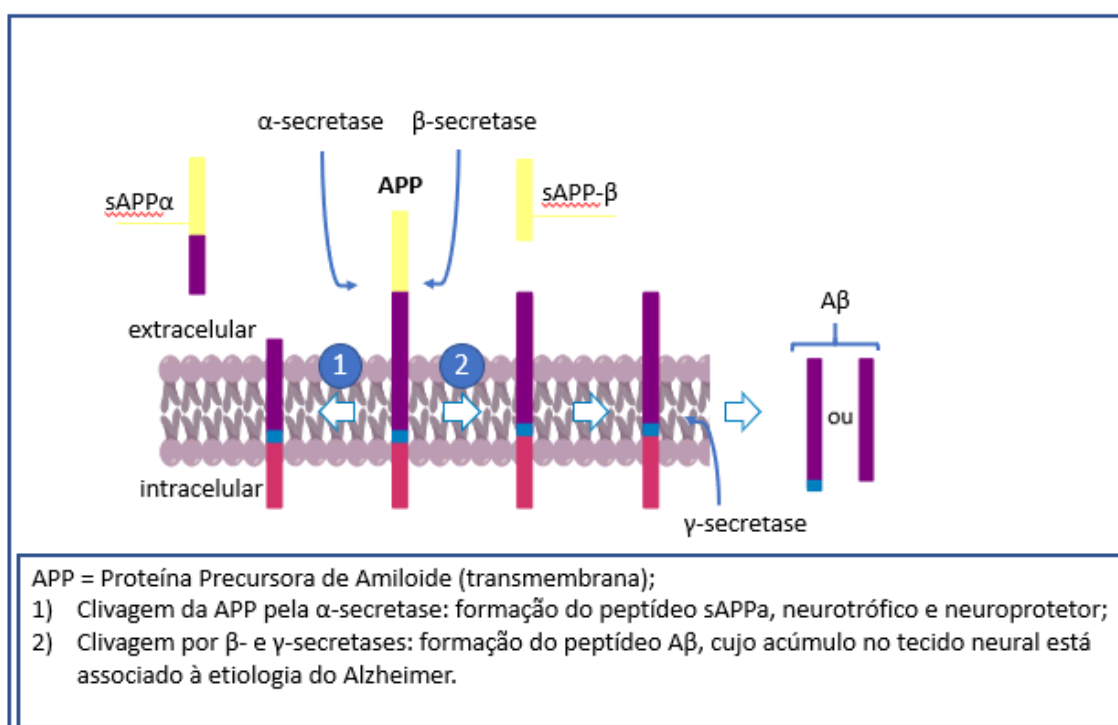


Figura 2. Papel das secretases na formação do peptídeo β -amiloide e suas consequências para o desenvolvimento do Alzheimer (Adaptado de Makin, 2018).

Em suas formas monoméricas, os peptídeos A β_{40} e A β_{42} são solúveis, inócuos e conformacionalmente aleatórios. Uma vez no meio extracelular, em contato com membranas lipídicas e certos metais, pode ocorrer a indução de dobra na estrutura dos filamentos de A β , o que favorece a associação destes em formas oligoméricas (BANERJEE, 2014). Oligômeros de A β solúveis de baixo peso molecular se agregam linearmente dando origem à

protofibrilas, fibrilas e placas insolúveis. As estruturas insolúveis são entendidas como patogênicas (Figura 3).

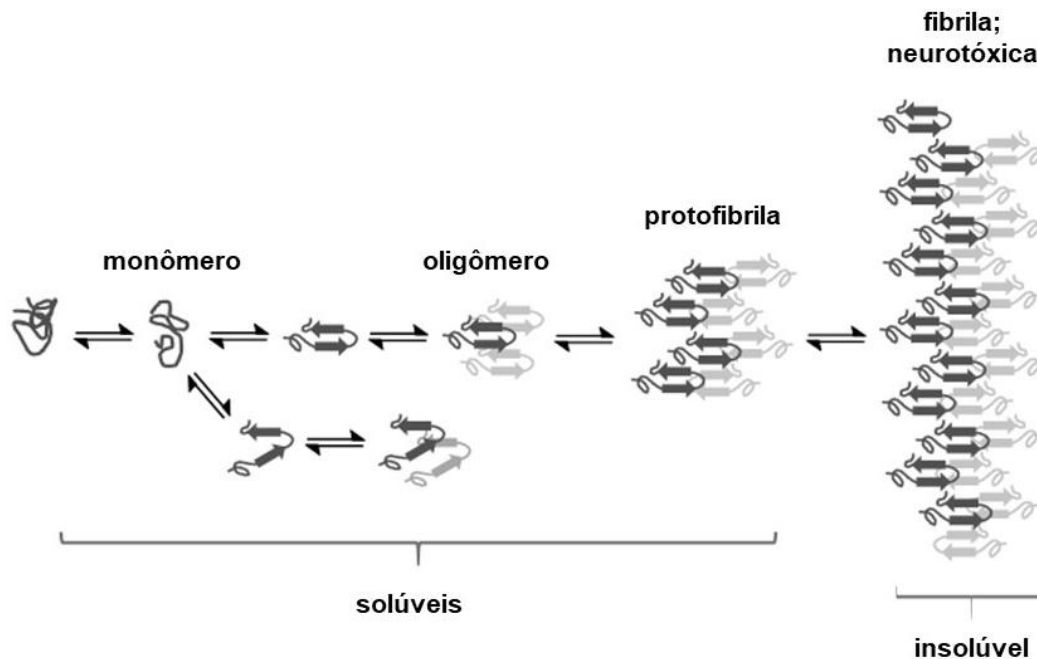


Figura 3. Processo de agregação do peptídeo β -amiloide – nomenclatura e solubilidade de cada estrutura formada ao longo do processo.

1.1.2 Vias Terapêuticas

Ainda que não haja tratamento curativo para o Alzheimer, são clinicamente disponíveis fármacos que auxiliam no tratamento dos sintomas nos estágios iniciais, em especial, o declínio cognitivo. Estão disponíveis quatro inibidores de acetilcolinesterases, sendo esses, a rivastigmina, o donepezil, a galantamina e a tacrina (MORSY; TRIPPIER, 2018) e um antagonista do receptor de *N*-metil-D-aspartato (receptor NMDA), a memantina (FISH *et al.*, 2018). A Figura 4 ilustra as estruturas desses fármacos.

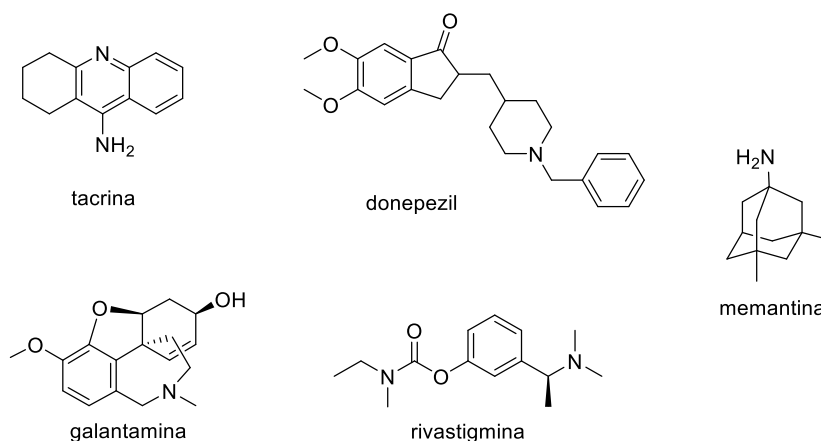


Figura 4. Fármacos atualmente disponíveis para o tratamento sintomático do Alzheimer: Tacrina, donepezil, galantamina e rivastigmina (inibidores de acetilcolinesterase); memantina (antagonista NMDA).

Os anticolinesterásicos são inibidores da enzima acetilcolinesterase, responsável pela degradação da acetilcolina. O aumento nos níveis de acetilcolina no sistema nervoso central oferece melhora da função cognitiva nos pacientes com Alzheimer (HAMPEL *et al.*, 2018). Desde a década de 1970, o sistema colinérgico é conhecido pelo seu importante papel na função cognitiva (DRACHMAN; LEAVITT, 1974). Os benefícios dos inibidores de acetilcolinesterase a longo prazo, no entanto, são questionados. Enquanto estudos afirmam e defendem sua eficácia por longos períodos (WALLIN *et al.*, 2007), outros dizem que a melhora dos pacientes submetidos a esse tratamento, após três anos de uso, é da mesma ordem que pacientes que receberam placebo (PETERSEN *et al.*, 2005).

Além dos fármacos que agem no sistema colinérgico, está disponível a memantina, um antagonista não-competitivo do receptor NMDA (FISH *et al.*, 2018). Esse receptor trata-se de um canal iônico que controla a passagem de íons cálcio no neurônio transmissor. Em pacientes com doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer, há uma maior atividade do receptor em questão. A atividade prolongada permite que o canal de Ca^{2+} permaneça aberto, ocasionando entrada de Ca^{2+} em excesso e causando a morte celular (LIPTON; ROSENBERG, 1994).

Outras abordagens com vistas ao tratamento curativo do Alzheimer estão sendo investigadas. Uma delas corresponde à busca por inibidores de β e γ -secretases. Dessa forma, várias substâncias inibidoras

dessas secretases alcançaram fases de estudo clínico para o Alzheimer, ainda que, nenhuma dessas tenha sido aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) ou qualquer outro órgão regulador no mundo. Um dos efeitos indesejados da terapia com inibidores de secretases comumente relatado é o declínio das funções motoras dos pacientes. Possivelmente, o insucesso desta abordagem esteja associado à intervenção em outras vias proteolíticas importantes, das quais também participam essas secretases (FISH *et al.*, 2019).

As substâncias verubecestat (MK-8931), lanabecestat e atabecestat são alguns exemplos de inibidores de β -secretase (Figura 5).

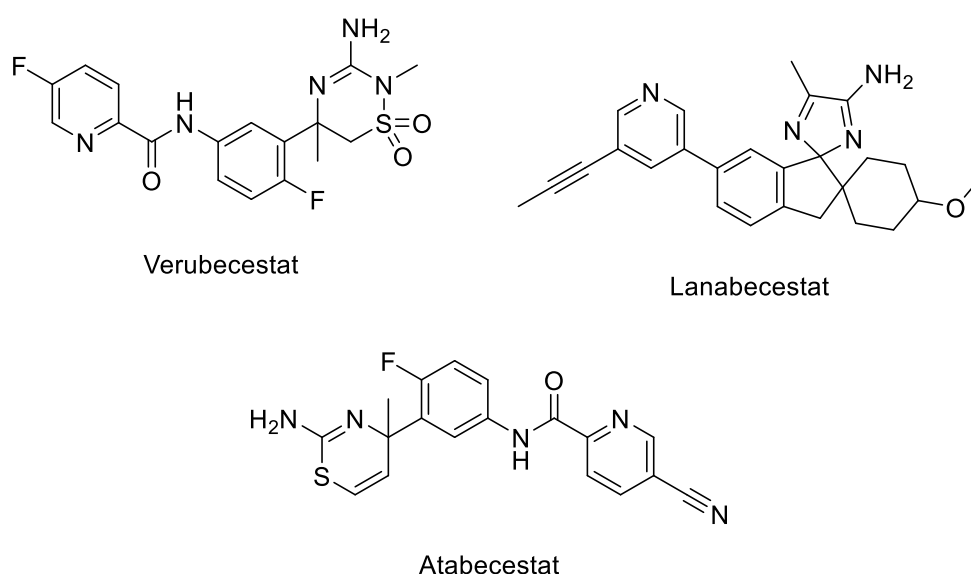


Figura 5. Inibidores de β -secretase.

Em estudos pré-clínicos e clínicos, o verubecestat reduziu a concentração de espécies tóxicas de $A\beta$ no cérebro de animais e pacientes humanos com Alzheimer. No entanto, os estudos clínicos (fase II/III) foram interrompidos devido às evidências de que esse fármaco não é eficaz em evitar a progressão do Alzheimer (NCT01739348, clinicaltrials.gov). O lanabecestat também atingiu estudos de fase II/III, sendo bem tolerado. No entanto, os resultados dos estudos para determinação da dosagem não foram consistentes, ou reprodutíveis. Outros estudos de fase III estão ainda em andamento (NCT02783573 e NCT02972658, clinicaltrials.gov). O atabecestat está sendo estudado em pacientes assintomáticos com risco de desenvolvimento de Alzheimer (fase III) (WESSELS *et al.*, 2019).

Outra abordagem de busca de novos fármacos contra o Alzheimer considera a prevenção da agregação de monômeros ou oligômeros de baixo peso molecular do peptídeo A β em oligômeros e protofibrilas insolúveis de alto peso molecular (FISH *et al.*, 2018). O presente trabalho é baseado nessa abordagem.

1.1.3 Metodologias De Avaliação Da Atividade Inibitória Da Agregação De A β .

Várias metodologias são utilizadas determinar o potencial de substâncias como inibidores de agregação de A β . Dentre essas, as principais metodologias utilizadas são métodos espectroscópicos, como espectrofluorometria e dicroísmo circular, como também métodos de microscopia (VICIDOMINI *et al.*, 2019).

A espectroscopia de fluorescência ou espectrofluorometria requer o uso de corantes fluorescentes que se associam fortemente por forças não covalentes às fibrilas do peptídeo A β . Os corantes mais comumente utilizados são a tioflavina-T e o vermelho do congo (Figura 9).

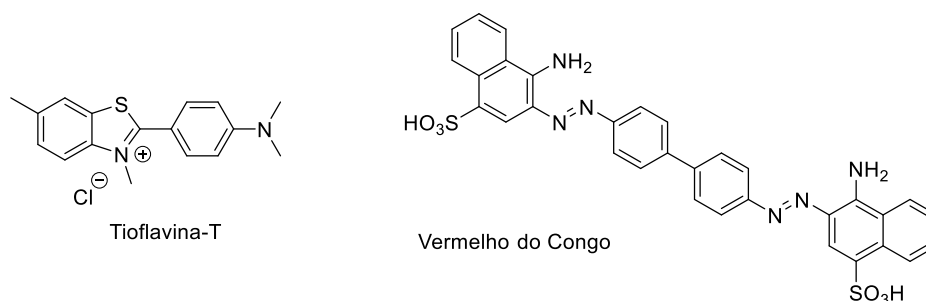


Figura 6. Corantes utilizados no método de fluorescência para quantificar A β .

De modo geral, nos ensaios empregam-se diferentes concentrações do inibidor, o que permite determinar valores de EC₅₀, e portanto, quantificar a atividade inibitória. Essa técnica pode ser inadequada para avaliação da atividade de compostos polifenólicos, por esses apresentarem fluorescência (CUI *et al.*, 2013; XUE; LIN; CHANG, 2017).

Por outro lado, os métodos de dicroísmo circular e de microscopia são qualitativos e mais diretos para a observação da agregação/desagregação de A β .

A espectroscopia de dicroísmo circular se baseia na determinação da absorvância a partir da aplicação, sobre a amostra, de luz polarizada no sentido horário ou no sentido anti-horário. Isto permite identificar os padrões das estruturas secundárias de proteínas. Considerando que o A β sofre mudanças conformacionais durante o processo de agregação, passando de α -hélice para folha- β . Por dicroísmo circular, pelo acompanhamento das bandas em 195 e 218 nm é possível identificar a formação de estruturas de folha- β , indicando a agregação do peptídeo. Diferentes protocolos de solubilização e dissociação do peptídeo podem ser utilizados de forma a obter o controle do experimento. Uma vez que o espectro do controle é obtido, os demais espectros onde a solução de A β está em contato com determinados compostos, podem ser comparados ao controle de forma qualitativa (CUI *et al.*, 2013; JUSZCZYK; KOŁODZIEJCZYK; GRZONKA, 2005).

Tanto microscopia de força atômica (MFA) quanto microscopias eletrônicas de transmissão (MET) ou varredura (MEV) são amplamente utilizadas em avaliações qualitativas da agregação de A β , sendo estas técnicas visuais e de fácil compreensão. As técnicas de microscopia eletrônica são úteis para a visualização de fibrilas e protofibrilas, bem como, de suas morfologias estruturais, no entanto não permite simular condições fisiológicas, por não viabilizar o emprego de amostras em solução. A MFA, por outro lado, permite o uso amostras em solução, além possibilitar a distinção entre oligômeros, protofibrilas e fibrilas facilmente (BRUGGINK; MAREIKE, 2011).

1.1.4 Inibidores Da Agregação Do Peptídeo β -amiloide

Desde a década de 1990, diversas substâncias de origem natural e sintética foram avaliadas quanto o potencial inibidor da agregação de A β *in vitro*. Dentre os inibidores de agregação de A β identificados encontram-se um derivado estirilbenzênico designado X-34, o galato de epigallocatequina, o ácido ferúlico, o resveratrol, o ácido rosmarínico, a curcumina e o *scyllo*-inositol (LEE *et al.*, 2012; ONO; HIROHATA; YAMADA, 2005). De acordo com as estruturas dessas substâncias, ilustradas na Figura 6, muitas dessas correspondem a derivados 4-hidroxicinamoílicos, sendo esse um potencial grupamento farmacofórico frente à inibição da agregação do A β .

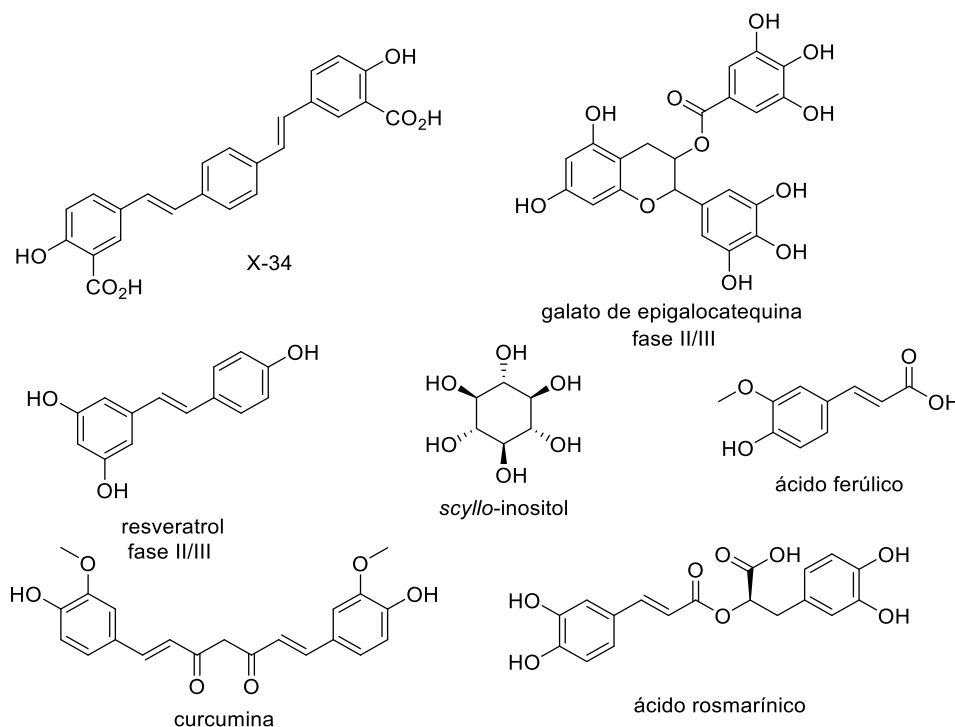


Figura 7. Estruturas de inibidores da agregação do peptídeo A β .

Dentre as substâncias mencionadas acima, apenas o X-34 e o ácido rosmarínico não atingiram estudos clínicos para o tratamento de Alzheimer. O galato de epigalocatequina atingiu estudos de fase II/III (clinicaltrials.gov, 2018, NCT00951834). O estudo foi conduzido em pacientes nos estágios iniciais da doença. O resveratrol também alcançou estudos de fase clínica II/III para a doença de Alzheimer. A partir dos resultados dos estudos de fase II concluiu-se que o resveratrol é capaz de modular a neuroinflamação comum em doenças neurodegenerativas e é, portanto, viável para tratamento ou prevenção de doenças desse tipo (MOUSSA *et al.*, 2017). O estudo de fase III para esta substância ainda não possui resultados publicados (clinicaltrials.gov, 2012, NCT00678431).

Apesar do ácido rosmarínico e o composto X-34 ainda não terem alcançado estudos de fase clínica, seus potenciais como inibidores de agregação do peptídeo A β já foram comprovados. *In vitro*, ambos os compostos foram capazes de se ligar ao A β impedindo a agregação do mesmo, sendo a capacidade do ácido rosmarínico comparável à da curcumina por estudos de fluorescência (ONO *et al.*, 2004; TAGUCHI *et al.*, 2017).

A curcumina é um composto de origem natural, obtido do açafrão-da-terra. É amplamente utilizada como condimento em países da Ásia, sendo conhecidas suas atividades anti-inflamatória (BROUET; OHSHIMA, 1995), antioxidante (SHARMA, 1976) e neuroprotetora (AGRAWAL *et al.*, 2010).

Em um estudo de 2005 envolvendo 214 substâncias, derivados curcuminóides apresentaram o maior efeito inibitório de formação de fibrilas de A β , em ensaios de espectroscopia de fluorescência (KIM *et al.*, 2005). Em estudos que utilizaram culturas de neurônios corticais de camundongos, o emprego de curcumina levou à diminuição dos níveis de A β e também da maturação da APP. Neste estudo, a quantificação de A β foi realizada através do método ELISA (do inglês, *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) (BELKACEMI *et al.*, 2011).

No entanto, vários fatores dificultaram a aplicação da curcumina terapêuticamente como um agente anti-Alzheimer. Algumas de suas características envolvem baixa biodisponibilidade oral e baixa solubilidade em água (SHI *et al.*, 2007). Um estudo clínico (fase I/II), trouxe evidências de que a curcumina é capaz de atuar na desagregação de depósitos de A β no cérebro (BAUM *et al.*, 2008). Um segundo estudo clínico (fase II) foi conduzido para avaliar a segurança e tolerabilidade de doses diferentes de curcumina em pacientes com a doença de Alzheimer. Apesar de três indivíduos terem sido retirados do estudo por sintomas gastrointestinais, a curcumina foi bem tolerada. A partir deste estudo, no entanto, não foi possível comprovar a eficácia bioquímica da curcumina frente ao Alzheimer (RINGMAN *et al.*, 2012).

O inositol é um poliol que possui nove estereoisômeros, sendo oito deles de ocorrência natural. Os mais comuns são o *myo-*, *chiro-*, *epi-* e o *scyllo-*inositol, sendo o primeiro, o mais abundante. As estruturas dos nove estereoisômeros do inositol estão apresentadas abaixo (Figura 7).

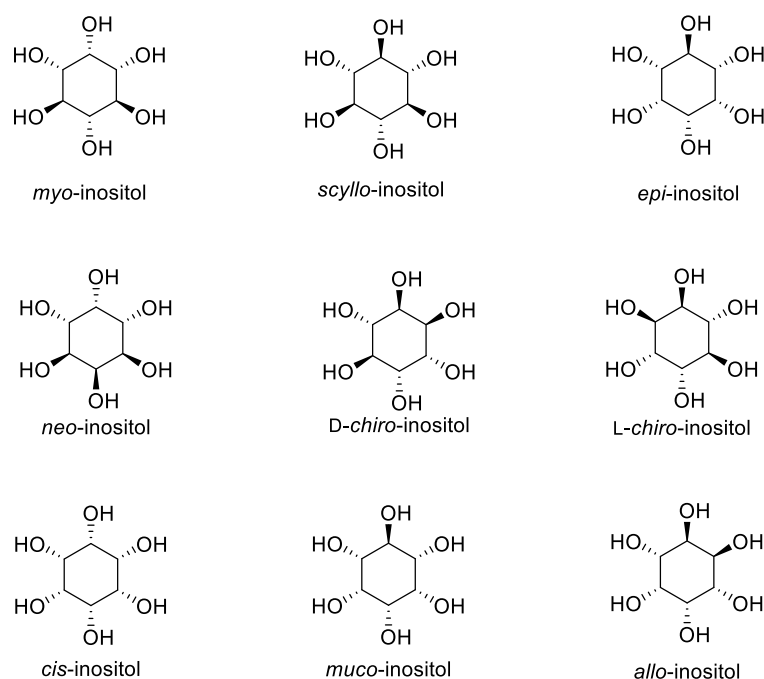


Figura 8. Estereoisômeros do inositol.

Os isômeros *myo*-, *epi*-, *scyllo*-inositol foram testados *in vivo* com base em resultados prévios obtidos de estudos por microscopia eletrônica de transmissão (MCLAURIN *et al.*, 2006). O estudo *in vivo* foi desenvolvido em camundongos com superexpressão de mutações gênicas específicas que afetam a APP. A quantificação de A β no plasma foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (CG-MS). O *myo*-inositol, apesar de inibir a agregação de A β *in vivo*, não aumentou a performance cognitiva dos animais. O *epi*-inositol forneceu resultados similares quanto à inibição de agregação de A β porém, com o avanço da doença, deixou de ser efetivo (FENILI *et al.*, 2007).

In vitro, a capacidade do *scyllo*-inositol em inibir a agregação de A β foi comprovada através de espectroscopia de dicroísmo circular e por microscopia eletrônica de transmissão (MCLAURIN *et al.*, 2000). Estudos *in vivo* revelaram que a função cognitiva de roedores submetidos a tratamento com *scyllo*-inositol foi melhorada, estando isto associado à diminuição da quantidade de placas de agregados de A β e aumento da concentração plasmática das espécies monoméricas em 133% (TOWNSEND *et al.*, 2006). Além disso, outros estudos mostraram que roedores em diferentes estágios da doença apresentaram efeitos terapêuticos positivos quando submetidos a tratamento

com este ciclitol. Esses resultados trazem evidências de que o *scyllo*-inositol atua não somente promovendo a desagregação de placas já formadas mas, também, previne a formação de novas placas (MCLAURIN *et al.*, 2000a; NITZ *et al.*, 2008). Este composto se mostrou um potencial agente anti-Alzheimer, sendo dose-dependente para casos avançados. Os resultados de estudo clínico (fase II) indicaram a ocorrência de um número maior de casos de infecções sérias e efeitos colaterais neurológicos e psiquiátricos quando o *scyllo*-inositol foi empregado em altas doses (MA; THOMASON; MCLAURIN, 2012; TANAKA; TAKENAKA; YOSHIDA, 2015).

O ácido ferúlico é comumente encontrado em vegetais como alcachofra, berinjela, farelo de trigo e farelo de milho (SAULNIER; THIBAUT, 1999; SMITH; HARTLEY, 1983), sendo descrito na literatura como antioxidante e um potencial agente para doenças neurodegenerativas (ARDIANSYAH *et al.*, 2008; HUDSON *et al.*, 2000; JUNG *et al.*, 2007). Além prevenir a agregação de A β , promove a desagregação de fibrilas já formadas (ONO; HIROHATA; YAMADA, 2005). Ono e colaboradores (2005) compararam a atividade inibitória frente a agregação de A β do ácido ferúlico com a de curcumina, rifampicina e tetraciclina (moléculas previamente descritas como inibitórias de agregação de A β), e concluíram que o ácido ferúlico possui alto potencial inibitório, sendo seu efeito pouco menor que da curcumina.

Derivados hidrossolúveis sintéticos do ácido ferúlico (Figura 8) mostraram potenciais de inibição de agregação de A β similares aos do ácido ferúlico (KIKUGAWA *et al.*, 2015).

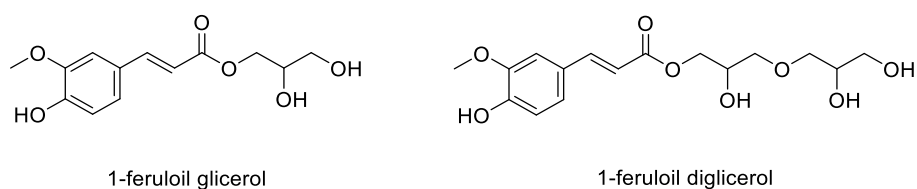


Figura 9. Derivados hidrossolúveis do ácido ferúlico com atividade inibitória da agregação de A β reportados por Kikugawa *et al.*, 2015.

1.2 HIBRIDAÇÃO MOLECULAR COMO ESTRATÉGIA NO PLANEJAMENTO DE NOVOS FÁRMACOS

Moléculas híbridas, em química medicinal, resultam da junção de duas ou mais moléculas, com grupamentos farmacofóricos distintos, de modo que cada porção farmacofórica conserve seu potencial de interagir com seu alvo molecular, desta forma, diversificando a resposta farmacológica.

Existem diferentes formas de hibridação. A junção das moléculas pode ser feita através de um espaçador (*linker*) ou não, bem como, da sobreposição de duas moléculas. Os *linkers* são grupamentos utilizados para a obtenção do híbrido, se tratam geralmente de cadeias poliméricas, anéis aromáticos ou heteroaromáticos, dentre outras opções.

Essa abordagem mostrou-se especificamente útil em casos de doenças multifatoriais, como é o caso da doença de Alzheimer. Além de interações múltiplas com o alvo, ou múltiplos alvos, a utilização de moléculas híbridas diminui ainda o risco de interação entre os fármacos se ambos forem utilizados simultaneamente. A utilização de uma substância única, também favorece o estudo farmacodinâmico e farmacocinético simplificado (SCHMITT *et al.*, 2004).

Com esse enfoque, vários híbridos moleculares têm sido estudados para em busca de novas terapias para o Alzheimer. Híbridos da tacrina, do donepezil, da rivastigmina e da galantamina mostraram atividade inibitória de acetilcolinesterase superior que os fármacos referência (SINGH *et al.*, 2016). Híbridos da curcumina foram também avaliados, incluindo híbridos entre a curcumina e a rivastigmina que mostraram potencial como inibidores de acetilcolinesterase. Além disso alguns híbridos ainda mostraram capacidade inibitória de agregação de A β similares à curcumina nos ensaios conduzidos por microscopia eletrônica de transmissão (LI *et al.*, 2014).

A avaliação da atividade inibitória da agregação de A β ₄₂ de um híbrido resveratrol-clioquinol mostrou que este é capaz e de desestabilizar também as protofibrilas já formadas do mesmo fragmento de peptídeo (SAINI *et al.*, 2019). Uma série de híbridos resveratrol-maltol foram também sintetizados e avaliados como potenciais agente de inibição de A β , antioxidante e quelante de metais. A atividade inibitória de agregação de A β foi analisada por fluorescência utilizando tioflavina-T como corante e também por microscopia eletrônica de

transmissão. Os híbridos resveratrol-maltol com os substituintes nas posições 2 e 4 (Figura 10) sendo hidroxilas se mostraram mais promissores que o restante da série sintetizada, mostrando um potencial inibitório de agregação de A β superior ao próprio resveratrol (CHENG *et al.*, 2018). A Figura 10 mostra as estruturas das substâncias sintetizadas por Saini *et al.* (2019) e Cheng *et al.* (2018).

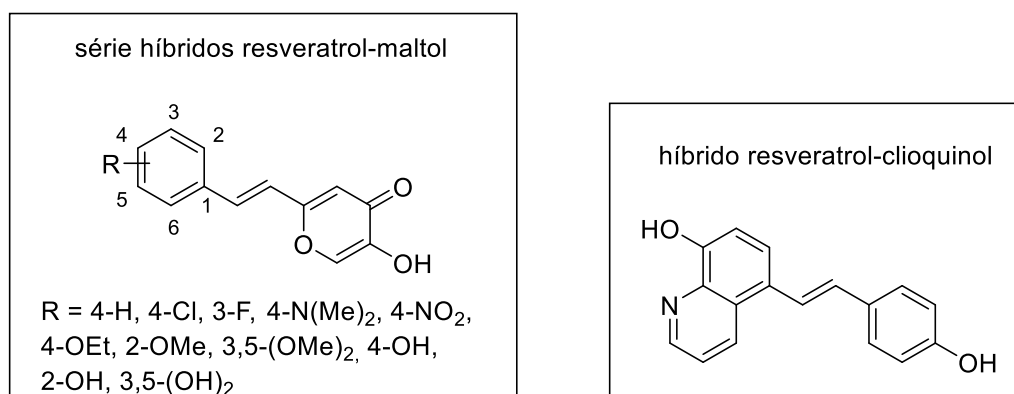


Figura 10. Híbridos de resveratrol sintetizados por Saini *et al.*, 2019 e Cheng *et al.*, 2018.

1.3 DESENVOLVIMENTO DE HÍBRIDOS MOLECULARES DO SCYLLO-INOSITOL

Com base no exposto acima, no contexto deste trabalho, nos propomos a desenvolver híbridos moleculares entre derivados 4-hidroxicinamoílicos (curcumina, *scyllo*-inositol e ácido ferúlico) como agentes anti-agregação do A β , conforme a Figura 11.

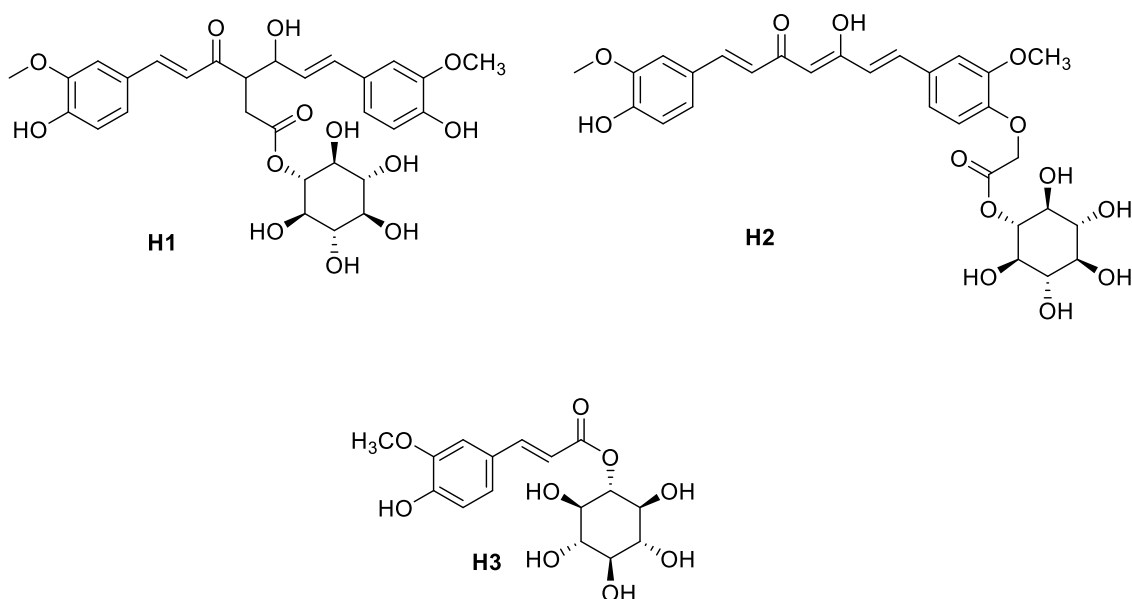


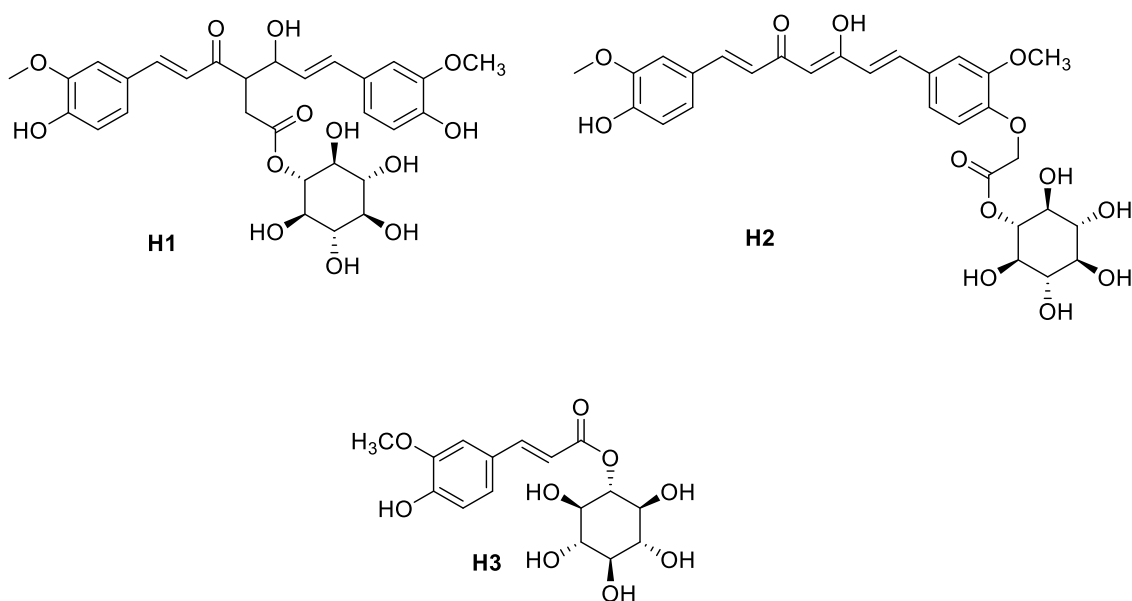
Figura 11. Híbridos moleculares derivados 4-hidroxicinamoílicos.

Os híbridos **H1** e **H2** propostos são provenientes da junção da curcumina com o *scyllo*-inositol a partir de um *linker* éster em diferentes posições. Enquanto o híbrido **H3** seria originário da sobreposição do ácido ferúlico com o *scyllo*-inositol.

O núcleo 4-hidroxicinamoílico, presente na curcumina e ácido ferúlico, é comum a vários inibidores de agregação do A β . Já o *scyllo*-inositol, é um composto poliidroxilado de estrutura bastante diferente dos demais que também possui atividade frente a A β . Como base nas diferenças estruturais dos compostos, espera-se que a junção dos mesmos resulte em uma melhora na interação com o peptídeo em questão, resultando numa taxa melhor de inibição de A β do que os compostos não hibridizados. Além disso, a adição do *scyllo*-inositol deve afetar as propriedades físico-químicas dos derivados 4-hidroxicinamoílicos híbridos, favorecendo a hidrossolubilidade dessas substâncias.

2 OBJETIVOS

Obter de híbridos moleculares derivados do *scyllo*-inositol contendo o grupo 4-hidroxicinamoila como potenciais inibidores da agregação do peptídeo β -amiloide ($A\beta$). Sendo H1 e H2 híbridos híbridos (*scyllo*-inositol)-curcumina e H3 um híbrido (*scyllo*-inositol)-ácido ferúlico.



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com vistas à obtenção sintética dos híbridos moleculares planejados, **H1**, **H2** e **H3** (Figura 11, página 14), desenvolveu-se as análises retrossintéticas apresentadas a seguir (Figura 12 e 13). Propusemos que a obtenção dos híbridos **H1** e **H2** seria viabilizada pela alquilação da curcumina com derivado 1-haloacetil do *scyllo*-inositol (**2** (X = Cl) ou **3** (X = Br)). Consideramos que os ésteres **2** e **3** poderiam ser preparados a partir de ácidos haloacéticos correspondentes e do derivado tetra-*O*-benzilado **4**, de configuração *myo*, por meio de reação de Mitsunobu, que permite a inversão da configuração do centro estereogênico, com base na estratégia empregada por Chung e colaboradores (1999) para obtenção do monobenzoato do *scyllo*-inositol (**9**, Figura 15, página 19). O derivado **4**, por sua vez, pode ser obtido a partir de do *myo*-inositol comercial em três etapas (CHUNG *et al.*, 1999) (Figura 12).

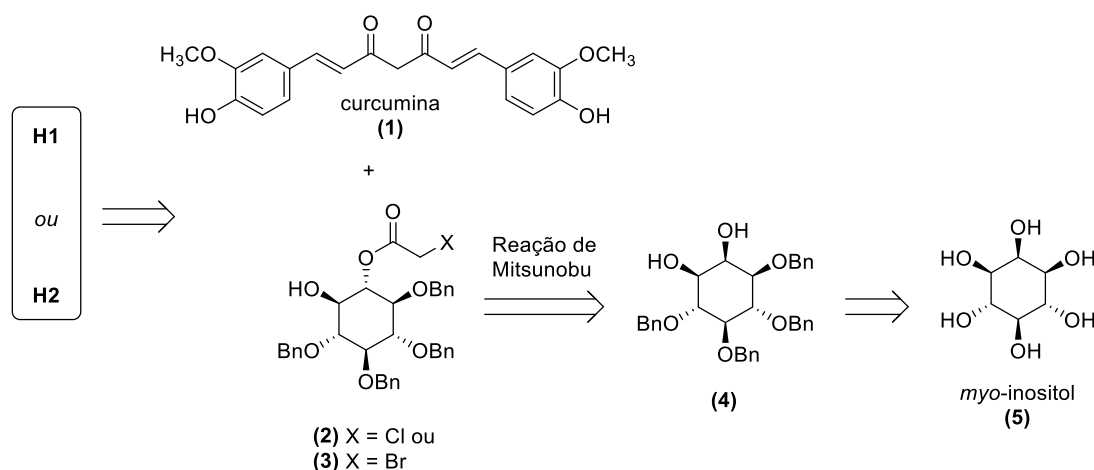


Figura 12. Análise retrossintética para a obtenção de **H1** e **H2**.

A proposta de obtenção do híbrido **H3** envolveu um número menor de etapas, de modo que consideramos que esse híbrido poderia ser resultante da desbenzilação de **6**, o qual seria obtido pelo emprego do diol **4**

como substrato de uma inversão de Mitsunobu, diretamente com o derivado 4-hidroxicinamóilico, no caso, o ácido ferúlico (7) (Figura 13).

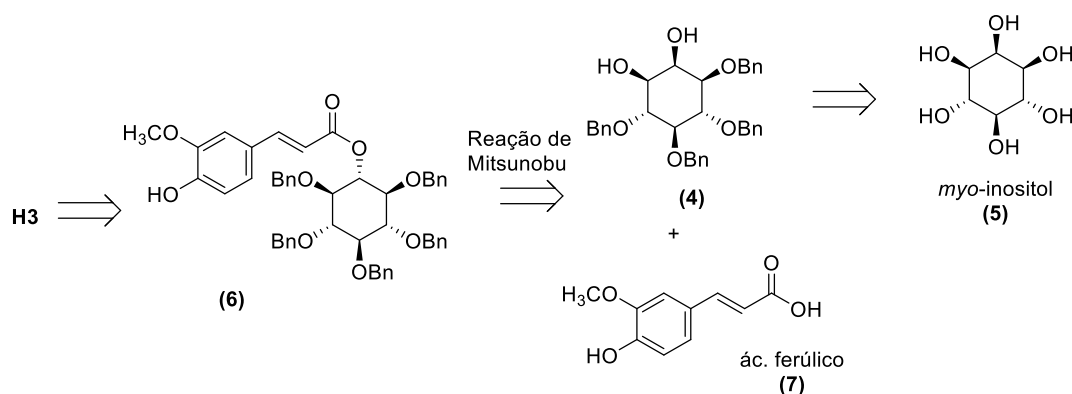


Figura 13. Análise retrossintética para a obtenção de H3.

Dessa forma, os híbridos moleculares derivados do *scyllo*-inositol propostos no presente projeto (Figura 11, página 14) têm como precursor-chave o diol 4, de acordo com a rota sintética apresentada abaixo (Figura 13).

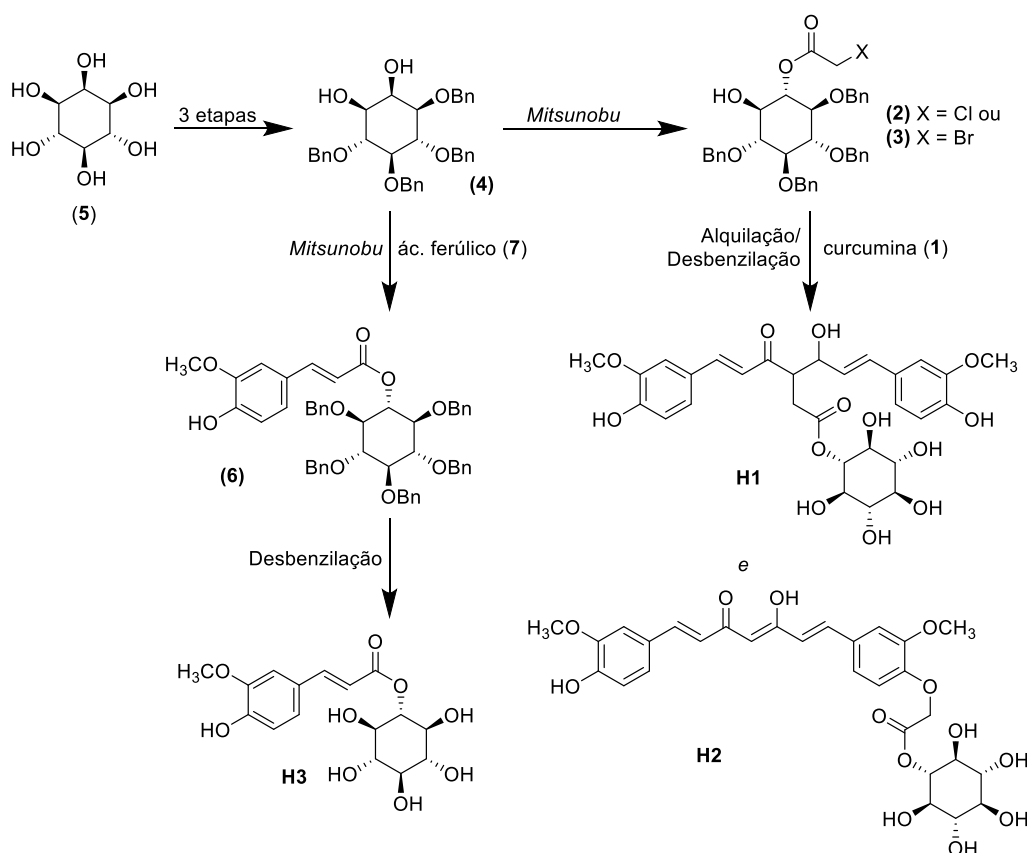


Figura 14. Rota sintética para obtenção dos híbridos H1, H2 e H3.

1.4 OBTENÇÃO DO PRECURSOR-CHAVE **4**, O DL-1,4,5,6-TETRA-O-BENZIL-MYO-INOSITOL

A síntese do diol **4** foi descrita por Chung *et al.* em 1999, sendo este um precursor sintético do *scyllo*-inositol em rota que parte de seu diastereoisômero comercialmente mais acessível, o *myo*-inositol (Figura 15).

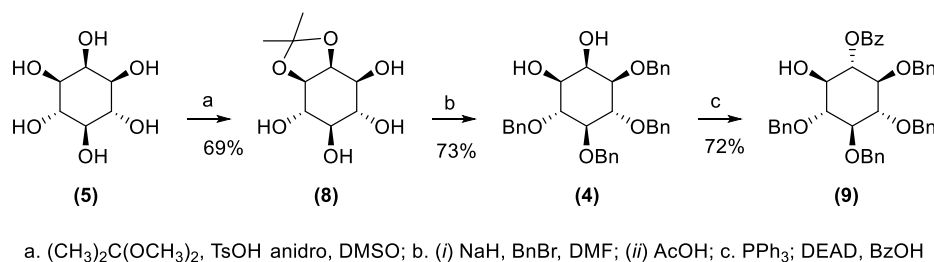
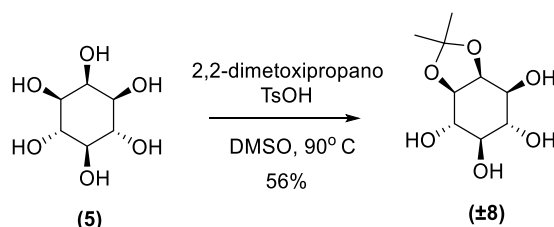


Figura 15. Rota para obtenção do derivado *scyllo*-inositol a partir do *myo*-inositol descrita por Chung *et al.* (1999).

Pelo emprego dessa metodologia, obtivemos o diol **4** em três etapas. Primeiramente, as hidroxilas *cis* vicinais do *myo*-inositol foram estereosseletivamente protegidas, utilizando-se o 2,2-dimetoxipropano e ácido *p*-toluenossulfônico como catalisador (Esquema 1) (CHUNG *et al.*, 1999). O acetonídeo **8** foi obtido como mistura racêmica com 56% de rendimento.



Esquema 1. Síntese do DL-1,2-O-isopropilideno-*myo*-inositol (± 8).

A formação do acetonídeo **8**, nessas condições, foi decorrente da protonação de uma das metoxilas do 2,2-dimetoxipropano, seguida da eliminação de metanol. O íon resultante é susceptível à adição nucleofílica de

hidroxila do ciclitol. A participação de uma das hidroxilas vicinais *cis* neste processo, favorece a formação do cetalo cíclico de cinco membros.

A partir da análise do espectro de RMN de ^1H (Apêndice 1, página 52) foi possível confirmar a estrutura do composto **8**. Observa-se que atribuições dos sinais de RMN mencionadas na sequência do texto, se referem à numeração dos átomos da estrutura do *myo*-inositol estabelecida pelo *Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica*, em 1988 (Figura 16) (“Numbering of atoms in *myo*-inositol”, 1989)

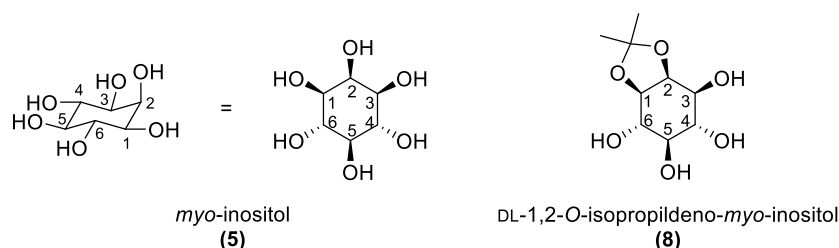
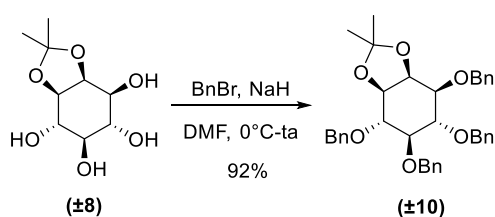


Figura 16. Numeração dos átomos do *myo*-inositol e de derivados estabelecida pelo Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica empregada na designação da atribuição dos sinais de RMN.

No espectro de RMN de ^1H de **8**, os dois singletos em δ 1,55 e 1,41 caracterizam as metilas do grupamento isopropil. A configuração *syn* do cetalo cíclico formado foi evidenciada pela constante de acoplamento de 4,6 Hz dos sinais em δ 4,52 e 4,10, referentes a H-1 e H-2, respectivamente, característica do acoplamento vicinal axial-equatorial. Esses e os demais sinais observados no espectro estão de acordo com os dados descritos na literatura para **8** (CHUNG *et al.*, 1999).

Subsequentemente, a proteção das hidroxilas livres do acetonídeo **8** foi feita por reação com brometo de benzila, na presença de hidreto de sódio (Esquema 2). Após purificação, o derivado foi obtido com rendimento de 92%.

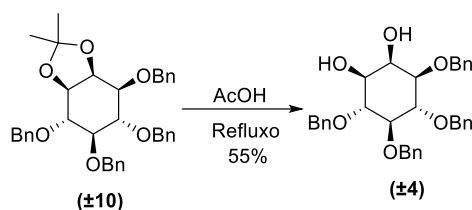


Esquema 2. Síntese do DL-1,4,5,6-tetra-*O*-benzil-2,3-isopropilideno-*myo*-inositol (± 10).

A reação substituição nucleofílica bimolecular das hidroxilas livres do derivado inositolico com o brometo de benzila foi favorecida desprotonação prévia conduzida por íons hidreto.

A caracterização do produto foi feita pela análise do espectro de RMN de ^1H (Apêndice 2, página 52). Verificou-se a presença de sinais entre δ 7,27 e 7,37 correspondentes a vinte hidrogênios aromáticos, com também os sinais correspondentes aos oito hidrogênios metilênicos dos grupos benzilas em δ 4,87-4,72. Os demais sinais do espectro estão de acordo com os dados descritos na literatura (CHUNG *et al.*, 1999).

Partindo-se de **10**, obteve-se o diol **4** com rendimento de 55%, por hidrólise do grupo cetal em meio ácido, utilizando-se ácido acético sob refluxo, de acordo com descrita na literatura (CHUNG *et al.*, 1999) (Esquema 3).



Esquema 3. Síntese do DL-1,4,5,6-tetra-O-benzil-*myo*-inositol (\pm 4).

Em favor da evidência de sua formação, no espectro de RMN de ^1H de **4** (Apêndice 3, página 53) não foram observados os sinais referentes às metilas do grupamento cetal do precursor **10**. O tripleto em δ 4,20, referente ao H-2, de constante de acoplamento de 2,6 Hz referente ao acoplamento equatorial-axial com H-1, caracteriza a configuração *myo* do derivado inositolico (Figura 17). Os demais sinais, referentes aos hidrogênios carbinólicos, em δ 3,97, 3,84 e 3,50-3,45, àqueles referentes aos hidrogênios dos grupos benzila δ 7,33–7,30 e 4,96–4,71, estão de acordo com os dados descritos na literatura para o composto **4** (CHUNG *et al.*, 1999).

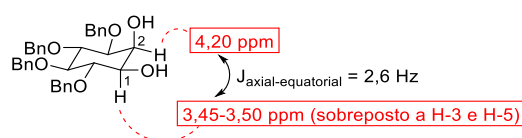


Figura 17. Caracterização da configuração *myo* do composto **4** por RMN de ^1H .

1.5 OBTENÇÃO DOS ÉSTERES HALOGENADOS 2 E 3 POR REAÇÃO DE MITSUNOBU

A reação de Mitsunobu utiliza fosfinas e azodicarboxilatos de alquila para a transformação de álcoois em outras funções orgânicas por substituição nucleofílica, sendo especialmente importante na conversão de álcoois secundários por permitir a inversão da configuração do centro estereogênico. A escolha dessa reação para a obtenção de derivados éster do *scyllo*-inositol foi baseada na metodologia descrita por Chung (1999), que utilizou a reação de Mitsunobu, empregando ácido benzoico, para inverter a configuração do carbono C-1 do ciclitol de configuração *myo*, permitindo a obtenção de produto de configuração *scyllo* (Figura 14, página 20, etapa c).

De acordo com o mecanismo proposto para a reação de Mitsunobu (Esquema 10), o processo reacional parte da adição de trifetilfosfina ao nitrogênio do azodicarboxilato de alquila (I), gerando uma betaína (II). Esta espécie promove a desprotonação do ácido carboxílico e resulta no derivado fosfônio III que irá promover a ativação do diol reagente (IV) para substituição nucleofílica. A reação com íon carboxilato, que resulta na inversão da configuração do carbono carbinólico apresenta o grupo oxifosfônio em axial (IV) (Figura 19), sendo que o mecanismo envolvido é bimolecular. A aproximação do nucleófilo ao carbono com grupo oxifosfônio em equatorial é estericamente desfavorável, conforme ilustrado na Figura 20.

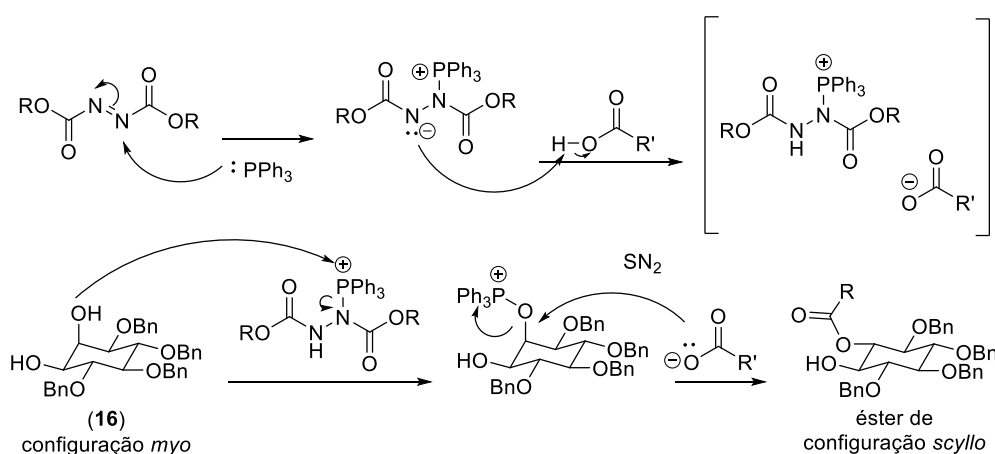


Figura 18. Mecanismo da reação de Mitsunobu envolvendo o diol 30 e ácidos carboxílicos.

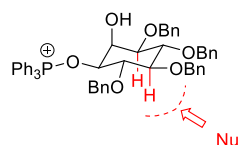


Figura 19. Seletividade da reação de Mitsunobu para o diol 30 de configuração *myo*.

No contexto deste trabalho, foram utilizados os ácidos bromo- e cloroacético como reagentes nas condições da reação de Mitsunobu envolvendo o diol **4**. A conversão deste em ésteres halogenados de configuração *scyllo*, por meio de reação de Mitsunobu, viabiliza as rotas propostas para a obtenção dos híbridos **H1** e **H2**, por reações de C- e O-alkilação respectivamente. Os produtos esperados para estas conversões seriam os ésteres **2** e **3**, precursores dos híbridos propostos **H1** e **H2** (Figura 21).

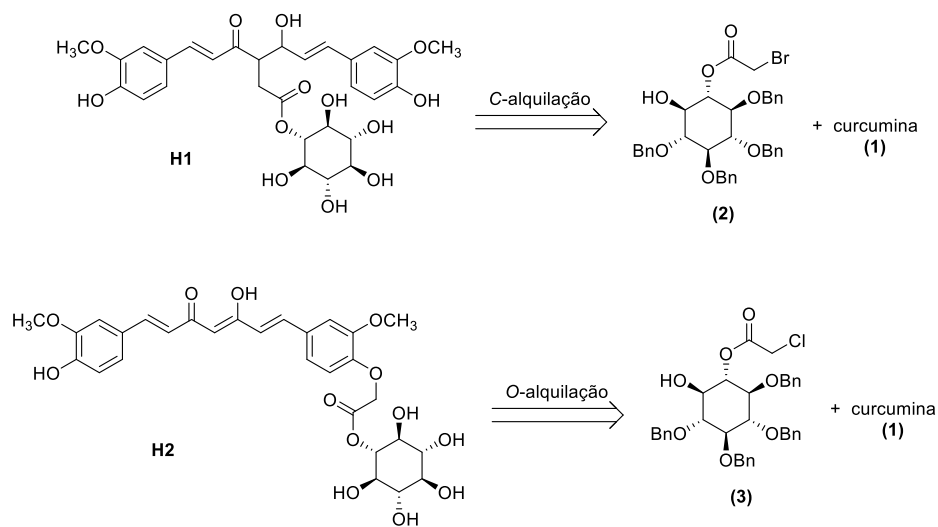


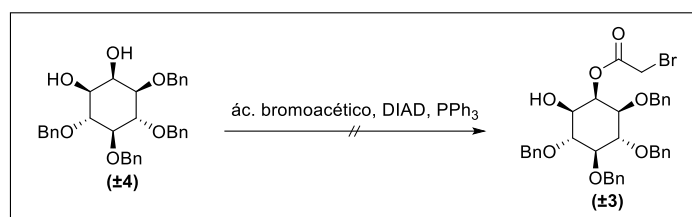
Figura 20. Plano de obtenção dos híbridos **H1** e **H2** a partir dos ésteres **2** e **3**.

As investidas na preparação destes dois ésteres foram feitas, tendo-se em vista que, de acordo com o que está consolidado na literatura (COSTA; PILLI; PINHEIRO; VASCONCELLOS, 2003), C-alkilações de enolatos são favorecidas pelo emprego de brometos de alquila (por serem eletrófilos relativamente mais moles que cloretos de alquila), em relação à O-

alquilação. Por outro lado, os cloretos de alquila são mais seletivos para formação de derivados O-alkilados.

No entanto, as tentativas de obtenção do éster bromado **3**, empregando-se trifenilfosfina e DIAD como reagentes, não foram bem sucedidas, ainda que tenham sido avaliadas diferentes condições reacionais, variando-se a temperatura e solvente, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Condições reacionais empregadas nas tentativas de obtenção de **3**



Tentativa	Solvente	Temperatura	Resultado (CCD)
1	tolueno	80 °C	Não houve consumo de 4
2	tolueno	Refluxo	Consumo total de 4 Formação de múltiplos produtos
3	THF	Ambiente	Não houve consumo de 4
4	THF	Refluxo	Não houve consumo de 4 Formação de múltiplos produtos (incluindo 11 , Figura 21, página 25)

*Em todos os casos foi empregada a seguinte proporção molar: **4**/PPh₃/DIAD/BrCH₂CO₂H 1:2:2:2.

Na reação conduzidas em tolueno, à temperatura de refluxo (tentativa 2, Tabela 1), observou-se por CCD, o consumo completo do diol **4**, bem como, formação de vários produtos. O bruto reacional dessa reação não foi submetido à purificação por cromatografia em coluna por conter vários produtos de R_fs próximos. O bruto reacional da tentativa 4 (Tabela 1) foi submetido à purificação cromatográfica, por se apresentar mais limpo, apesar de ainda conter material de partida. No entanto, não conseguiu-se isolar o produto esperado **3**,

não havendo evidências de que este tenha sido formado, mesmo que com baixo rendimento. Entretanto, isolou-se, com baixo rendimento, um composto cujos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Figura 22) (Apêndices 4 e 5, páginas 53 e 54) indicam ser o DL-2,3,4,5-tetra-O-benzil-1-desoxi-1-bromo-scyll o -inositol (**11**), inédito na literatura.

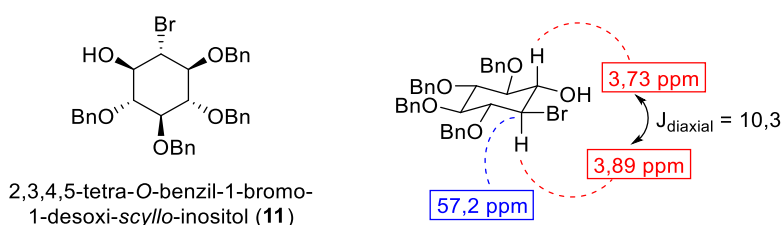


Figura 21. Estrutura proposta para o produto isolado da reação entre **4** e o ácido bromoacético, nas condições da reação de Mitsunobu, com base na análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C .

A análise do RMN de ^1H (Apêndice 4, página 52) deste produto revelou que sua estrutura é resultante da inversão de configuração do carbono C-1, sendo a constante de acoplamento dos tripletos em δ 3,89 e 3,73, referentes a H-1 e H-2, de 10,3 Hz, característica de acoplamento vicinal diaxial. Neste espectro, são também observados os sinais referentes aos grupamentos benzila (entre δ 7,25 e 7,38 e entre δ 4,95-4,80). Adicionalmente, no espectro de RMN de ^{13}C observou-se um sinal de carbono em δ 57,2, característico de carbono diretamente ligado ao bromo. Em nenhum dos espectros se encontram evidências de que a estrutura deste contenha grupo éster alfa-bromado.

O derivado **11** pode ser resultante de reação de Mitsunobu em que o íon brometo atuou como nucleófilo na etapa final de substituição. O íon brometo pode estar disponível no meio reacional, considerando sua formação pela possível reação de substituição entre o ácido bromoacético e trifenilfosfina, formando um íon fosfônio insolúvel no meio reacional e, portanto, indisponível para a etapa substituição com o substrato inositólico (Figura 23). Este processo também justifica a dificuldade encontrada para obtenção do éster desejado, **3**.

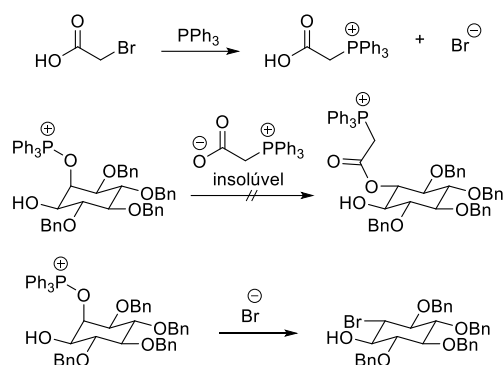
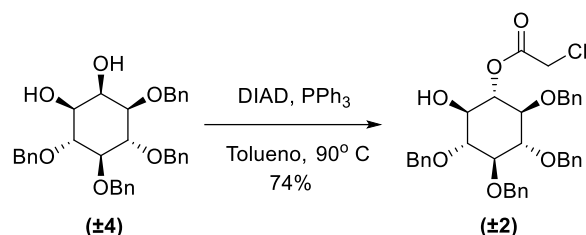


Figura 22. Proposta de reação paralela nas condições de Mitsunobu. Justificativa para obtenção de **11**.

A obtenção do éster **2**, por outro lado, foi conseguida por adaptação de metodologia descrita na literatura, em que se empregou ácido cloroacético e diferentes álcoois em condições de reação de Mitsunobu (SAÏAH; BESSODES; ANTONAKIS, 1992). O diol **4** foi submetido a reação em presença de DIAD, trifetilfosfina e ácido cloroacético, em tolueno, a 90°C (Esquema 4), fornecendo o éster de configuração *scyllo*, com 74% de rendimento.



Esquema 4. Síntese do DL-1-O-(2-cloroacetil)-2,3,4,5-tetra-O-benzil-*scyllo*-inositol (**2**).

A estrutura de **2** foi caracterizada por RMN de ^1H (Apêndice 6, página 54). O tripleto em δ 5,07 foi atribuído ao hidrogênio H-2. A constante de acoplamento de 9,5 Hz observada para este sinal corresponde a acoplamento diaxial, corroborando para determinar a configuração *scyllo* do **2** (Figura 24). Os dupletos em δ 3,76 e 3,90, com constante de acoplamento de 14,5 Hz característica hidrogênios geminais, são referentes aos hidrogênios metilênicos diastereotópicos do grupo cloroacetato.

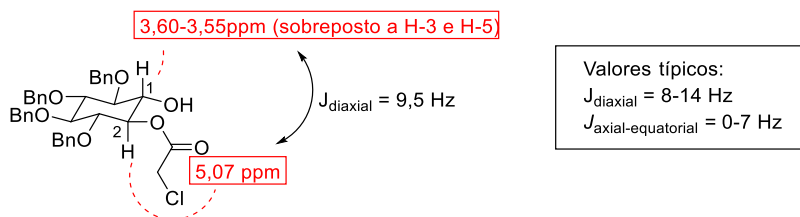
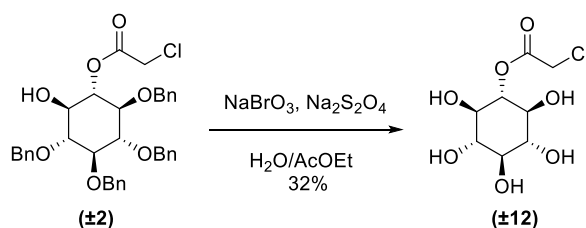


Figura 23. Caracterização estrutural de **2** por RMN de ^1H , destacando a identificação da configuração *scyllo*.

Ainda que inédito na literatura, o composto **2** já havia sido previamente sintetizado e caracterizado no nosso grupo de pesquisa (JEREZ, 2016), desta forma, sua caracterização foi feita apenas por comparação com os dados de RMN de ^1H descritos. Ressalta-se que no presente trabalho foi conseguida a otimização da metodologia de obtenção deste derivado, conquistando-se rendimentos superiores.

A desbenzilação de **4**, requerida para a obtenção do derivado desprotegido **12**, foi conduzida utilizando-se metodologia alternativa à desbenzilação clássica, por reação de redução por hidrogenação catalítica. Empregou-se um sistema reacional bifásico contendo bromato de sódio (NaBrO_3) e ditionito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), que favorecem a desbenzilação oxidativa (NIEMIETZ *et al.*, 2011). O ditionito de sódio promove a redução do bromato de sódio em ácido hipobromoso, que por sua vez participa da oxidação dos carbonos metilênicos dos grupos benzila de **2**. O Esquema 5 descreve as condições reacionais.



Esquema 5. Síntese do DL-1-O-(2-cloroacetil)-2,3,4,5-tetra-hidroxi-*scyllo*-inositol (± 2).

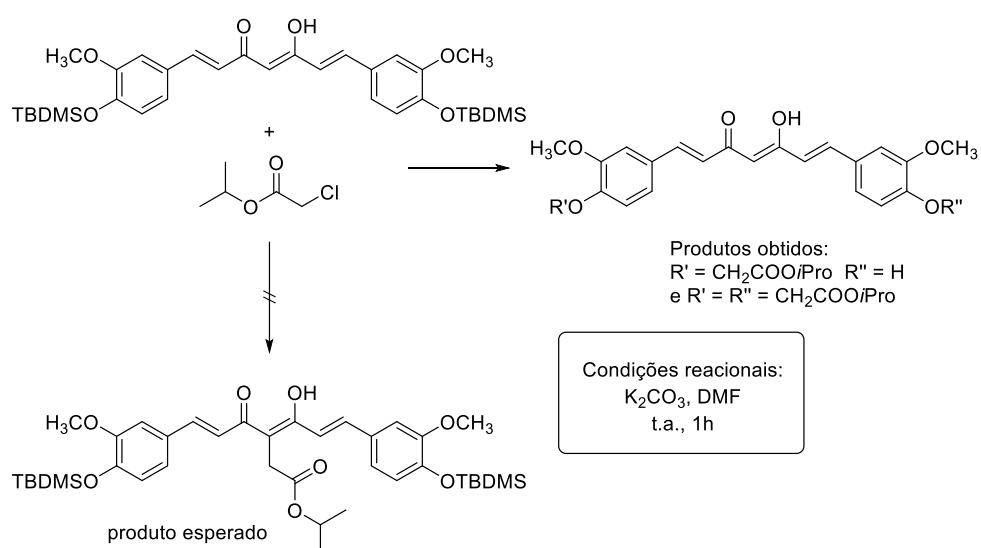
A reação de desbenzilação foi acompanhada por CCD, tendo sido observado o consumo completo do material de partida. No entanto, foi encontrada grande dificuldade durante a purificação do produto obtido. A reação ocorreu em sistema bifásico água/acetato de etila. A natureza hidrofílica do

produto poliidroxilado favoreceu sua partição para a camada aquosa do sistema, dificultando sua separação dos sais inorgânicos envolvidos no processo. Ao final do percurso de tratamento e purificação, em que se empregou coluna de exclusão por tamanho para a Cromatografia Líquida de Alta Resolução (CLAE), obteve-se **12** ainda em mistura com sais de natureza inorgânica. Sua caracterização e a estimativa de seu rendimento (32%), foram feitas por RMN de ^1H .

Em seu espectro de RMN de ^1H (Apêndice 7, página 55), observou-se a presença do sinal dos hidrogênios metilênicos em δ 3,96, bem como os sinais relativos aos hidrogênios carbinólicos. No espectro de RMN HMBC (Apêndice 9, página 56), observou-se a presença da mancha de correlação do carbono carbonílico em δ 171,9/3,96 característica de grupo éster.

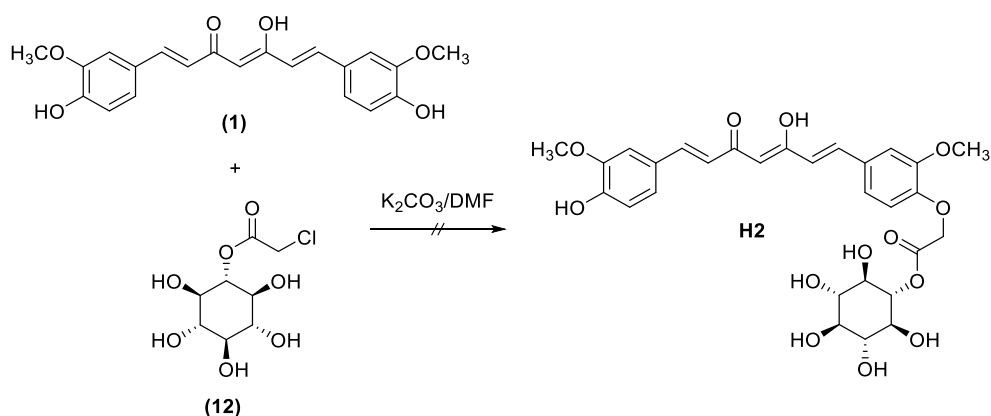
1.6 TENTATIVAS DE OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS (SCYLLO-INOSITOL)-CURCUMINA (H1 E H2)

Em estudos prévios desenvolvidos pelo grupo de pesquisa, visando a C-alkilação da curcumina, empregou-se o derivado di-OTBDMS desta e o 2-cloroacetato de isopropila (RIVERO-JEREZ, P. S., 2016) e, adversamente, foram obtidos os produtos de O-alkilação (Esquema 6).



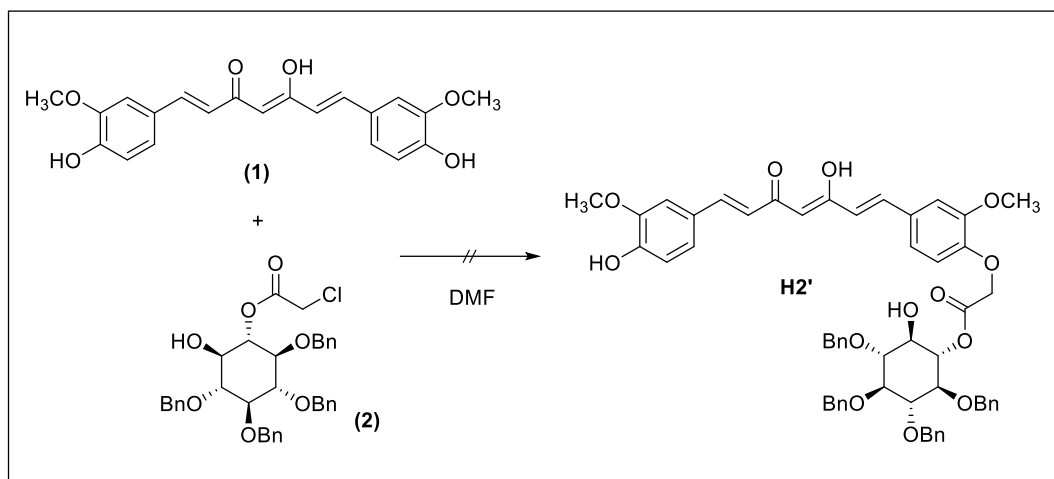
Esquema 6. Tentativa de obtenção de derivados C-alkilados da curcumina realizada por RIVERO-JEREZ (2016).

Com base nesta experiência e nas metodologias clássicas descritas para reação de Williamson, as mesmas condições reacionais (carbonato de potássio em DMF, à temperatura ambiente) foram utilizadas, no sentido de se obter o dímero **H2**, pela *O*-alquilação de hidroxila fenólica livre da curcumina pelo cloroacetato **12**. A evolução da reação foi acompanhada por CCD, esperando-se observar mancha relativa ao produto formado, uma vez que a mancha respectiva ao reagente limitante não é observável (não revela com os reagentes empregados, vanilina sulfúrica e solução de permanganato de potássio). Após 22 horas, a temperatura ambiente, e outras três a 70°C, no entanto, não houve indícios de formação do produto (Esquema 7).



Esquema 7. Condição reacional proposta para a alquilação da curcumina com 12.

Com a intenção de identificar as condições adequadas para a *O*-alquilação da curcumina, optamos por empregar um sistema mais favorável para o acompanhamento da reação por CCD. Desta forma, avaliamos diferentes condições experimentais para a reação da curcumina com composto **2**, que é bem visível por CCD, a partir da revelação com vanilina sulfúrica. As condições reacionais estudadas estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições reacionais estudadas para a alquilação da curcumina com **2**.

Tentativa	Reagentes	Resultado
1	NaH	Hidrólise de 2 /não formação de derivado <i>O</i> -alquilado da curcumina
2	K ₂ CO ₃	
3	K ₂ CO ₃ /NaI	

Todas as tentativas de *O*-alquilação identificadas na Tabela 2 foram acompanhadas por CCD, esperando-se a formação do composto H2'. Após o consumo total do éster **2**, o meio reacional foi extraído com éter etílico. Em todos os casos, os brutos reacionais apresentaram o mesmo perfil cromatográfico, indicando a formação de um produto único. Os espectros de RMN de ¹H deste produto, no entanto, indicam que seja o scyllo-inositol, resultante da hidrólise de **2** ocorrida nessas condições reacionais.

1.7 OBTENÇÃO DE HÍBRIDO ÁCIDO FERÚLICO-SCYLLO-INOSITOL (H3)

O ácido ferúlico é um produto natural que pode ser obtido por síntese a partir da vanilina. Uma das metodologias clássicas corresponde à condensação de Knoevenagel modificada por Doebner, que permite a obtenção de compostos α,β -insaturados pela condensação de aldeídos com ácido malônico (FREEMAN, 1980; KHARE; PANDEY; RUPANWAR, 2019). A Figura

25 apresentada a seguir descreve a condensação de Knoevenagel e a modificação de Doebner.

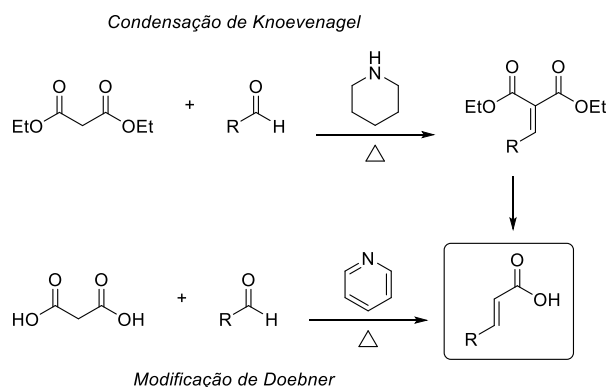
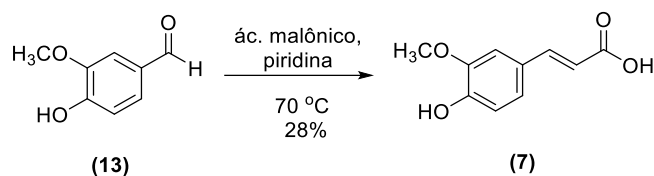
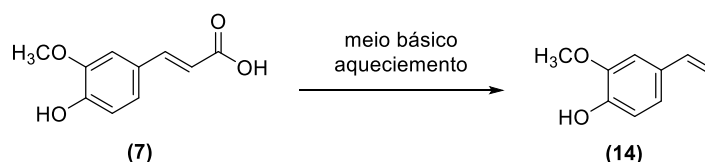


Figura 24. Condições da Condensação de Knoevenagel e a modificação de Doebner.

A partir do emprego dessa metodologia, a 70-75 °C, o ácido ferúlico foi obtido com 29% de rendimento (Esquema 8). O baixo rendimento deste processo se deve, em parte, à degradação de **7** nas condições reacionais. Observou-se que reações conduzidas em temperaturas ainda mais altas (90-95 °C), sugeridas na literatura, favorecem a formação do produto de descarboxilação do ácido ferúlico, o 2-metoxi-4-vinil-fenol (**14**) (Esquema 9).



Esquema 8. Síntese do ácido ferúlico pela metodologia de Doebner.



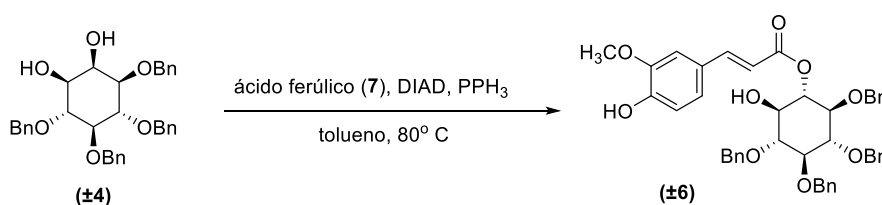
Esquema 9. Reação adversa de descarboxilação do ácido ferúlico, ocorrente nas condições empregadas para sua obtenção.

O mecanismo para a formação do ácido ferúlico (**7**) pelo emprego do método de Doebner, considera a remoção do hidrogênio α às carbonilas do ácido malônico por reação pela base presente no meio reacional,

favorecendo a formação do íon enolato correspondente. A reação de adição do íon enolato à carbonila da vanilina resulta no aldol, que forma o ácido ferúlico por descarboxilação e desidratação subseqüentes, favorecidas pelo meio básico e aquecimento.

No espectro de RMN de ^1H de **7** (Apêndice 10, página 56) foram observados os sinais referentes aos hidrogênios da carboxila δ 12,11, da hidroxila em δ 9,52 da metoxila em δ 3,80. Os sinais dos hidrogênios olefínicos foram observados em δ 7,48 e 6,35 (3J 15,9 Hz), caracterizando a estereoquímica *trans* da dupla ligação. Os sinais dos hidrogênios aromáticos foram observados em δ 7,27, 7,07 e 6,78.

O acoplamento entre o ácido ferúlico **7** e o diol **4**, por reação de Mitsunobu, foi conduzido sob as condições otimizadas para a obtenção do éster **6**, conforme o Esquema 9.



Esquema 10. Condições reacionais para a obtenção de ± 6 .

As condições empregadas não permitiram o consumo completo do material de partida, o diol **4**. Por CCD, os perfis cromatográficos das substâncias **4** e **6** são bastante semelhantes em diferentes sistemas de solventes, dificultando a identificação do término da reação. Da mesma forma, a cromatografia em coluna empregada na purificação do produto não permitiu a separação completa destas substâncias. Por ora, o derivado **6** foi obtido em duas frações, uma em mistura com o diol **4**, na proporção 4:1 e outra em mistura com o ácido ferúlico (**7**), na proporção 1:3,2. As Figuras 25 e 26 apresentam os espectros de RMN de ^1H das respectivas misturas.

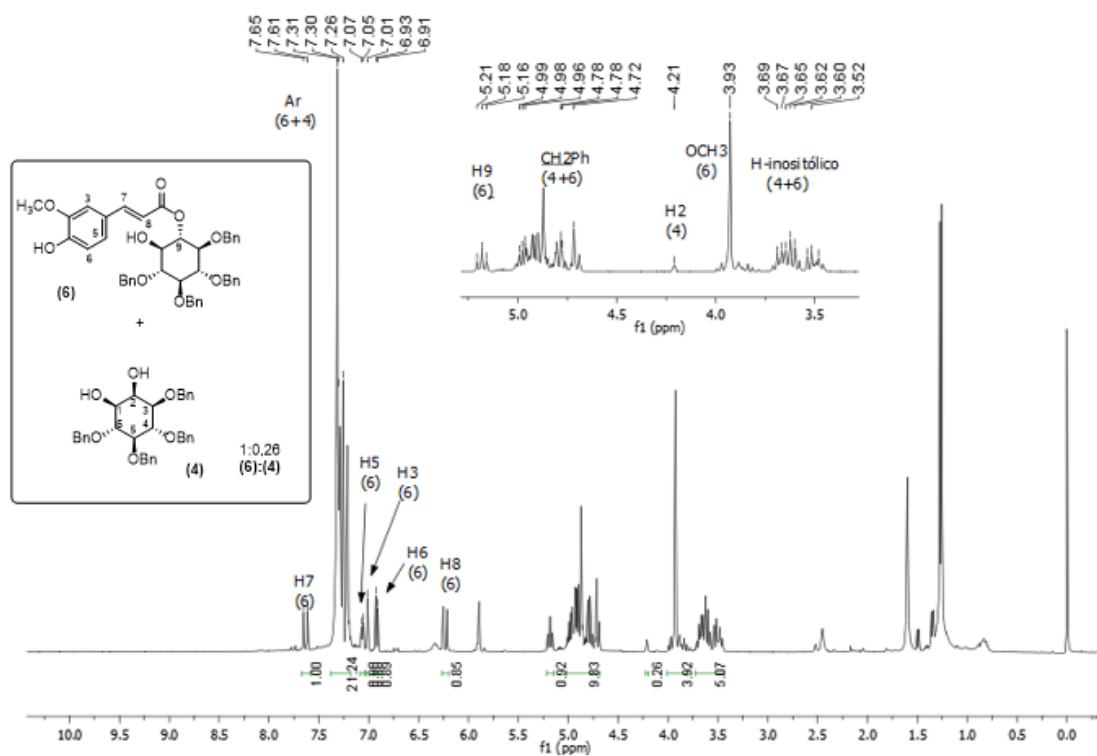


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da mistura **6/4** (proporção 4:1).

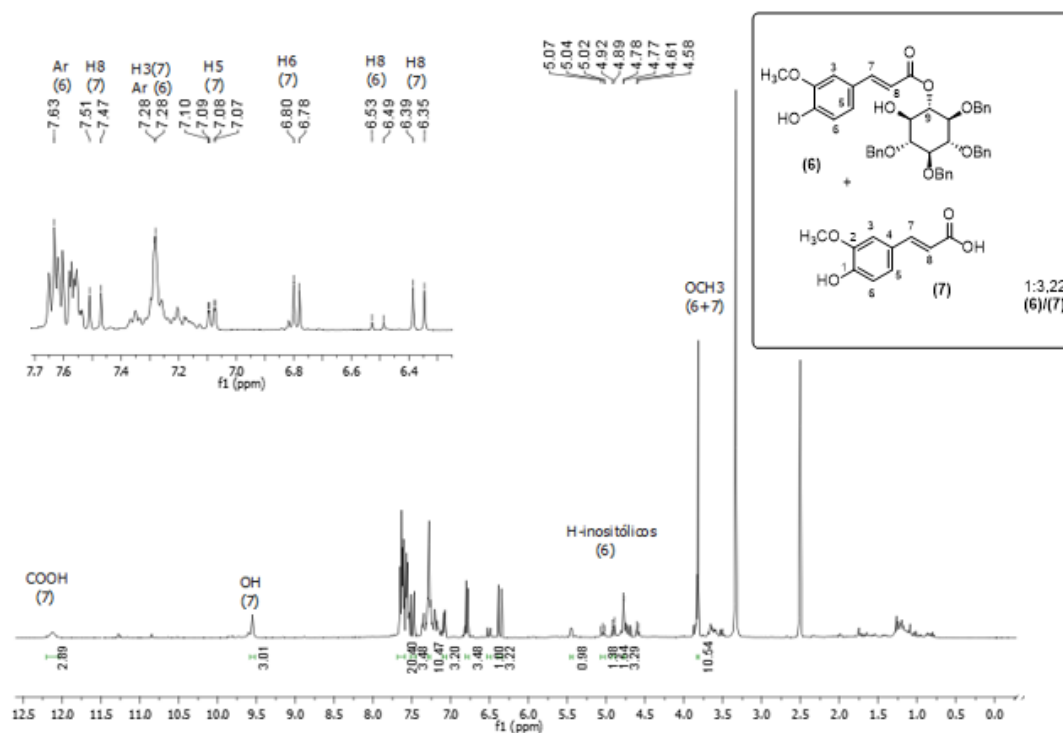


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (DMSO-d_6 , 400 MHz) da mistura **6/7** (proporção 1:3,2).

Nos espectros de RMN de ^1H da mistura **6/4** (em CDCl_3) (Figura 25), caracterizam a estrutura do éster **6**: o tripleto em δ 5,18 (J 9,6 Hz) referente a H-9, os sinais em δ 7,65 e 6,23, referentes aos hidrogênios olefínicos, os sinais em δ 7,07, 7,02 e 6,92 referentes aos hidrogênios aromáticos, além dos sinais dos hidrogênios carbinólicos em δ 3,69 a 3,52.

Por sua vez, no espectro de RMN de ^1H da mistura **6/7**, em $\text{DMSO-}d_6$ (Figura 26), o sinal em δ 6,51 referente ao H-8 (J 15,7 Hz), além dos sinais dos hidrogênios carbinólicos em δ 4,80, caracterizam a presença de **6**. Devido à maior proporção de ácido ferúlico na mistura foi difícil a identificação de todos os sinais referentes ao composto **6**.

Considerando que a massa da mistura obtida com o diol (mistura **6/4**) foi de 83,0 mg e a da mistura com o ácido ferúlico (**6/7**), de 127,0 mg, estimou-se que a massa de **6** obtida nesta etapa foi de 140 mg (28%).

A mistura de **6** com ácido ferúlico (**7**) foi submetida à extração com solução saturada de bicarbonato de sódio. O acompanhamento por CCD indica a remoção completa do ácido ferúlico (**7**) dessa mistura, resultando em 72 mg de **6**.

4 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

A metodologia descrita por Chung et al. (1999) foi reproduzida com relativo sucesso para a obtenção do diol tetrabenzilado **4**, a partir do *myo*-inositol. O rendimento global para essa etapa do procedimento foi de 28%, enquanto o equivalente da literatura foi obtido com 40%.

O éster bromado derivado do inositol (**3**) não foi obtido nas condições empregadas. Logo, a reação para obtenção de **H1** proveniente da reação de alquilação entre curcumina (**1**) e **3** não foi realizada. Por outro lado, o emprego da reação de Mitsunobu permitiu a obtenção do éster clorado derivado do inositol (**2**), bem como, a desbenzilação oxidativa levou à obtenção de **12**. No entanto, devido às dificuldades encontradas no acompanhamento da reação de alquilação entre curcumina e **12**, o híbrido **2** não foi obtido. Estudos da reação de alquilação entre curcumina e o éster clorado, ainda benzilado (**2**), levaram a conclusão que o meio reacional estava hidrolisando o composto **2**, não sendo possível a formação do produto esperado (**H2'**).

O acoplamento entre o ácido ferúlico **7** e o diol **4**, por reação de Mitsunobu, resultou no precursor de **H3** (o derivado **6**), em baixo rendimento (28%). O processo de otimização da purificação de **6**, como também, sua desbenzilação oxidativa são previstas. Uma vez obtido **H3**, prevê-se o estudo de interação do mesmo com o peptídeo A β por microscopia eletrônica de varredura.

5 METODOLOGIA

5.1 MÉTODOS DE SECAGEM E PURIFICAÇÃO DE REAGENTES E SOLVENTES

O solventes tetrahidrofurano (THF) e tolueno foram destilados na presença de sódio metálico e benzofenona como indicador e armazenados sob peneira molecular ativada (3A). A dimetilformamida (DMF) foi seca com sulfato de magnésio e armazenada sob peneira molecular ativada (3A) por pelo menos 72 horas. O dimetilsufóxido (DMSO) foi armazenado sob peneira molecular ativada (3A) por um período mínimo de 72h. O diisopropilazodicarboxilato (DIAD) foi purificado por destilação simples. O carbonato de potássio (K_2CO_3) foi macerado e colocado em um balão de fundo redondo. Foi submetido a alto vácuo e agitação vigorosa a 140 °C por 24 horas, sendo utilizado logo após secagem. O ácido bromoacético foi solubilizado em éter etílico, sendo a solução eluída em coluna de alumina ativada em mufla. O éter etílico foi removido no rotaevaporador.

5.2 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

O monitoramento das reações foi feito através de cromatografia de camada delgada (Alugram, sílica gel 60 mesh), reveladas em luz ultravioleta (364 nm), solução de vanilina sulfúrica ou solução de permanganato de potássio.

As purificações das misturas obtidas de procedimentos sintéticos foram realizadas em coluna de sílica gel 40-63 μm (sílica *flash*) (Merck®) como fase estacionária.

5.2.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

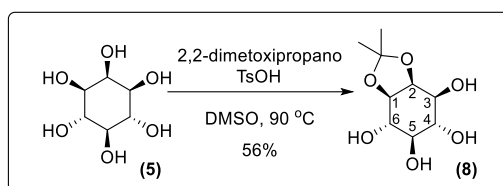
A purificação por CLAE foi efetuada utilizando o cromatógrafo Shimadzu LC-AD, equipado com detector UV SPD-10A. A coluna utilizada foi Shodex GS-310 2G, para cromatografia no modo preparativo. Água foi utilizada como fase móvel com vazão de 3 mL.min⁻¹. O comprimento de onda de detecção foi de 210 nm. As alíquotas injetadas foram, previamente, solubilizadas parcialmente em 1,5 mL de uma mistura água/acetonitrila (1:1) e filtradas em membrana TPP de polietersulfona (PES) 0,22 μm , diâmetro 33 mm.

5.3 CARACTERIZAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H , 400,13 MHz), de carbono 13 (RMN de ^{13}C , 100,61 MHz) e os mapas de correlação homo- e heteronucleares (COSY, HSQC e HMBC) foram adquiridos em um espectrômetro Bruker Advance III operando com uma sonda com detecção direta de 5 mm (BBO) a 298 K, do Laboratório de Multiusuários de Espectroscopia (ESPEC) da Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa (CMLPQ) da Universidade Estadual de Londrina. A multiplicidade dos sinais de RMN de ^1H foram denotadas como simpleto (s), duplete (d), tripleto (t), quarteto (q), quinteto (qui), sexteto (sex), septeto (sep), duplo duplete (dd) e múltiplo (m), enquanto que as respectivas constantes de acoplamento (J) foram expressadas em hertz (Hz).

5.4 PROCEDIMENTOS SINTÉTICOS

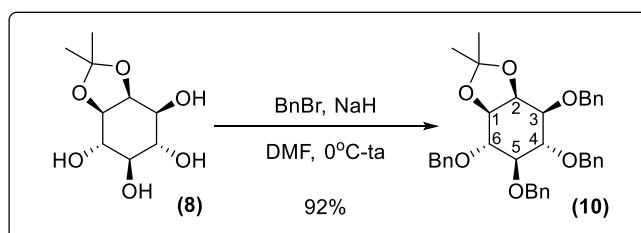
5.4.1 Obtenção do DL-1,2-O-isopropilideno-*myo*-inositol (CHUNG *et al.*, 1999)



Em um balão de fundo redondo foram adicionados o *myo*-inositol (5) (1,00 g; 5,55 mmol) e o dimetilsulfóxido seco (3,2 mL). Seguidamente, adicionou-se o ácido *p*-toluenosulfônico ($0,17 \cdot 10^{-1}$ g; $0,98 \cdot 10^{-2}$ mmol), o 2,2-dimetoxipropano (1,6 mL, 1,36 g, 13 mmol). O sistema foi fechado e mantido sob atmosfera inerte a 90°C por 30 minutos. A solução reagente foi então resfriada até temperatura ambiente e agitada por 2 horas com etanol (4,0 mL) e éter etílico (20,0 mL). Trietilamina foi adicionada ao meio reacional e manteve-se a agitação *overnight*. A mistura foi filtrada a vácuo e o precipitado lavado com uma solução metanol/hexano (1:5). O produto da reação foi extraído à quente em etanol. Após filtração para separação do material de partida remanescente, o filtrado foi deixado em repouso, obtendo-se, por recristalização, o cetal **8** (0,69 g; 56%), como um sólido branco.

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) δ (ppm): 4,52 (1H; t; J 4,6; H-2), 4,10 (1H; dd; J 4,6; J 7,9; H-1), 3,88 (1H; dd; J 4,4 J 9,5; H-3), 3,64 (2H; m; H-4 e H-6), 3,30 (1H; t; J 9,9; H-5), 1,58 (3H; s; CH_3), 1,44 (3H; s; CH_3).

5.4.2 Obtenção do DL-O-1,4,5,6-tetra-O-benzil-2,3-isopropilideno-*myo*-inositol (CHUNG *et al.*, 1999)

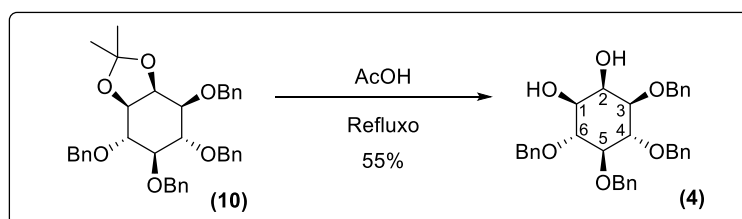


Em um balão de fundo redondo foram adicionados hidreto de sódio (0,73 g; 29,01 mmol; 95%), dimetilformamida seca (20,0 mL) e o cetal **8** (0,397 g; 1,80 mmol). O sistema foi fechado e, sob atmosfera inerte, agitação magnética e banho de gelo, adicionou-se brometo de benzila (2,2 mL, x 3,14 g, 18,3 mmol) à mistura reacional. Após 30 minutos sob agitação em banho de gelo, a mistura reacional foi deixada à temperatura ambiente por 20 horas. A mistura reacional foi então diluída em acetato de etila e extraída com água e com solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida. Os produtos obtidos foram submetidos à purificação por coluna cromatográfica utilizando-se acetato de etila/hexano 1,5:9,5, como eluente. O derivado tetrabenzilado **10** (0,97 g; 92%) foi obtido como um óleo.

Rf 0,26 (eluente: acetato de etila/hexano 1,5:9,5; revelador: vanilina sulfúrica)

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,27-7,37 (20H; m; Ar), 4,87-4,72 (8H; m; CH_2Ph), 4,27 (1H; dd; J 3,9 J 5,7; H-2), 4,11 (1H; dd; J 6,8 J 5,7; H-1), 3,94 (1H; t; J 8,7, H-4), 3,80 (1H; dd; J 6,8 J 9,4; H-6), 3,70 (1H; dd; J 3,8 J 8,7; H-3), 3,42 (1H; t; J 9,1; H-5), 1,51 (3H; s; CH_3), 1,35 (3H; s; CH_3).

Lit.:RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,24-7,39 (20H; m; Ar), 4,88-4,72 (8H; m; CH_2Ph), 4,27 (1H; dd; J 3,8 J 5,5; H-2), 4,10 (1H; app. t; J 6,2; H-1), 3,95 (1H; t; J 8,6, H-4), 3,79 (1H; dd; J 6,9 J 9,4; H-6), 3,70 (1H; dd; J 3,8 J 8,8; H-3), 3,42 (1H; t; J 9,0; H-5), 1,51 (3H; s; CH_3), 1,35 (3H; s; CH_3) (CHUNG *et al.*, 1999).

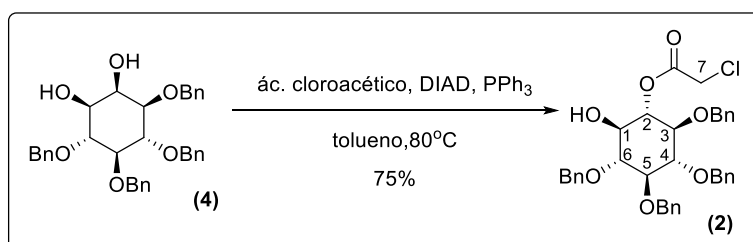
5.4.3 Obtenção do DL-1,4,5,6-tetra-O-benzil-*myo*-inositol (CHUNG *et al.*, 1999)

Em um balão de fundo redondo aqueceu-se o derivado **10** (0,946 g; 1,63 mmol) em ácido acético glacial (16,2 mL) a 100 °C, durante 4 horas. O ácido acético foi retirado do meio reacional por destilação à pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica utilizando-se acetato de etila/hexano (3:2) como fase móvel. O diol **4** (0,49 g; 55%) foi obtido como um sólido branco.

Rf 0,6 (eluente: acetato de etila/hexano 1:1; revelador: vanilina sulfúrica).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,33- 7,30 (20H; m; Ar), 4,96-4,71 (8H; m; CH₂Ph), 4,20 (1H; t; J 2,6; H-2), 3,97 (1H; t; J 9,6; H-4), 3,84 (1H; t; J 9,5; H-6), 3,50-3,45 (3H; m, H-1; H-3; H-5).

Lit.: RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,35- 7,25 (20H; m; Ar), 4,97-4,71 (8H; m; CH₂Ph), 4,21 (1H; br. s; H-2), 3,97 (1H; t; J 9,5; H-4), 3,84 (1H; t; J 9,5; H-6), 3,51-3,44 (3H; m, H-1; H-3; H-5), 2,48 (1H; s; OH), 2,41 (1H; d; J 4,5; OH)(CHUNG *et al.*, 1999).

5.4.4 Obtenção do DL-1-O-(2-cloroacetil)-2,3,4,5-tetra-O-benzil-*scyllo*-inositol

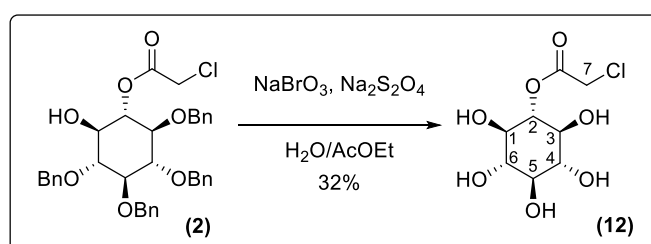
A uma solução do diol **4** (0,20 g; 0,37 mmol) em tolueno seco (8 mL), sob atmosfera de nitrogênio, foi adicionada trifetilfosfina (0,20 g; 0,76 mmol) e ácido cloroacético (0,08 g; 0,85 mmol). Sucessivamente, o diisopropil azodicarboxilato (DIAD) (0,15 mL; 0,74 mmol) foi adicionado, gota à gota, à mistura reagente, sendo esta então aquecida a 80 °C e deixada sob agitação durante 2 horas. O solvente da mistura reacional foi removido por destilação à

pressão reduzida. O resíduo obtido submetido à purificação por cromatografia em coluna, empregando-se como eluente diclorometano/metano 99:1. O éster **2** (0,17 g; 75%) foi obtido como um sólido branco.

Rf 0,5 (eluente: 1% metanol/diclorometano; revelador: vanilina sulfúrica)

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,33- 7,26 (20H; m; Ar), 5,07 (1H; t; J 9,5; H-2), 4,96- 4,83 (6H; m; CH_2Ph), 4,73 (1H; d; J 11,5; CH_2Ph), 4,65 (1H; d; J 11,5; CH_2Ph), 3,90 (1H; d; J 14,5; H-7), 3,76 (1H; d; J 14,5; H-7), 3,63 (1H; t; J 9,3), 3,60-3,55 (3H; m), 3,45 (1H; t; J 9,3), 2,29 (1H; s; OH).

5.4.5 Obtenção do DL-1-O-(2-cloroacetil)-scyllo-inositol



Uma solução do éster **2** (0,10 g; 0,162 mmol) em 2,1 mL de acetato de etila foi preparada e posteriormente misturada à solução de bromato de sódio (0,11 g; 0,73 mmol) em água (1,6 mL). O sistema heterogêneo foi agitado durante 10 minutos. Uma terceira solução, contendo ditonito de sódio (0,10 g; 0,65 mmol) em 3,2 mL de água, foi adicionada à mistura lentamente, sempre sob agitação. Após 1 hora, adicionou-se 2,5 mL de tiosulfato de sódio 10% (m/v). O acetato de etila foi removido por destilação sob pressão reduzida. A fim de remover grande parte dos íons inorgânicos, a mistura reacional remanescente foi submetida a coluna de sílica gel (40-63 μm , Merck®), utilizando-se como fase móvel solução acetonitrila/água 8:2. O resíduo obtido após destilação do solvente sob pressão reduzida, seguida de liofilização, foi submetido à purificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em coluna de exclusão (Shodex®, GS-310P), empregando-se água como eluente. foi então utilizada para purificação do composto **12** em um tempo de retenção de 37 min. O derivado **12** (0,01 g; 32 %) foi obtido em mistura com sais inorgânicos, sendo seu rendimento estimado por RMN de ^1H , utilizando-se 1,4-dioxano como referência interna.

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) δ (ppm): 4,82 (1H; t; J 9,6; H-2), 3,96 (2H; s; H-7), 3,53 (2H; t; J 9,6; H-1; H-3), 3,40-3,29 (3H; m; H-4; H-5; H-6), **HSQC** (400 MHz,

D₂O δ (ppm): 4,82/76,8 (H-2/C-2), 3,96/36,7 (H-7/C-7), 3,53/71,5 (H-1;H-3/C-1;C-3), 3,40-3,29/72,9 (H-4; H-5; H-6/ C-4; C-5; C-6) **HMBC** (400 MHz, D₂O) δ (ppm): 4,82/71,5 (H-2/C-1;C-3), 4,82/170,9 (H-2/C=O) 3,96/170,9 (H-7/C=O), 3,53/76,8 (H-1;H-3/C-2), 3,53/72,9 (H-1;H-3/C-4;C-6), 3,40-3,29/71,5 (H-4; H-5; H-6/C-2;C-3).

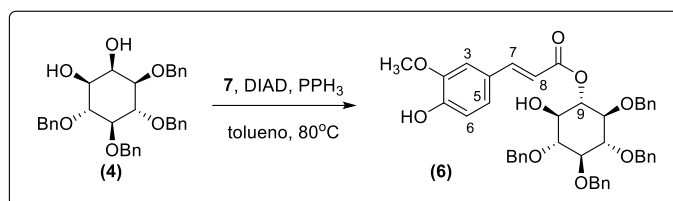
5.4.6 Obtenção do ácido (2E)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-propenóico



Em um balão de fundo redondo agitou-se uma mistura de vanilina (**13**) (0,67 g; 4,36 mmol), piridina (10 mL) e piperidina (1,0 mL; 10,1 mmol). Adicionou-se em seguida ácido malônico (1,00 g; 9,6 mmol). A reação foi aquecida a 70° C por duas horas. Após o resfriamento até temperatura ambiente, a mistura reacional foi vertida em gelo e acidificada até pH 2-3 com ácido clorídrico concentrado. O precipitado formado, um sólido amarelo, foi filtrado à vácuo e caracterizado como **7** (0,25 g; 29%).

R_f 0,3 (eluente: acetato de etila/hexano 3:2; revelador: permanganato de potássio)

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 12,11 (1H; s; COOH), 9,52 (1H; s; OH) 7,48 (1H; d; *J* 15,9; H-7), 7,27 (1H; d; *J* 1,7; H-3), 7,07 (1H; dd; *J* 1,7, 8,2; H-5), 6,78 (1H; d; *J* 8,2; H-6), 6,35 (1H; d; *J* 15,9; H-8), 3,80 (3H; s; OCH₃). **RMN de ¹³C** (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 167,9 (C=O), 149,0 (C-1), 147,9 (C-6), 144,5 (C-7), 125,8 (C-4), 122,8 (C-3), 115,6 (C-8), 115,5 (C-2), 111,2 (C-5), 55,7 (CH₃).

5.4.7 Obtenção do ferulato de DL-1,4,5,6-tetra-*O*-benzil-*myo*-inositila

A uma solução do diol **4** (0,15 g; 0,28 mmol) em tolueno seco (10 mL), sob atmosfera de nitrogênio, foram adicionados trifenilfosfina (0,14 g; 0,53 mmol) e ácido ferúlico (0,1 g; 0,51 mmol). Sucessivamente, o diisopropil azodicarboxilato (DIAD) (0,12 mL; 0,59 mmol) foi adicionado, gota à gota, sendo a mistura então aquecida a 80°C e deixada sob agitação durante 6 horas. O solvente da mistura reacional foi removido por destilação à pressão reduzida. O resíduo obtido foi submetido a cromatografias em coluna, sucessivas, empregando-se como eluente, primeiramente, diclorometano/metanol 99:1 e, posteriormente, hexano/acetato de etila 3:2. O éster **6** foi obtido como duas misturas, uma juntamente com o diol **4** (proporção 4:1) e outra com o ácido ferúlico (**7**) (proporção 1:3,2) com rendimento total estimado de 28,3% (140 mg). O ácido ferúlico (**7**) foi extraído da mistura com solução saturada de bicarbonato de sódio.

R_f 0,3 (eluente: hexano/acetato de etila 3:2; revelador: vanilina sulfúrica).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,63 (1H; d; *J* 15,9; H-7), 7,32 – 7,22 (20H; m; Ar), 7,07 (1H; dd; *J* 1,9 *J* 8,4; H-5), 7,01 (1H; d; *J* 1,9; H-3), 6,92 (1H; d; *J* 8,4; H-6); 6,23 (1H; d; *J* 15,9; H-8), 5,86 (1H; s; OH), 5,18 (1H; t; *J* 9,7; H-9), 4,96 – 4,69 (8H; m; CH₂Ph); 3,93 (3H; s; CH₃), 3,71 – 3,46 (5H; m; H-inositolico).

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, Rahul *et al.* Effect of curcumin on brain insulin receptors and memory functions in STZ (ICV) induced dementia model of rat. *Pharmacological Research*, v. 61, p. 247–252, 2010.
- ARDIANSYAH *et al.* Novel effects of a single administration of ferulic acid on the regulation of blood pressure and the hepatic lipid metabolic profile in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 2825–2830, 2008.
- BANERJEE, Rona. Effect of curcumin on the metal ion induced fibrillization of Amyloid- β peptide. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 117, p. 798–800, 2014.
- BAUM, Larry *et al.* Six-month randomized placebo-controlled, double-blind, pilot clinical trial of curcumin in patients with alzheimer disease. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, v. 28, n. 1, p. 110–113, 2008.
- BELKACEMI, Abdenour *et al.* Challenges associated with curcumin therapy in Alzheimer disease. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, v. 13, n. November 2011, p. e34, 2011.
- BROUET, Isabelle; OHSHIMA, Hiroshi. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 206, n. 2, p. 533–540, 1995.
- BRUGGINK, Kim A; MAREIKE, M. Methods for Analysis of Amyloid- B Aggregates. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 28, p. 735–758, 2011.
- CHENG, Gang *et al.* Resveratrol-maltol hybrids as multi-target-directed agents for Alzheimer ' s disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 26, n. 22, p. 5759–5765, 2018.

CHUNG, Sung Kee *et al.* Synthesis of all possible regioisomers of scyllo-inositol phosphate. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 7, n. 11, p. 2577–2589, 1999.

CREED, Meaghan C.; MILGRAM, Norton W. Amyloid-modifying therapies for Alzheimer's disease: Therapeutic progress and its implications. *Age*, v. 32, n. 3, p. 365–384, 2010.

CUI, Lili *et al.* Ferulic Acid Inhibits the Transition of Amyloid-B 42 Monomers to Oligomers but Accelerates the Transition from Oligomers to Fibrils. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 37, p. 19–28, 2013.

DE JESUS DE PAULA, Vanessa R *et al.* Amyloid-beta, tau protein or both? *Dementia & Neuropsychologia*, v. 3, n. 3, p. 188–194, 2009.

DRACHMAN, David A.; LEAVITT, Janet. Human memory and the cholinergic system: a relationship to aging? *Archives of Neurology*, v. 30, n. 2, p. 113–121, 1974.

FENILI, Daniela *et al.* Properties of scyllo – inositol as a therapeutic treatment of AD-like pathology. *Journal of Molecular Medicine*, v. 85, p. 603–611, 2007.

FISH, Paul V. *et al.* New approaches for the treatment of alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 29, n. 2, p. 125–133, 2018.

FISH, Paul V *et al.* New approaches for the treatment of Alzheimer ' s disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v. 29, n. 2, p. 125–133, 2019.

FREEMAN, Fillmore. Properties and Reactions od Ylidenemalononitriles. *Chemical Reviews*, v. 80, p. 329–350, 1980.

HAMPEL, Harald *et al.* The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. *Brain*, v. 141, n. 7, p. 1917–1933, 2018.

HUDSON, E Ann *et al.* Characterization of Potentially Chemopreventive Phenols in extracts of brown rice that inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, v. 9, p. 1163–1170, 2000.

JEREZ, Paula Sofía Rivero. *Estudos Visando a Síntese e Avaliação de um Híbrido Curcumina-inositol como Inibidor da Agregação da Proteína B-amilóide*. 2016. Universidade Estadual de Londrina, 2016.

JUNG, Eun Hee *et al.* Hypoglycemic effects of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in C57BL / KsJ- db / db Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 9800–9804, 2007.

JUSZCZYK, Paulina; KOŁODZIEJCZYK, Aleksandra S; GRZONKA, Zbigniew. Circular dichroism and aggregation studies of amyloid β (11 – 28) fragment and its variants. *Acta Biochimica Polonia*, v. 52, n. 2, p. 425–431, 2005.

KHARE, Richa; PANDEY, J; RUPANWAR, Ruchi. The importance and applications of knoevenagel reaction (brief review). *Oriental Journal of Chemistry*, v. 35, n. 1, p. 423–429, 2019.

KIKUGAWA, Masaki *et al.* Water-soluble ferulic acid derivatives improve amyloid- β -induced neuronal cell death and dysmnesia through inhibition of amyloid- β aggregation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 80, n. 3, p. 547–553, 2015.

KIM, Hee *et al.* Effects of Naturally Occuring Compounds on Fibril Formation and Oxidative Stress of B-Amyloid. *Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, p. 8537–8541, 2005.

LASHLEY, Tammarny *et al.* Molecular biomarkers of Alzheimer ' s disease : progress and prospects. *The Company of Biologists*, v. 11, p. 1–9, 2018.

LEE, Yun Suk *et al.* Small molecules that protect against B-amyloid-induced cytotoxicity by inhibiting aggregation of B-amyloid. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 20, p. 4921–4935, 2012.

LI, Yujie *et al.* Design, synthesis and evaluation of rivastigmine and curcumin hybrids as site-activated multitarget-directed ligands for Alzheimer's disease therapy. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 22, n. 17, p. 4717–4725, 2014.

LIPTON, Stuart; ROSENBERG, Paul. Excitatory amino acids as a final common pathway do neurologic disorders. *Mechanisms of Disease*, v. 330, n. 9, p. 613–622, 1994.

MA, Keran; THOMASON, Lysie A M; MCLAURIN, Joanne. Scyllo-inositol, preclinical, and clinical data for Alzheimer's disease. *Advances in Pharmacology*, v. 64, p. 177–212, 2012.

MACLEOD, R *et al.* The role and therapeutic targeting of α -, β - and γ -secretase in Alzheimer's disease. *Future Science*, v. 88, n. 6, p. 607–617, 2015.

MAKIN, Simon. The Amyloid Hypothesis on Trial. *Nature*, v. 559, p. 4–7, 2018.

MCLAURIN, Joanne *et al.* Cyclohexanehexol inhibitors of A β aggregation prevent and reverse Alzheimer phenotype in a mouse model. *Nature Medicine*, v. 12, n. 7, p. 801–808, 2006.

MCLAURIN, Joanne *et al.* Inositol Stereoisomers Stabilize an Oligomeric Aggregate of Alzheimer Amyloid β Peptide and Inhibit A β -induced Toxicity . v. 275, n. 24, p. 18495–18502, 2000a.

MCLAURIN, Joanne *et al.* Inositol stereoisomers stabilize an oligomeric aggregate of alzheimer amyloid b peptide and inhibit a β -induced toxicity. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 275, n. 24, p. 18495–18502, 2000b.

MORSY, Ahmed; TRIPPIER, Paul C. Amyloid-Binding Alcohol Dehydrogenase

(ABAD) Inhibitors for the Treatment of Alzheimer's Disease. *Journal of medicinal chemistry*, p. acs.jmedchem.8b01530, 2018.

MOUSSA, Charbel *et al.* Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2017.

NIEMIETZ, Mathaus *et al.* Selective oxidative debenzoylation of mono- and oligosaccharides in the presence of azides. *Chemical Communications*, v. 47, p. 10485–10487, 2011.

NITZ, Mark *et al.* Modulation of amyloid-beta aggregation and toxicity by inosose stereoisomers. *FEBS Journal*, v. 275, n. 8, p. 1663–1674, 2008.
Numbering of atoms in myo-inositol. *The Biochemical Journal*, v. 258, p. 1–2, 1989.

O'BRIEN, Richard J.; WONG, Philip C. Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. *Annual Review of Neuroscience*, v. 12, n. 3, p. 173–189, 2011.

ONO, Kenjiro *et al.* Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's β -amyloid fibrils in vitro. *Journal of Neuroscience Research*, v. 75, n. 6, p. 742–750, 2004.

ONO, Kenjiro; HIROHATA, Mie; YAMADA, Masahito. Ferulic acid destabilizes preformed B-amyloid fibrils in vitro. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 336, p. 444–449, 2005.

PETERSEN, Ronald *et al.* Vitamin E and donepezil for the treatment of mild cognitive impairment. *The New England Journal of Medicine*, v. 352, n. 23, p. 2379–2388, 2005.

POSPICH, By Sabrina; RAUNSER, Stefan. The molecular basis of Alzheimer's plaques. v. 358, n. 6359, p. 45–47, 2017.

POSTINA, Rolf. A Closer Look at alpha-Secretase. *Current Alzheimer Research*, v. 5, p. 179–186, 2008.

PRATICÒ, Domenico. Peripheral biomarkers of oxidative damage in Alzheimer's disease: The road ahead. *Neurobiology of Aging*, v. 26, n. 5, p. 581–583, 2005.

RINGMAN, John M *et al.* Oral curcumin for Alzheimer ' s disease : tolerability and efficacy in a 24-week randomized , double blind , placebo-controlled study. *Alzheimer's Research & Therapy*, v. 4, n. 5, p. 43–50, 2012.

SAÏAH, Mohamed; BESSODES, Michel; ANTONAKIS, Kostas. The use of chloroacetic acid in the mitsunobu reaction. *Tetrahedron Letters*, v. 33, n. 30, p. 4317–4320, 1992.

SAINI, Rajneet Kaur *et al.* Insights into the inhibitory mechanism of a resveratrol and clioquinol hybrid against A β 42 aggregation and protofibril destabilization : A molecular dynamics simulation study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, v. 37, n. 12, p. 3183–3197, 2019.

SAULNIER, Luc; THIBAUT, Jean-François. Ferulic acid and diferulic acids as components of sugar-beet pectins and maize bran. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 79, p. 396–402, 1999.

SCHMITT, Beate *et al.* Combination therapy in Alzheimer's disease: A review of current evidence. *CNS Drugs*, v. 18, n. 13, p. 827–844, 2004.

SELKOE, Dennis J. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer ' s disease. v. 399, n. June, p. 23–31, 1999.

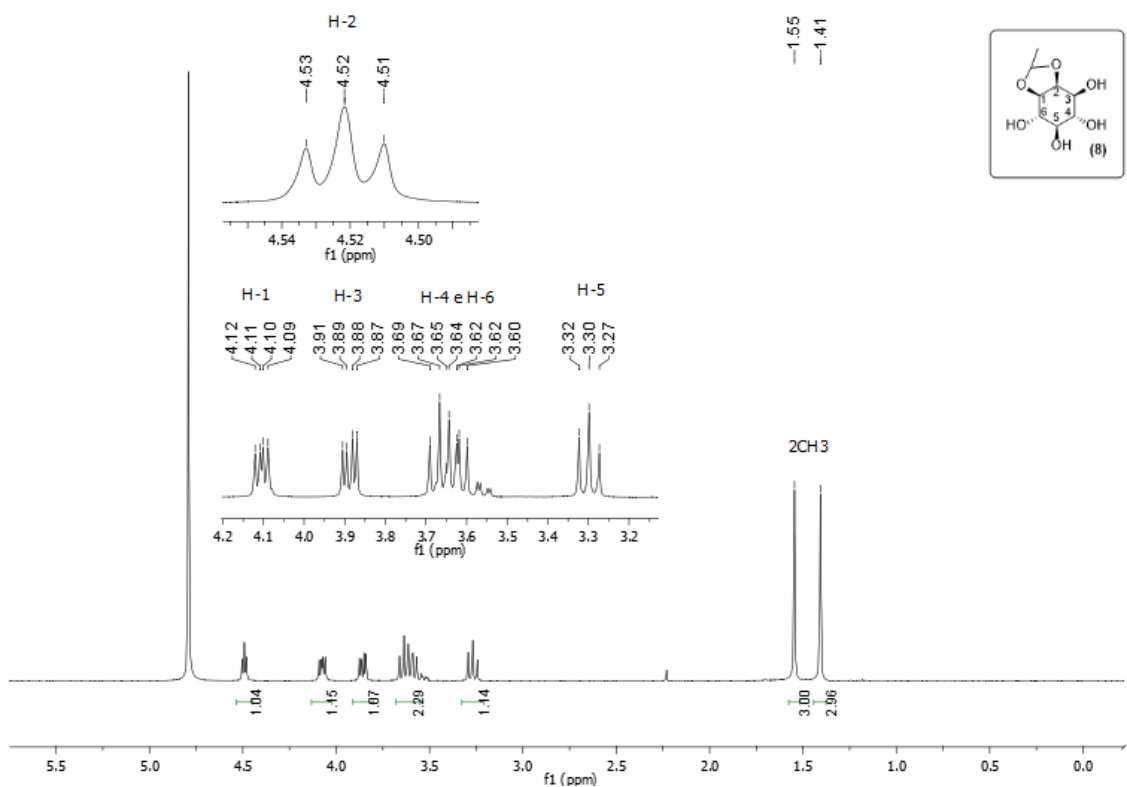
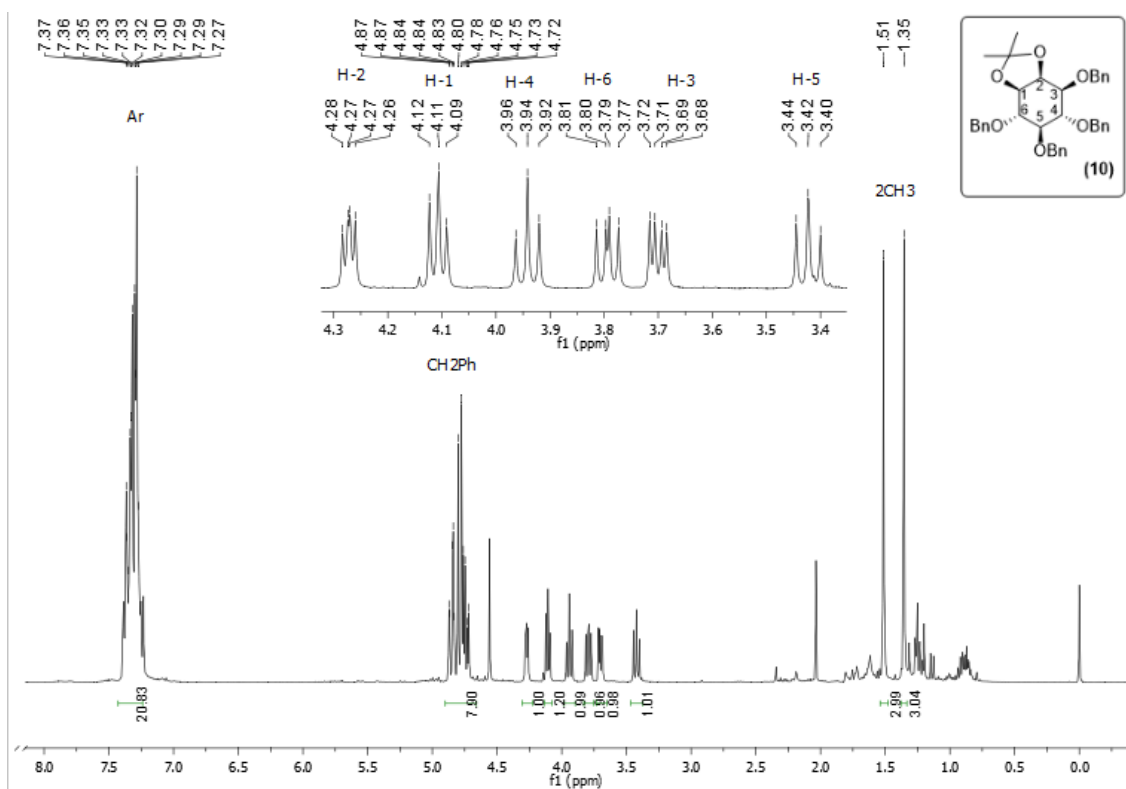
SHARMA, Om Parkash. Antioxidant activity of curcumin and related compounds . *Biochemical pharmacology*, v. 25, p. 1811–1812, 1976.

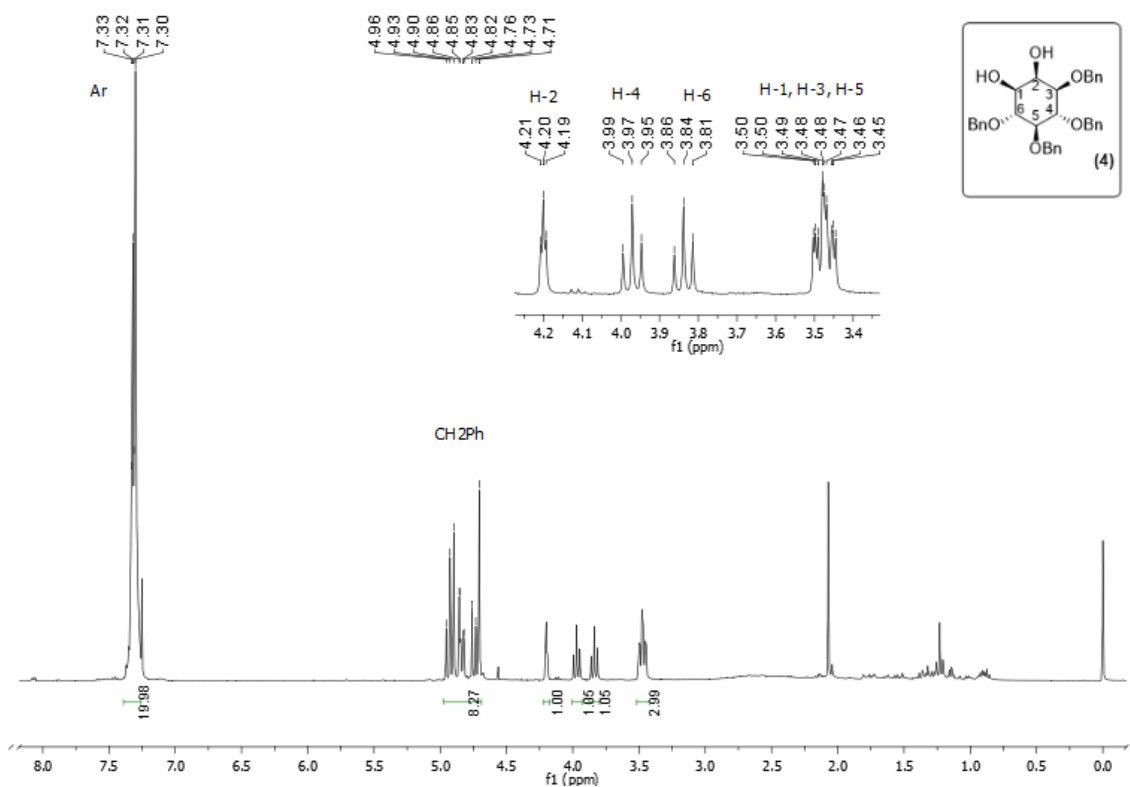
- SHI, Wei *et al.* Synthesis of monofunctional curcumin derivatives, clicked curcumin dimer, and a PAMAM dendrimer curcumin conjugate for therapeutic applications. *Organic Letters*, v. 9, n. 26, p. 5461–5464, 2007.
- SINGH, Manjinder *et al.* Hybrids: a new paradigm to treat Alzheimer's disease. *Molecular Diversity*, v. 20, n. 1, p. 271–297, 2016.
- SMITH, M. Meryl; HARTLEY, Roy D. Occurrence and nature of ferulic acid substitution of cell-wall polysaccharides in graminaceous plants. *Carbohydrate Research*, v. 118, p. 65–80, 1983.
- SOTO-ORTEGA, Deborah D. *et al.* Inhibition of amyloid- β aggregation by coumarin analogs can be manipulated by functionalization of the aromatic center. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, v. 19, n. 8, p. 2596–2602, 2011.
- TAGUCHI, Riho *et al.* Structure e activity relations of rosmarinic acid derivatives for the amyloid B aggregation inhibition and antioxidant properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 138, p. 1066–1075, 2017.
- TANAKA, Kousei; TAKENAKA, Shinji; YOSHIDA, Ken Ichi. scyllo-Inositol, a Therapeutic Agent for Alzheimer's Disease. *Austin Journal of Clinical Neurology*, v. 2, n. 4, p. 4–7, 2015.
- TOWNSEND, Matthew *et al.* Orally available compound prevents deficits in memory caused by the Alzheimer amyloid- β oligomers. *Annals of Neurology*, v. 60, n. 6, p. 668–676, 2006.
- VICIDOMINI, Caterina *et al.* Benzodifurans for biomedical applications : BZ4 , a selective anti-proliferative and anti-amyloid lead compound. *Future Medicinal Chemistry*, v. 11, p. 285–302, 2019.
- WALLIN, Åsa K. *et al.* Donepezil in Alzheimer's disease: What to expect after 3 years of treatment in a routine clinical setting. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, v. 23, n. 3, p. 150–160, 2007.

WESSELS, Alette M *et al.* Efficacy and safety of lanabecestat for treatment of early and mild alzheimer disease the AMARANTH and DAYBREAK-ALZ randomized clinical trials. *JAMA Neurology*, v. 193988, p. 1–11, 2019.

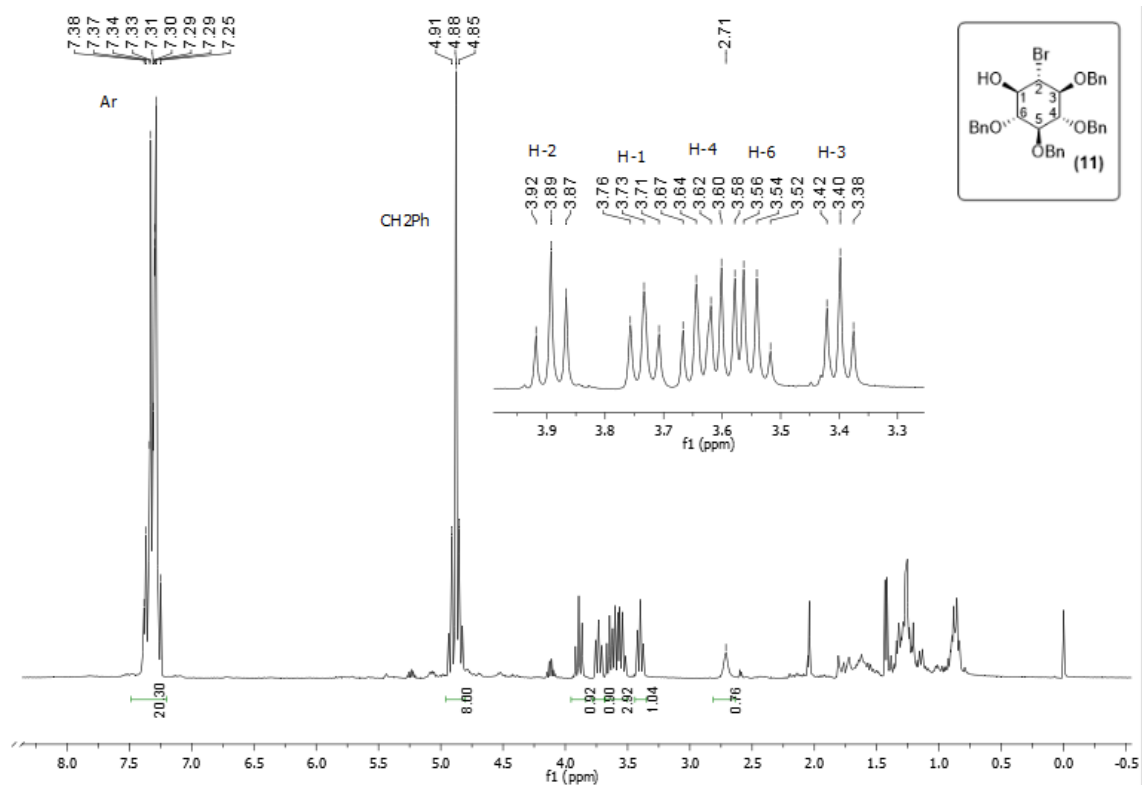
XUE, Christine; LIN, Tiffany Yuwen; CHANG, Dennis. Thioflavin T as an amyloid dye : fibril quantification , optimal concentration and effect on aggregation. *Royal Society Open Science*, v. 4, n. 1, p. 1–12, 2017.

APÊNDICE

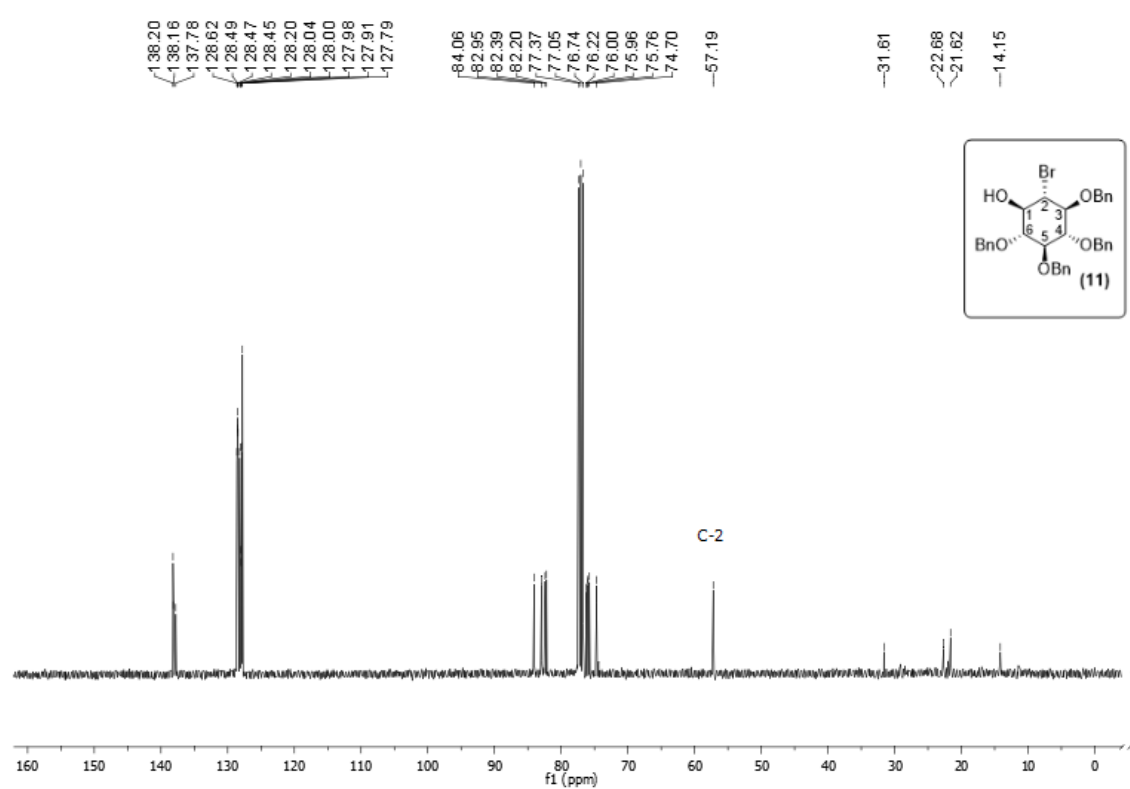
Apêndice 1. Espectro de RMN de ¹H de **8** (CDCl₃, 400 MHz).Apêndice 2. Espectro de RMN de ¹H de **10** (CDCl₃, 400 MHz).



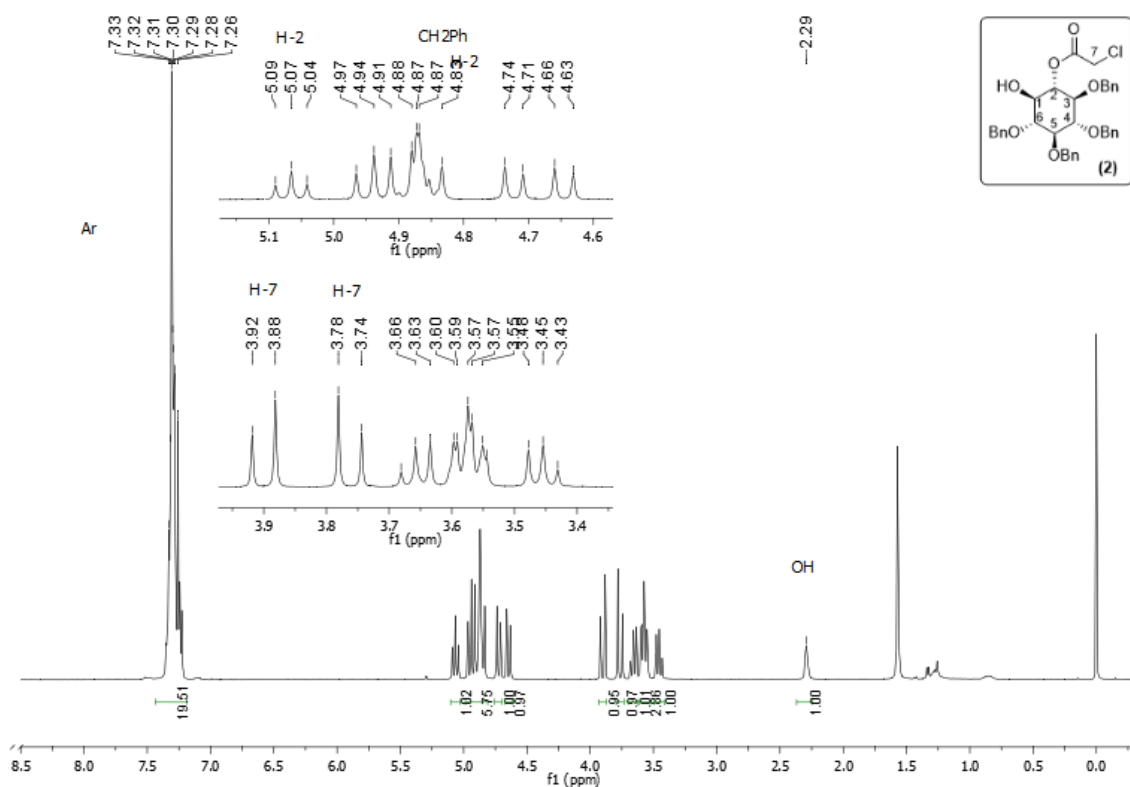
Apêndice 3. Espectro de RMN de ¹H de 4 (CDCl₃, 400 MHz).



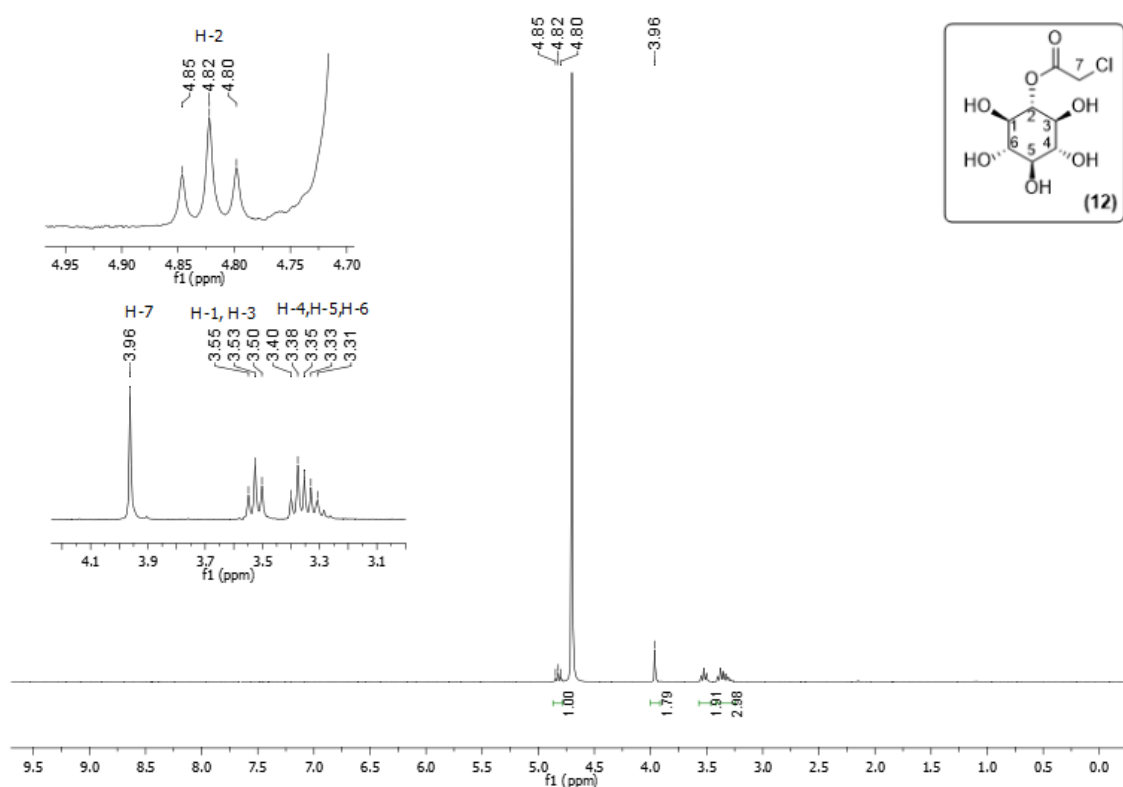
Apêndice 4. Espectro de RMN de ¹H de 11 (CDCl₃, 400 MHz).



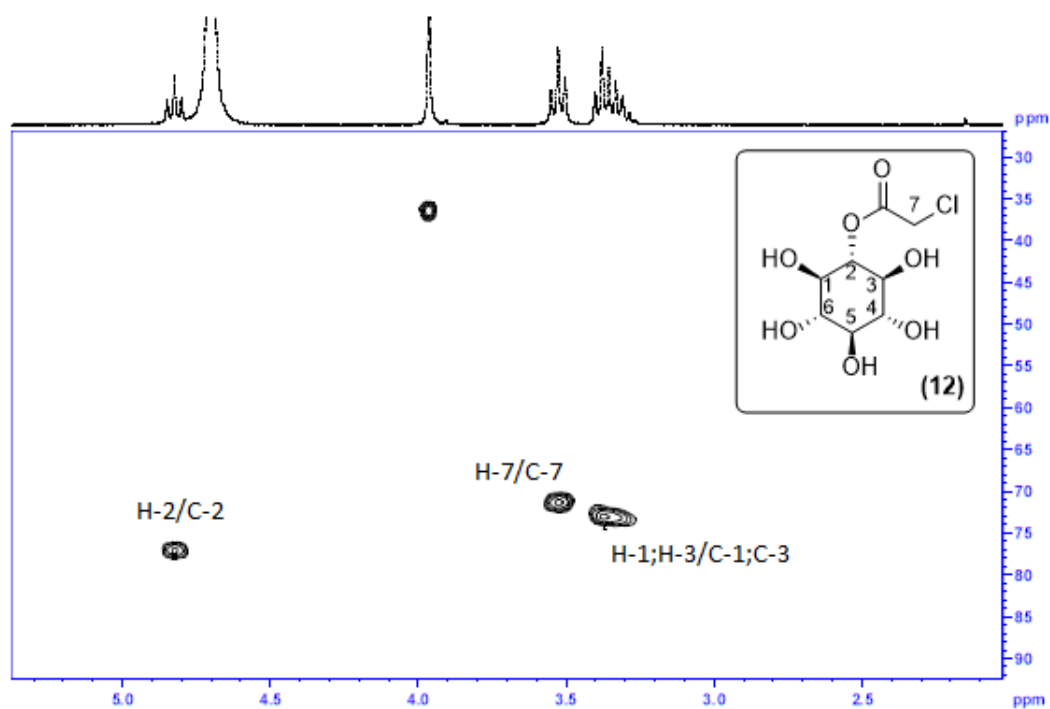
Apêndice 5. Espectro de RMN de ^{13}C de 11 (CDCl_3 , 400 MHz).



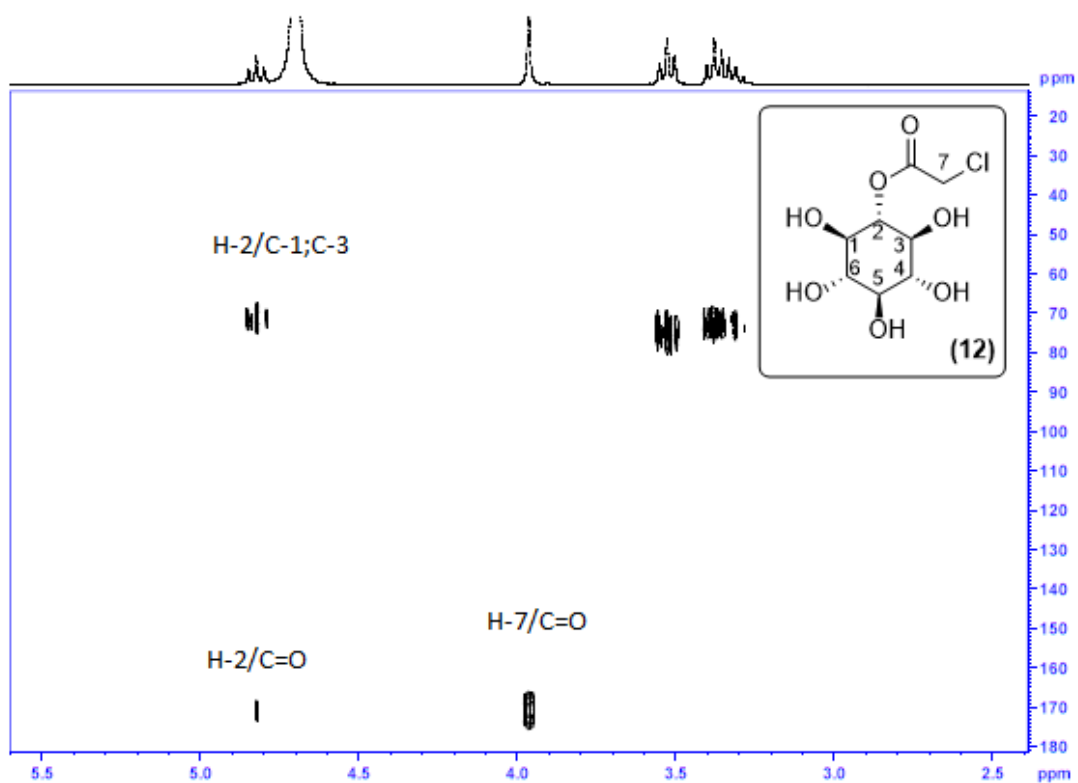
Apêndice 6. Espectro de RMN de ^1H de 2 (CDCl_3 , 400 MHz).



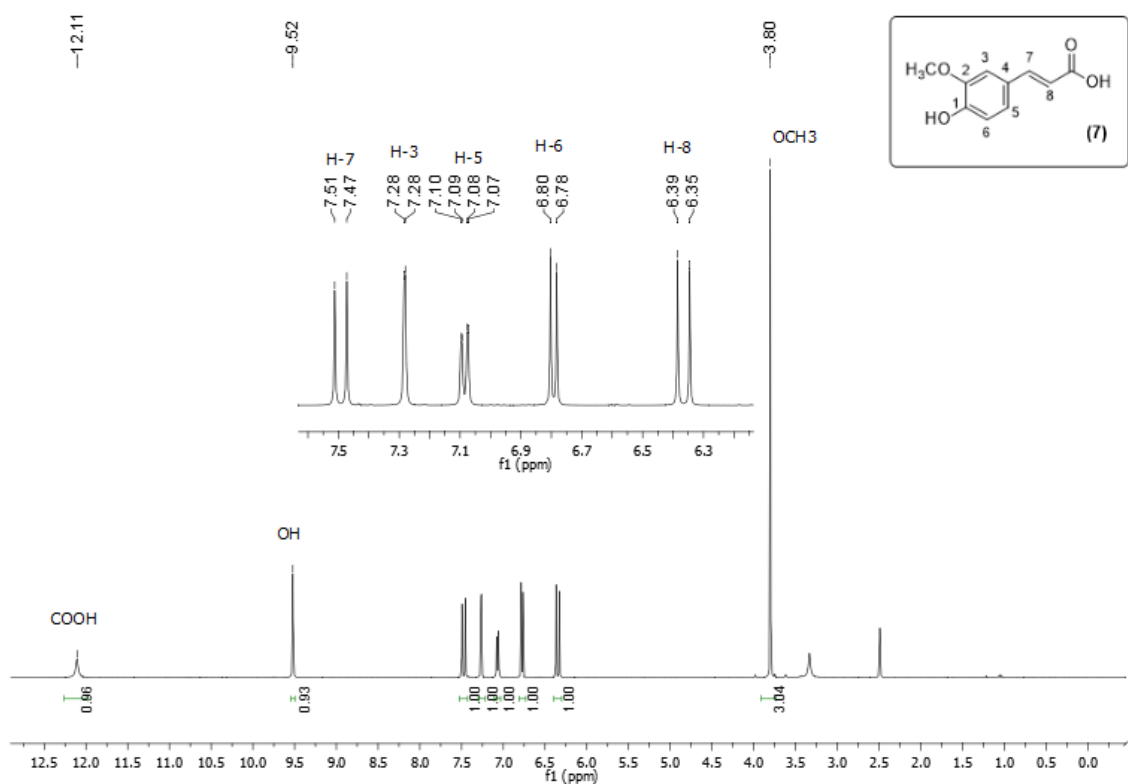
Apêndice 7. Espectro de RMN de ¹H de **12** (D₂O, 400 MHz).



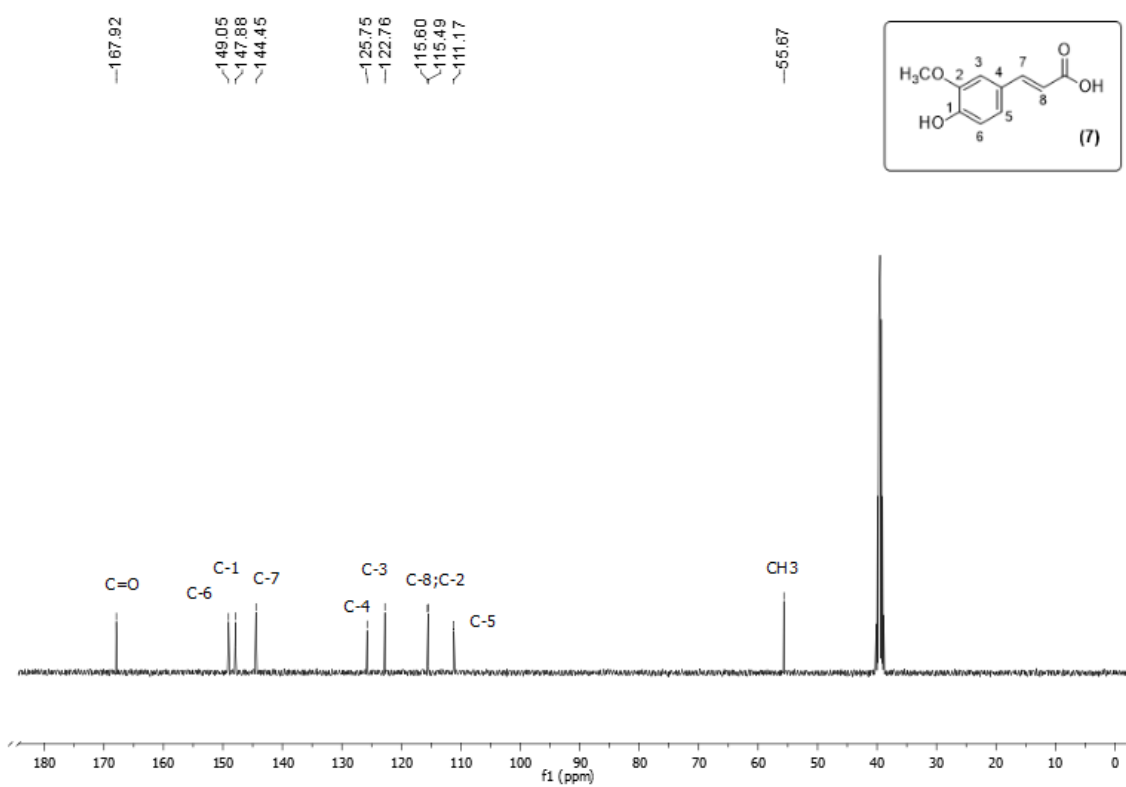
Apêndice 8. Espectro de RMN de HSQC de **12** (D₂O, 400 MHz).



Apêndice 9. Espectro de RMN de HMBC de **12** (D₂O, 400 MHz).



Apêndice 10. Espectro de RMN de ¹H de **7** (DMSO-d₆, 400 MHz).



Apêndice 11. Espectro de RMN de ^{13}C de **7** (DMSO- d_6 , 400 MHz).