



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

VANESSA DO NASCIMENTO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DE COMPOSTOS BIOLÓGICAMENTE IMPORTANTES
CONTENDO SELÊNIO

Florianópolis
2015

Vanessa do Nascimento

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DE COMPOSTOS BIOLÓGICAMENTE IMPORTANTES
CONTENDO SELÊNIO**

Tese submetida ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga, PhD.

Coorientador: Prof. Dr. Claudio Santi, PhD.

**Florianópolis
2015**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Nascimento, Vanessa

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE
COMPOSTOS BIOLÓGICAMENTE IMPORTANTES CONTENDO SELÊNIO /
Vanessa Nascimento ; orientador, Antonio Luiz Braga ;
coorientador, Claudio Santi. - Florianópolis, SC, 2015.
235 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Disselenetos. 3. Anfetaminas. 4.
Antioxidante. 5. Ebselen. I. Braga, Antonio Luiz. II.
Santi, Claudio. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Vanessa do Nascimento

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE
DE COMPOSTOS BIOLÓGICAMENTE IMPORTANTES
CONTENDO SELÊNIO**

Esta Tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Doutora
em Química no Programa de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis-SC, 27 de fevereiro de 2015.

Prof. Dr. Hugo Alejandro Gallardo Olmedo
Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Antonio Luiz
Braga (Orientador-UFSC)

Prof. Dr. Ademir Neves
(UFSC)

Prof. Dr. Diego Alves
(UFPel)

Dr. Eduardo E. Alberto
(UFMG)

Prof. Dr. Faruk Nome
(UFSC)

Prof. Dr. Ricardo Nunes
(UFSC)

Dedico este trabalho a vocês que sempre me fizeram acreditar na realização dos meus sonhos e trabalharam muito para que eu pudesse realizá-los, meus pais, Eleni e Joares e, minha irmã, Carol. Esta conquista é nossa!

A você, Bruno, companheiro no amor, na vida e nos sonhos, que sempre me apoiou nas horas difíceis e compartilhou comigo as alegrias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço o Prof. Braga pela sua orientação, amizade e toda sabedoria transferida durante os nove anos de convivência. Com certeza, foram fundamentais no meu amadurecimento acadêmico e incitação pela pesquisa científica. Tenho grande admiração e carinho por ele e cultivarei sempre as boas lembranças. Aos colegas do Labselen (Departamento de Química, UFSC) que alegraram de várias maneiras meu cotidiano no laboratório, principalmente às meninas: Bruna, Laís e Manu, que se mostraram grandes amigas e me deram forças nos momentos que mais precisei. Agradeço o Rômulo pelo auxílio nas discussões e escrita do artigo, e aos amigos Alisson e Juliano que realizaram a leitura e fizeram importantes sugestões nesta tese. À Natasha e Bruna que além de colegas de trabalho extraordinárias, contribuíram ativamente na parte experimental deste trabalho. Aos colegas do estágio sanduíche (CS-Group-Università degli studi Perugia), principalmente ao amigo Luca Sancineto, sou grata pelas suas importantes colaborações nos resultados, além das discussões proveitosas. Ao ex-colega, Eduardo E. Alberto, que acompanhou minha trajetória acadêmica desde a iniciação científica, influenciando diretamente, sempre positivamente.

As colaborações acadêmicas foram fundamentais para execução deste trabalho, assim agradeço ao Prof. João Batista Teixeira da Rocha (UFSC), sempre disposto a propor experimentos e discutir resultados e as suas alunas Karen Schott e Emily P. Waczuk que realizaram os experimentos das atividades antioxidantes. Agradeço ao Prof. Faruk Nome (UFSC) o empréstimo do UV-vis, fundamental neste trabalho. Ao Dr. Eduardo Zapp (UFSC) pelas análises de voltametria cíclica. Aos colegas dos laboratórios vizinhos que sempre estiveram dispostos a emprestar materiais e reagentes. Agradeço especialmente ao Prof. Claudio Santi (Università degli studi Perugia) que contribuiu significativamente na discussão dos resultados deste trabalho, sempre incitando o desenvolvimento de química de qualidade.

Cabe aqui, fazer um agradecimento a todos os professores que ajudaram no desenvolvimento do trabalho, seja em discussões informais em congressos ou questionamentos em apresentações. Aos funcionários da Central de Análises do Departamento de Química da UFSC e ao CEBIME. Ao INCT-Catálise que permeou a pesquisa de qualidade, disponibilizando equipamentos e reagentes, fundamentais para realização deste trabalho. Aos órgãos de fomento, CNPq, CAPES e

FAPESC, pelo auxílio financeiro. A UFSC por todo amparo acadêmico e de infra-estrutura.

Aos membros da banca, Prof. Dr. Ademir Neves, Prof. Dr. Diego Alves, Prof. Dr. Eduardo E. Alberto, Prof. Dr. Faruk Nome e Prof. Dr. Ricardo Nunes que se prontificaram em ler este trabalho, discuti-lo e contribuir para sua concretização como tese de doutorado.

Aos queridos amigos da Secretaria da Pós-Graduação em Química (UFSC), Grace Hoeller e Jadir Carminatti, que sempre foram muito prestativos na resolução de assuntos acadêmicos.

A minha família, faço um agradecimento especial, pela educação modelo, sempre proporcionando as melhores condições para meu bem-estar e à melhor formação acadêmica possível. À minha mãe, a qual agradeço infinitamente o seu amor incondicional e por sempre me apoiar e incentivar, me guiando e dando forças nas horas difíceis, mas também nas muitas horas boas, promovendo lembranças inesquecíveis e indescritíveis. Ao meu pai por acreditar no meu potencial e sempre me estimular a dar o melhor de mim. Sou grata a minha irmã por todo seu apoio e compreensão sem limites. Agradeço o Miro, por toda sua bondade e disponibilidade, nos momentos que precisei. Aos meus sogros que sempre estiveram do meu lado e me proporcionaram uma nova família.

Ao meu companheiro Bruno, minha grande inspiração, que além de um namorado adorável, teve enorme importância na minha trajetória acadêmica. Além de enfrentar leituras e correções textuais dos meus trabalhos, sempre me instigou a batalhar e encarar os desafios e me amparou em todos os momentos.

A Deus...

“Deixem que o futuro diga a verdade e avalie cada um de acordo com o seu trabalho e realizações. O presente pertence a eles, mas o futuro pelo qual eu sempre trabalhei, pertence a mim.”

(Nikola Tesla)

RESUMO

O presente trabalho trata do planejamento e síntese de moléculas biologicamente importantes contendo selênio. Foram preparadas duas classes destes compostos: disselenetos derivados de anfetaminas e compostos heterocíclicos derivados do ebselen. Além da preparação, estudaram-se as aplicações biológicas destas substâncias, como antioxidantes. Inicialmente é apresentada a síntese dos disselenetos derivados de anfetaminas. A estratégia sintética adotada para a preparação destes compostos permitiu a obtenção dos produtos desejados em poucas etapas reacionais e com rendimentos globais elevados, através de reações de acoplamento entre disselenetos contendo ácidos carboxílicos e aminas apropriadas com atividades biológicas. Em seguida, esses compostos foram avaliados quanto ao seu potencial antioxidante. Inicialmente, testados como miméticos da enzima GPx, que atua no nosso organismo, na oxidação de tióis a dissulfetos, utilizando peróxido de hidrogênio como agente oxidante. Os resultados encontrados evidenciaram que a maior parte dos compostos sintetizados foi capaz de reduzir o peróxido de hidrogênio por meio da oxidação do tiofenol, sendo que o disseleneto mais ativo apresentou velocidade cerca de 9 vezes maior que o ebselen. Adicionalmente, todos os compostos sintetizados se mostraram eficientes na inibição da formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), induzidas por ferro e, muitos deles foram capazes de atuar como substratos da enzima tioredoxina redutase (TrxR). Através dos estudos de ressonância magnética nuclear de selênio e hidrogênio foi demonstrada a interação intramolecular existente entre o átomo de selênio e o oxigênio presente na molécula, bem como, encontrou-se evidências do possível mecanismo da reação de redução de peróxido de hidrogênio, utilizando ditioneitol (DTT) como cofator, respectivamente, sendo este um teste alternativo para análise GPx *like*. Na segunda parte do trabalho, foi desenvolvida uma metodologia sintética simples e rápida para a obtenção de uma série de benzisoselenazol-3(2H)-onas *N*-substituídas (derivados do ebselen) e benzisulfonazol-3(2H)-onas *N*-substituídas. Este método consistiu na formação de anéis heterocíclicos de cinco membros pela ciclização intramolecular de disselenetos e dissulfetos contendo amidas, na presença de iodo molecular e trietilamina em quantidades equivalentes. Além disso, foi avaliada a capacidade desses compostos de atuarem como miméticos da enzima glutationa peroxidase (GPx). Um cenário muito promissor foi observado para o uso catalítico dos compostos

derivados do ebselen como miméticos desta enzima, uma vez que todos apresentaram atividade superior ao ebselen.

Palavras-chave: 1.Antioxidante 2.Anfetaminas 3.Disselenetos 4. Ebselen 5.Aminoácidos 6.Glutationa peroxidase 7.Tiorredoxina redutase 8. Peroxidação lipídica

ABSTRACT

The present study deals with the design and synthesis of selenium-containing biological relevant compounds. Two distinct classes of compounds were designed and synthesized: amphetamine containing diselenides and ebselen *like* derivatives. Besides the preparation, the biological application of these compounds as antioxidants has been evaluated. The first part of this work reports the synthesis of diselenides containing an amphetamine core. The synthetic strategy involves a coupling between preformed aryl diselenide bearing a free carboxylic acid with a series of biologically relevant amines, affording the formation of the desired products in few steps and high overall yields. The obtained compounds were fully investigated in terms of antioxidant properties. The GPx *like* activity was studied evaluating the ability of these new compounds on catalyze the oxidation of thiophenol into the corresponding disulfide in the presence of hydrogen peroxide as stoichiometric oxidant. The most active diselenide showed to be 9 times more effective than ebselen, a well studied selenium containing drug. Additionally, all the obtained diselenides showed an interesting inhibition of lipid peroxidation in brain homogenates and some of them acted also as substrate of the enzyme thioredoxin reductase (TrxR). Nuclear Magnetic Resonance analysis showed the presence of a non-bonding interaction between the selenium and oxygen atom that can modulate the GPx-like activity. The same technique has been used to study the mechanism as well as the ongoing catalytic oxidation of dithiothreitol (DTT) in the presence of hydrogen peroxide as an alternative test for the evaluation of the antioxidant activity. The second part of this study refers to a simple, fast and efficient synthesis of a series of *N*-substituted benzoselenasol-3(2*H*)-ones and benzosulfonazol-3(2*H*)-ones starting from the corresponding diselenides and disulfides, respectively. The cyclization is activated by the iodine-mediated oxidation of the chalcogen-chalcogen bond in the presence of triethylamine and occurs in all the cases in almost quantitative yields. The evaluation of the GPx-like activity disclosed an interesting scenario, once that all the tested compounds exhibited superior activity compared to the standard and well known ebselen.

Keywords: 1.Antioxidant 2.Amphetamines 3.Diselenides 4.Ebselen 5.Aminoacids 6.Glutathione peroxidase 7.Thioredoxin reductase 8. Lipid peroxidation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da tríade catalítica da enzima GPx.....	33
Figura 2 - Comparação entre as estruturas dos aminoácidos selenocisteína e cisteína.....	34
Figura 3 - Ilustração das diferentes aplicações de compostos contendo selênio.....	35
Figura 4 – Ebselen 6 e seus análogos com atividade mimética da GPx.....	40
Figura 5 - Diversas estruturas de disselenetos com atividade mimética GPx.....	43
Figura 6 - Diversas estruturas de disselenetos derivados de aminas e amidas com atividade mimética GPx.....	44
Figura 7 – Disselenetos contendo aminas e amidas com atividade mimética à enzima GPx.....	46
Figura 8 – Exemplos representativos de outros compostos orgânicos de selênio com atividade GPx <i>like</i>	47
Figura 9 - Estrutura Geral dos Fosfolipídios Contendo uma Cabeça Polar e Cauda Apolar, esta Formada por Cadeias de Ácidos Graxos.....	48
Figura 10 – Exemplos de compostos orgânicos de selênio com atividade inibitória da peroxidação lipídica.....	54
Figura 11 – Exemplos de selenetos com atividade inibitória da peroxidação lipídica.....	55
Figura 12 – Exemplos de compostos orgânicos de selênio substratos da enzima tioredoxina redutase.....	59
Figura 13 – Diferentes formas de interação não covalente entre o selênio divalente e o heteroátomo vizinho.....	60

Figura 14 – Selenobenzilaminas utilizadas no estudo.....	63
Figura 15 – Compostos orgânicos de selênio aquirais e quirais derivados de oxazolinas.....	64
Figura 16 – Composto de selênio com interação intramolecular não-ligante entre Se···O preferencialmente à interação Se···N.....	65
Figura 17 – Composto de selênio com interação intramolecular não-ligante entre Se···O.....	65
Figura 18 – Compostos derivados do ebselen com interação intramolecular não-ligante entre Se···O.....	66
Figura 19 – Disselenetos quirais utilizados por Wirth e colaboradores.....	66
Figura 20 – Compostos de selênio com interação intramolecular não-ligante entre Se···O objetos de estudo de Tomoda e colaboradores.....	67
Figura 21 – Disselenetos derivado de amidas com interação Se···O.....	67
Figura 22 – Anfetaminas e seus derivados.....	71
Figura 23 – Compostos de selênio derivados da efedrina.....	72
Figura 24 – Estruturas dos disselenetos derivados de anfetaminas.	88
Figura 25 - Espectro de ^1H NMR, do composto 100b em CDCl_3 a 400 MHz.....	95
Figura 26 - Espectro de ^{13}C NMR, do composto 100b em CDCl_3 a 100 MHz.....	96
Figura 27 - Espectro de ^{77}Se NMR, do composto 100b em CDCl_3 a 76,5 MHz.....	97

Figura 28 - Espectro de massas de alta resolução do composto 100b , utilizando fonte de ionização eletrospray (ESI-MS).....	98
Figura 29 - Exemplo da variação do espectro de UV-Vis com o tempo para a reação de oxidação do PhSH, na presença de H ₂ O ₂ e do catalisador contendo selênio.....	100
Figura 30 - Gráfico da variação da absorbância em função do tempo para o composto selecionado 100b	101
Figura 31 - Formação de PhSSPh devido à ação dos catalisadores 100a-b e 101a-d , Ebselen e PhSeSePh	102
Figura 32 - Efeitos dos disselenetos derivados de anfetaminas 100a-b , 101a-d e Ebselen na produção de TBARS em homogenatos de cérebro de rato (S1).....	108
Figura 33 - Espectros de ⁷⁷ Se NMR, do composto 100b (a), 106 (b), 107 (c) e 108 (d), em CDCl ₃ a 76,5 MHz.....	114
Figura 34 - Estruturas com as interações intramoleculares não covalentes propostas para o composto 100b analisado.....	115
Figura 35 - Espectros de ¹ H NMR: (a) DTT ainda sem reagir no início da reação; (b) Espectro obtido no T ₅₀ e (c) DTT completamente oxidado ao final da reação.....	116
Figura 36 - Voltamograma cíclico do disseleneto do derivado de anfetamina em solução de acetonitrila contendo hexafluorofosfato de tetra-nbutilamônio (0,1 mol L ⁻¹) com velocidade de varredura de 200 mV s ⁻¹	122
Figura 37 - Estrutura geral dos derivados do ebselen.....	125
Figura 38 - Estruturas dos dicalcogenetos empregados neste estudo.....	127
Figura 39 - A) Reações antes (a) e depois (b) da adição de Et ₃ N. B) CCD das reações: (c) 10 min; (d) 30 min; (e) produto e (f) material de partida.....	131

Figura 40 - Espectro de ^1H NMR, do composto 114e em CDCl_3 a 400 MHz.....	139
Figura 41 - Espectro de ^{13}C APT NMR , do composto 114e em CDCl_3 a 100 MHz.....	140
Figura 42 - Espectro de ^{77}Se NMR, do composto 114e em CDCl_3 a 76,5 MHz.....	141
Figura 43 - Espectro de massas de alta resolução do composto 114e , utilizando fonte APPI.....	142
Figura 44 - Resumo das conclusões gerais dos resultados apresentados neste trabalho de síntese e avaliação do potencial antioxidante de compostos biologicamente importantes contendo selênio.....	157
Figura 45 - Voltamograma cíclico em acetonitrila contendo hexafluorofosfato de tetra- <i>n</i> -butilamônio (0,1 M) com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . Inserido: Voltamograma cíclico do ferroceno.....	177

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Rendimentos globais e ponto de fusão dos compostos sintetizados 100a-b e 101a-d	93
Tabela 2. Comparação da atividade GPx <i>like</i> dos compostos 100a-b e 101a-d com os padrões ebsele n e (PhSe)₂	104
Tabela 3. Oxidação do NADPH pela enzima TrxR hepática, parcialmente purificada, obtida a partir de ratos na presença dos disselenetos derivados de anfetaminas 100a-b e 101a-d e do padrão ebsele n.....	110
Tabela 4. Propriedades eletroquímicas do disseleneto derivado da anfetamina 100b	123
Tabela 5. Síntese das benzisosselenazol-3(2 <i>H</i>)-onas <i>N</i> -substituídas 114a-k e benzisossulfonazol-3(2 <i>H</i>)-onas <i>N</i> -substituídas 115a-b	133
Tabela 6. Resultados obtidos para as benzisosselenazol-3(2 <i>H</i>)-onas <i>N</i> -substituídas 114a-k e benzisossulfonazol-3(2 <i>H</i>)-onas <i>N</i> -substituídas 115a-b sintetizadas como miméticos da enzima GPx..	144

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS*

** Foram utilizadas siglas e números para designar as estruturas químicas. Para espécies reagentes ou produtos, que são recorrentes no texto, foram utilizadas abreviaturas de seu nome na forma de siglas. Para intermediários, foi preferida a designação numérica.*

APPI- Fotoionização por pressão atmosférica

MDA – Malondialdeído

ESI-MS - Espectrometria de massas com ionização por eletrospray

TrxR – Tiorredoxina redutase

CCD - Cromatografia em camada delgada

NADPH – Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

d - Deslocamento químico

FAD – Flavina-adenina-dinucleotídeo

DMSO – Dimetilsulfóxido

S1 - Homogenato de cérebro de rato

EROs – Espécies reativas de oxigênio

SOD – Superóxido dismutase

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

CAT – Catalase

EDC – 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida

DCC – *N,N'*- díciclohexilcarbodiimida

CDI – 1,1'- carbonildiimidazol

Sec – Selenocisteína

HRMS – Espectrometria de massas de alta resolução

GPx – Glutathiona peroxidase

J – Constante de acoplamento

GSH – Glutathiona reduzida

M.O – Micro-ondas

GSSG – Glutathiona oxidada

P.F. – Ponto de fusão

¹³C NMR - Ressonância magnética nuclear de carbono treze

GOx – Glutathiona oxidase

¹H NMR - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

DTT – Ditionitrosol

⁷⁷Se NMR – Ressonância magnética nuclear de selênio setenta e sete

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

t.a – Temperatura ambiente

PL – Peroxidação lipídica

TMS - Tetrametilsilano

TBA – Ácido tiobarbitúrico

ppm – Partes por milhão

W – Watts

vs- versus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	33
1.1 Compostos orgânicos de selênio.....	33
<i>1.1.1 Atividade glutathione peroxidase like de compostos orgânicos de selênio.....</i>	<i>36</i>
<i>1.1.2 Atividade inibitória da peroxidação lipídica de compostos orgânicos de selênio.....</i>	<i>48</i>
<i>1.1.3 Atividade como substratos da enzima tioredoxina redutase de compostos orgânicos de selênio.....</i>	<i>55</i>
1.2 Compostos orgânicos de selênio com interação entre selênio e heteroátomo.....	60
<i>1.2.1 Interação intramolecular não ligante entre os átomos de selênio e nitrogênio (Se···N) ou selênio e oxigênio (Se···O).....</i>	<i>61</i>
1.3 Métodos de preparação do ebselen e seus derivados.....	68
1.4 Importância na síntese de novos compostos biologicamente importantes contendo selênio.....	71
2 OBJETIVOS.....	77
2.1 Objetivos Gerais.....	79
2.2 Objetivos Específicos.....	79
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
3.1 Disselenetos derivados de anfetaminas.....	87
<i>3.1.1 Planejamento e síntese.....</i>	<i>87</i>
<i>3.1.2 Avaliação do potencial antioxidante.....</i>	<i>98</i>
<i>3.1.2.1 Avaliação da atividade como miméticos da enzima glutathione peroxidase.....</i>	<i>99</i>
<i>3.1.2.2 Avaliação da atividade como inibidores da peroxidação lipídica.....</i>	<i>105</i>
<i>3.1.2.3 Avaliação da atividade como substrato da enzima tioredoxina redutase.....</i>	<i>109</i>
<i>3.1.3 Estudos de ressonância magnética nuclear de selênio.....</i>	<i>111</i>
<i>3.1.4 Estudos do mecanismo da reação de oxidação do ditiotreitól.....</i>	<i>115</i>

3.1.5 Estudos de voltametria cíclica.....	120
3.2 Compostos derivados do ebselen.....	124
3.2.1 Planejamento e síntese.....	124
3.2.2 Avaliação do potencial antioxidante.....	143
3.2.2.1 Avaliação da atividade como miméticos da enzima glutationala peroxidase.....	143
4 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	151
4.1 Conclusões Gerais.....	153
4.2 Conclusões Específicas.....	154
4.3 Perspectivas.....	156
5 PARTE EXPERIMENTAL.....	161
5.1 Materiais e métodos.....	163
5.1.1 Solventes e Reagentes.....	163
5.1.2 Métodos cromatográficos.....	163
5.1.3. Métodos espectroscópicos e espectrométricos.....	163
5.1.4. Espectroscopia de absorção UV.....	164
5.1.5. Micro-ondas.....	164
5.1.6. Rotaevaporadores e linhas de vácuo.....	164
5.2 Procedimentos experimentais.....	165
5.2.1. Procedimento geral para a preparação do disseleneto derivado do ácido antranílico (102).....	165
5.2.2 Procedimento geral para a preparação dos disselenetos alquílicos (103a-b).....	166
5.2.3 Procedimento geral para a preparação dos disselenetos 100a-b e 101a-d e dissulfetos 117a-b derivados de anfetaminas.....	166
5.2.4 Procedimento geral para a preparação das benzisosselenazol-3(2H)-onas e benzisossulfonazol-3(2H)-onas N-substituídas (ebselen , 114a-j e 115a-b).....	169
5.3 Avaliação antioxidante.....	174
5.3.1 Procedimento geral para avaliação da atividade dos compostos sintetizados como miméticos da enzima glutationala peroxidase.....	174
5.3.2 Procedimento geral para avaliação da atividade dos compostos sintetizados como inibidores da peroxidação lipídica.....	174
5.3.3 Procedimento geral para avaliação da atividade dos compostos	175

<i>sintetizados como substratos da enzima tioredoxina reductase</i>	
5.4 Procedimento geral para os estudos de ressonância magnética nuclear de selênio	175
5.5 Procedimento geral para os estudos da reação de oxidação do ditiotreitól	176
5.6 Procedimento geral para os estudos de voltametria cíclica	176
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	181
SEÇÃO DE ANEXOS	205
Espectros selecionados	207

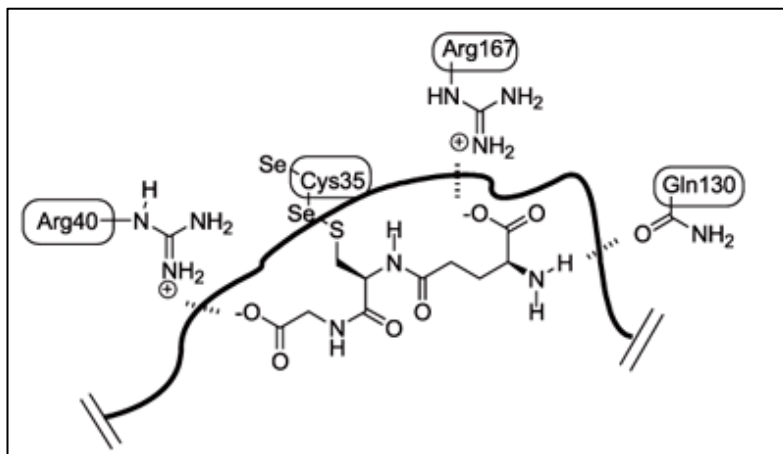
1 INTRODUÇÃO

Nesta seção apresenta-se uma revisão da literatura referente aos temas estudados neste trabalho. É abordado o emprego de compostos orgânicos de selênio como antioxidantes em diferentes ensaios biológicos, tais como, mimetização da enzima glutathione peroxidase, peroxidação lipídica e substrato da enzima tioredoxina reductase. Examina-se também, a interação intramolecular não ligante entre átomos de selênio com heteroátomos, como oxigênio e nitrogênio, nos disselenetos sintetizados, assim como, métodos sintéticos para obtenção de derivados do ebselen. Além disso, uma breve discussão se faz acerca da importância das amins biologicamente ativas.

1.1 Compostos orgânicos de selênio

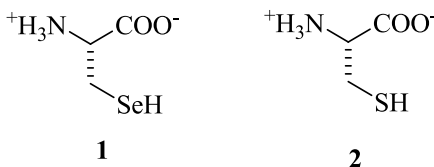
O elemento selênio foi descoberto pelo químico Jöns Jacob Berzelius, em 1817, no depósito da sua fábrica de ácido sulfúrico em Gripsholm, Suécia. Berzelius deu este nome ao novo elemento químico em homenagem a deusa grega da lua Selene. Todavia, durante um longo período, este elemento foi considerado tóxico, e sua química pouco explorada, principalmente devido à dificuldade de manipulação em virtude do desagradável odor de seus compostos. Somente no ano de 1957, Schwartz e Foltz descobriram que o selênio é um elemento essencial na dieta animal e que a mínima deficiência deste nutriente pode acarretar em severos danos aos animais e humanos.¹

Por volta da década de 70, o papel bioquímico do selênio foi claramente estabelecido devido à descoberta de selenoproteínas, a princípio encontradas em bactérias² e posteriormente, em mamíferos.³ De fato, tais proteínas estão envolvidas em uma série de processos fisiológicos, como no sistema antioxidante, na produção do hormônio da tireoide, no sistema imunológico e reprodutor, dentre outros.⁴⁻⁸ Uma das descobertas mais expressivas foi que a presença do átomo de selênio no aminoácido conhecido como selenocisteína, desempenha papel fundamental no sítio ativo da enzima glutathione peroxidase (GPx), conforme representado na Figura 1. A selenocisteína, juntamente com o triptofano e a glutamina, forma a “tríade catalítica” da enzima GPx.⁹

Figura 1. Representação da tríade catalítica da enzima GPx.

Fonte: **Química Nova**, v. 31, p. 1170-1179, 2008.

Os resíduos do aminoácido selenocisteína, no qual a cadeia lateral é isostérica à cisteína, são a maior fonte de selênio dentro do nosso organismo (Figura 2).

Figura 2. Comparação entre as estruturas dos aminoácidos selenocisteína **1** e cisteína **2**.

Por outro lado, do ponto de vista tecnológico, compostos contendo selênio possuem uma vasta gama de diferentes aplicações na área industrial como, por exemplo, na fabricação de materiais semicondutores, na coloração de vidros e cerâmicas, na fabricação de fotocélulas, na fabricação de cilindros usados em fotocopiadoras e impressoras a *laser*, na formulação de cosméticos, dentre outras (Figura 3).¹⁰ Não obstante, se forem comparadas a química inorgânica em torno

do átomo de selênio com a química orgânica do mesmo (envolve o emprego de compostos contendo a ligação covalente entre o carbono e o selênio), a diferença encontrada será acentuada, pois esta última é, até então, bem menos explorada.

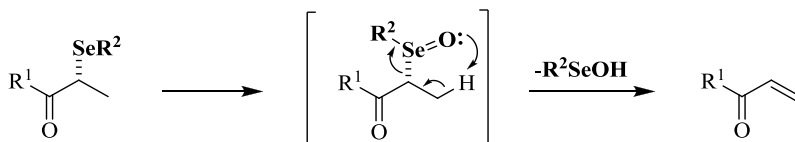
Figura 3. Ilustração de algumas das diferentes aplicações de compostos contendo selênio.



Fonte: <http://www.quimlab.com.br/guiadoselementos/selenio.htm> (Acessado em 16/11/2014)

Considerando as características químicas do átomo de selênio, sabe-se que este está diretamente relacionado com o enxofre e o oxigênio. Entretanto, a troca isostérica destes elementos pelo selênio em estruturas orgânicas, não é tão simples assim. Nesse sentido, ao contrário da amplitude de aplicações atribuíveis aos compostos contendo oxigênio e enxofre, o emprego de compostos de selênio em síntese orgânica é menos expressivo. Contudo, ele se destaca em muitos processos orgânicos, tanto como reagente em reações químicas quanto como substrato orgânico atuante, catalisando reações, por exemplo.¹⁰

Na década de 70, a descoberta que a reação de eliminação de selenóxidos para levar à formação de ligações duplas ocorre sob condições mais brandas do que aquelas empregadas, até então, impulsionou o desenvolvimento da química de compostos orgânicos de selênio (Esquema 1).¹¹ A partir daí, houve um crescimento expressivo no desenvolvimento dessa classe de compostos, muitos dos quais são atualmente disponíveis comercialmente.

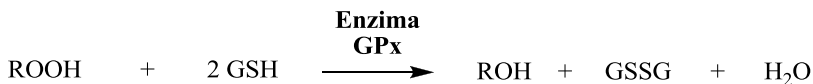
Esquema 1. Reação de eliminação de selenóxidos.

1.1.1 Atividade glutathiona peroxidase *like* de compostos orgânicos de selênio

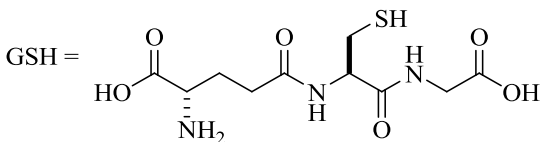
Os organismos aeróbicos obtêm energia dos alimentos pelo processo da respiração celular, realizada no interior das mitocôndrias, na qual o oxigênio é reduzido em um processo de transferência de um elétron.¹² Durante este processo são formadas espécies químicas como peróxidos e superóxidos, conhecidas como Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). Esta classe de compostos, quando produzida em excesso, gera o estresse oxidativo que, por sua vez, está relacionado a uma série de patologias humanas.¹³

O controle dos EROs nas células se dá principalmente pelo sofisticado sistema de defesa antioxidante dos organismos, especialmente através das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) que convertem essas espécies nocivas em metabólitos inócuos.¹⁴ Nesse contexto, destaca-se a enzima glutathiona peroxidase que, como citado anteriormente, é uma selenoenzima que atua catalisando a redução de peróxidos de hidrogênio e/ou peróxidos orgânicos (ROOH), consumindo tióis (glutathiona GSH), com formação de dissulfeto orgânico (glutathiona oxidada GSSG) e água e/ou álcoois (Esquema 2).¹⁵ Como consequência da sua ação, essa enzima exerce a função de proteger biomembranas e outros componentes celulares do estresse oxidativo.^{16,17}

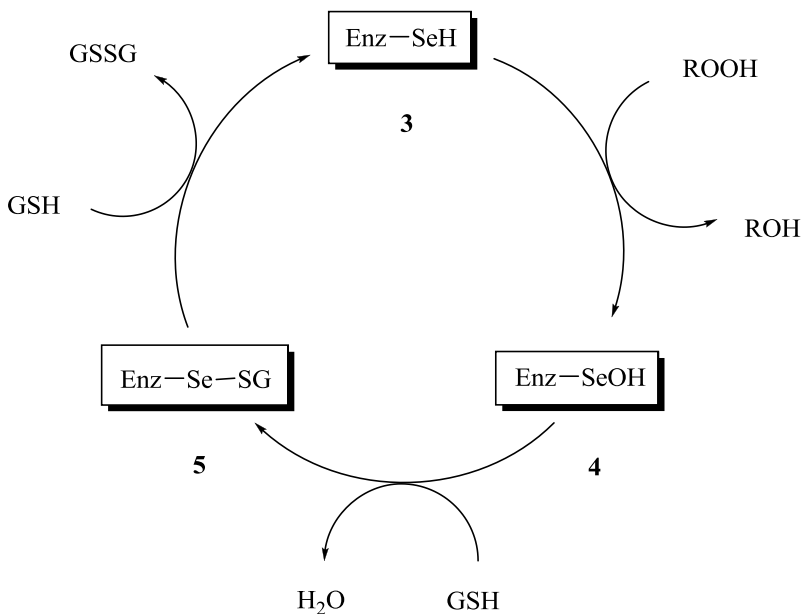
Esquema 2. Reação de redução de peróxidos catalisada pela GPx.



R = H ou alquila



Por volta da década de 70 foi elucidado o mecanismo para a enzima glutationa peroxidase. Neste mecanismo, primeiramente é proposto que a enzima, na sua forma ativa selenol (Enz-SeH, **3**), reage com um equivalente de peróxido, reduzindo-o à água ou álcool (dependendo da estrutura do peróxido) e formando o ácido selenênico (Enz-SeOH, **4**). Este então é atacado por um equivalente da glutationa reduzida (GSH) formando o sulfeto de selenenila (Enz-SeSG, **5**) e água. Na última etapa, o selenosulfeto **5** reage com um segundo equivalente de GSH regenerando a forma ativa da enzima para reiniciar o ciclo catalítico e produzindo simultaneamente a glutationa oxidada (GSSG) (Esquema 3).¹⁷⁻¹⁸

Esquema 3. Ciclo catalítico da enzima GPx.

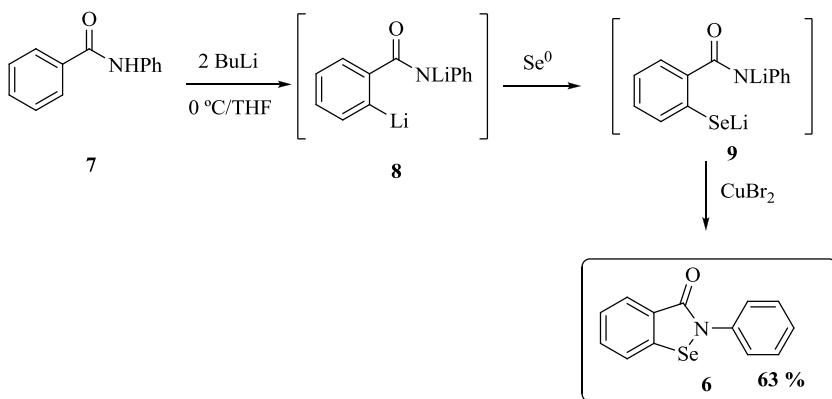
Por essa enzima possuir algumas desvantagens que limitam seu uso terapêutico, tais como: a instabilidade e o alto peso molecular^{16,19} muitos estudos têm proposto a síntese de novos compostos que possam mimetizar a atividade da enzima GPx, não apenas para elucidar mais detalhadamente o seu mecanismo catalítico, como também, para potencializar sua aplicação farmacológica. Em virtude disso, o *design* de novas moléculas contendo selênio e a avaliação do seu potencial em mimetizar a enzima glutationa peroxidase tornaram-se importantes segmentos da pesquisa.

Já existe um grande número de moléculas contendo selênio, capazes de mimetizar a atividade da enzima glutationa peroxidase *in vitro*. Dentre elas, uma das mais promissoras é o ebselen (2-fenil-1,2-benzoisosselenazol-3-(2*H*)-ona) **6**.²⁰⁻²² Este heterociclo foi o primeiro mimético sintético da GPx que além de apresentar baixa toxicidade, possui atividade anti-inflamatória, antioxidante, antiaterosclerótica e propriedades citoprotetoras.²³ Nos últimos anos, o ebselen passou a ser

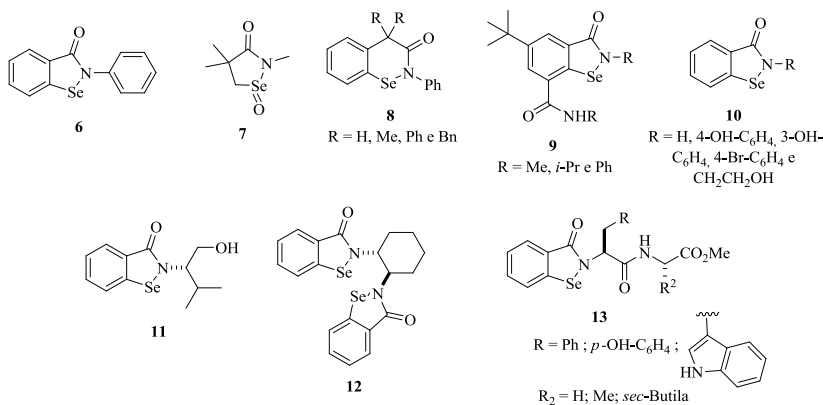
utilizado como composto padrão para comparar a atividade mimética da enzima GPx de compostos orgânicos de selênio.

Atualmente há vários métodos descritos para a preparação do ebselen. Dentre estes, um dos mais utilizados foi descrito por Engman em 1989 (Esquema 4).²⁴ Esta metodologia consiste em uma reação “one pot” a partir do tratamento da *N*-fenilbenzamida **7** com dois equivalentes de butil lítio em THF, para gerar o diânion **8**. A adição de selênio elementar leva à formação do intermediário **9**, o qual é ciclizado mediante a adição do oxidante CuBr₂ para formar o ebselen em apenas uma etapa reacional com 63% de rendimento.

Esquema 4. Esquema reacional para preparação do ebselen



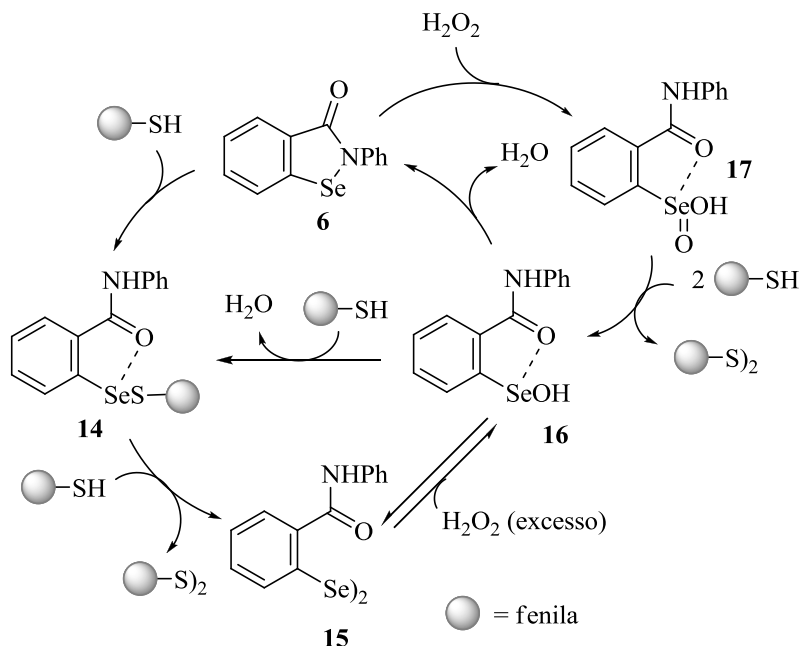
Devido à promissora atividade GPx *like* apresentada pelo ebselen, vários grupos de pesquisa têm se dedicado no desenvolvimento de moléculas similares a ele. O objetivo é elevar a atividade mimética GPx, promovendo a redução de peróxidos às custas de tióis no menor tempo possível. Por exemplo, a Figura 4 mostra o ebselen **6** e alguns de seus análogos **7-13** que foram sintetizados e empregados com sucesso como miméticos da enzima GPx.²⁵⁻³¹

Figura 4. Ebselen **6** e seus análogos com atividade mimética da GPx.

Pelos estudos realizados, os substituintes, tanto no anel aromático quanto no grupamento ligado ao nitrogênio da selenoamida, possuem um efeito significativo na atividade desses compostos. A série de compostos **9**, por exemplo, possui uma atividade maior quando comparada ao ebselen. Este comportamento se caracteriza pela interação não covalente entre o oxigênio da amida e o átomo de selênio do heterociclo.²⁷ Da mesma forma que, quando os substituintes ligados ao nitrogênio do conjunto de catalisadores **10** forem alquílicos ou anéis benzênicos substituídos (*para* ou *meta*), o desempenho apresentado pelos compostos na atividade GPx *like* é maior que o ebselen.²⁸⁻²⁹ Nesse contexto, cabe salientar os compostos **11** e **12**, recentemente descritos por Elsherbini e colaboradores. O primeiro é um catalisador eficiente, capaz de reduzir peróxidos mais rapidamente do que o ebselen **6**, devido à provável interação do oxigênio do álcool com o átomo de selênio da selenoamida. Já o segundo, mesmo possuindo dois átomos de selênio, surpreendentemente apresentou atividade catalítica mais baixa. Este resultado obtido se credita ao fato da molécula apresentar um grande impedimento estérico, o que acaba dificultando a reação com tióis e/ou peróxidos quando submetidos à reação de mimese da enzima GPx.³⁰ Por último, alguns compostos que merecem destaque são os análogos do ebselen derivados de peptídeos **13**.³¹ Boa parte destas estruturas peculiares apresentaram atividade GPx *like* maior que o ebselen, sendo que estes resultados dependem tanto da porção peptídica ligado ao nitrogênio quanto do peróxido utilizado nos testes.

Embora muitos estudos acerca das moléculas derivadas do ebselen sejam realizados até hoje, ainda existem divergências quanto ao mecanismo de atuação dessas substâncias como miméticos da enzima GPx.³²⁻³⁹ De acordo com algumas evidências experimentais coletadas de reações isoladas, foi proposta uma revisão do ciclo catalítico do ebselen e seus derivados na redução de peróxidos com tióis (Esquema 5). Inicialmente, o ebselen **6** reagiria com o tiol produzindo o sulfeto de selenenila **14**. Esta espécie sofreria o ataque de mais um equivalente do tiol produzindo o respectivo dissulfeto, seguido da oxidação da molécula restante formando o disseleneto **15**. Uma vez formado, o disseleneto **15**, na presença de excesso de peróxido, estaria em equilíbrio com o ácido selenênico **16**. Na última etapa, dois caminhos diferentes seriam possíveis: o ácido **16** poderia eliminar uma molécula de água para regenerar o ebselen **6**, ou poderia reagir com um equivalente de tiol e produzir o sulfeto de selenenila **14**, ambos retornando ao ciclo catalítico. Ainda, uma rota alternativa foi observada quando o peróxido está em excesso em relação à quantidade de tiol. Nesta, o peróxido de hidrogênio reagiria com o ebselen, formando o ácido selenínico **17** que então, reagiria com dois equivalentes de tiol para resultar no ácido selenênico **16**, eliminando dissulfeto. O restante do ciclo procederia da mesma maneira citada anteriormente.⁴⁰⁻⁴¹

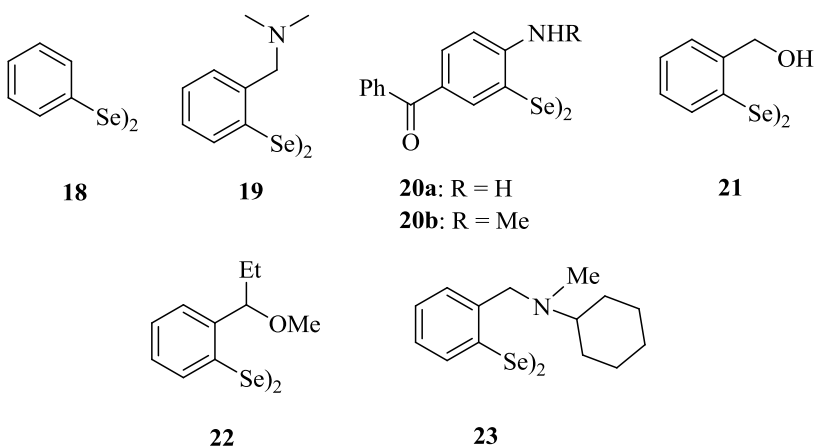
Esquema 5. Ciclo catalítico do ebselen e seus derivados na redução de peróxidos com tióis.



Como se observa no Esquema 5, os disselenetos são espécies presentes no ciclo catalítico do ebselen **6**. Desse modo, a hipótese de que essas substâncias por si só poderiam atuar na redução de peróxidos consumindo tióis, torna-se extremamente viável. Em vista disso, o emprego desses catalisadores como miméticos da enzima glutathione peroxidase foi realizado com sucesso. A Figura 5 mostra alguns desses exemplos bem sucedidos.⁴²⁻⁴⁴ O disseleneto de difenila **18**, por exemplo, possui uma atividade GPx *like* aproximadamente duas vezes maior que o ebselen.⁴² Ademais, como em outras reações de oxidação promovidas por disselenetos, o caráter dos substituintes presentes na estrutura do catalisador influencia na atividade do composto. Seguindo esta ressalva, os disselenetos contendo grupamentos álcool, amida ou amina, apresentam um aumento significativo em sua atividade mimética. Sendo assim, esta interação é de notória importância na atividade antioxidante destes compostos. Como exemplo, pode-se citar o disseleneto **19**⁴² que

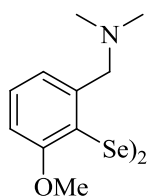
se apresenta 5 vezes mais ativo que o disseleneto de difenila e cerca de 10 vezes mais eficiente que o ebselen. O mesmo efeito se observa para os demais compostos **20a-b**,⁴³ **21**,⁴⁴ **22**⁴⁵ e **23**.⁴⁶ Vale ressaltar que o disseleneto de difenila, por apresentar características antioxidantes importantes, vem sendo utilizado como droga padrão, bem como o ebselen, quando realizados testes miméticos da enzima GPx para outros compostos.⁴⁷

Figura 5. Diversas estruturas de disselenetos com atividade mimética GPx.

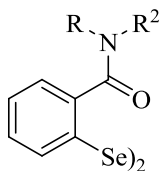


Outro exemplo que vale destacar é o disseleneto **24**, no qual a adição de um grupamento metoxila próximo ao átomo de selênio provoca um efeito positivo na eficiência catalítica deste composto, aumentando sua atividade mimética da GPx em relação ao seu análogo **19** (Figura 6).⁴⁸ Os grupamentos ligados ao nitrogênio das funções amida e amina também influenciam na atividade GPx *like* dos disselenetos. Nesse contexto, Mugesh e colaboradores desenvolveram estudos comparativos, nos quais a substituição de um hidrogênio em uma amida secundária **25a** por um grupamento metila **25b** leva a um aumento de cerca de 20 vezes na atividade mimética desta molécula. No entanto, aminas secundárias **26a**, são aproximadamente duas vezes mais efetivas na redução de peróxidos na presença de tiol do que aminas terciárias **26b**.⁴⁹⁻⁵¹

Figura 6. Diversas estruturas de disselenetos derivados de aminas e amidas com atividade mimética GPx.

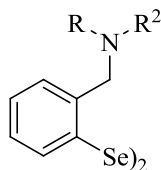


24



25a: R = H, R² = Me

25b: R = R² = Me

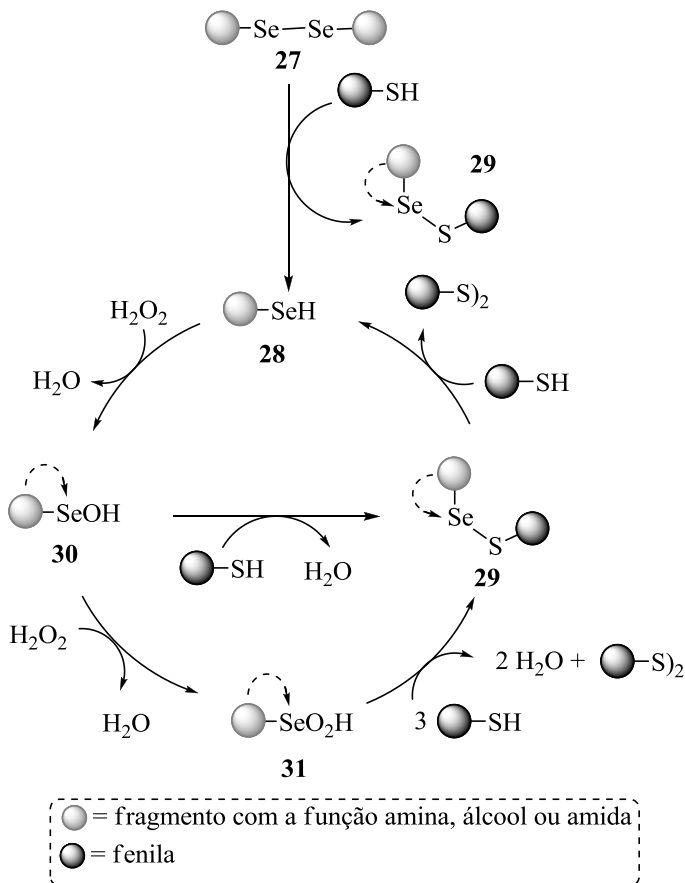


26a: R = H, R² = Me

26b: R = R² = Me

Do ponto de vista mecanístico, a reação inicial do ciclo catalítico para disselenetos é a reação do disseleneto **27** com tiol produzindo as espécies selenol **28** e sulfeto de selenenila **29** (Esquema 6). Nesta etapa, a espécie **29** que está deficiente em elétrons recebe o auxílio dos pares de elétrons dos grupamentos ligados à estrutura do catalisador. Esta interação não covalente do selênio com os heteroátomos dos grupamentos vizinhos é responsável pela maior atividade dos compostos com funções amida, amina ou álcool, em relação ao disseleneto de difenila. Após a primeira etapa do ciclo, o selenol reage com peróxido para produzir o ácido selenênico **30**, o qual, em excesso de peróxido, é oxidado ao ácido selenínico **31**. Este composto é reduzido por 3 equivalentes de tiol e forma o sulfeto de selenenila **29**. Alternativamente, o **29** pode ser produzido a partir do ácido selenênico **30**, pela reação com tiol quando não há excesso de peróxido. A última etapa, na sequência, é a reação do sulfeto de selenenila **29** com o tiol para gerar o dissulfeto e restituir o selenol **28** ao ciclo catalítico.⁵⁰

Esquema 6. Ciclo catalítico de disselenetos na redução de peróxidos com tióis.

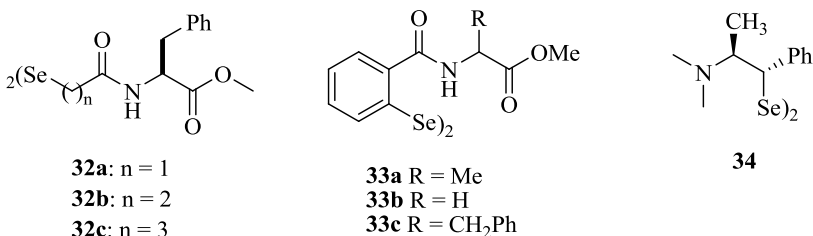


Em uma abordagem mais recente, Braga e colaboradores reportaram uma série de disselenetos derivados de L-aminoácidos que apresentaram atividade mimética da enzima glutatona peroxidase. Neste trabalho, os autores observaram que a atividade dos compostos sintetizados é influenciada pela distância entre o selênio e o grupamento funcional. No caso dos disselenetos derivados de aminoésteres **32a-c** quanto mais longa a cadeia, melhor o desempenho do catalisador, pois permite uma melhor interação do selênio com o oxigênio da amida.⁵² Semelhantes a estes exemplos, porém com conformação mais restrita,

Singh e colaboradores sintetizaram uma série de disselenetos derivados do ácido antranílico, formando ligação amida com diferentes L-aminoácidos **33a-c**. Estes compostos também apresentaram pronunciada atividade GPx *like* (Figura 7).⁵³

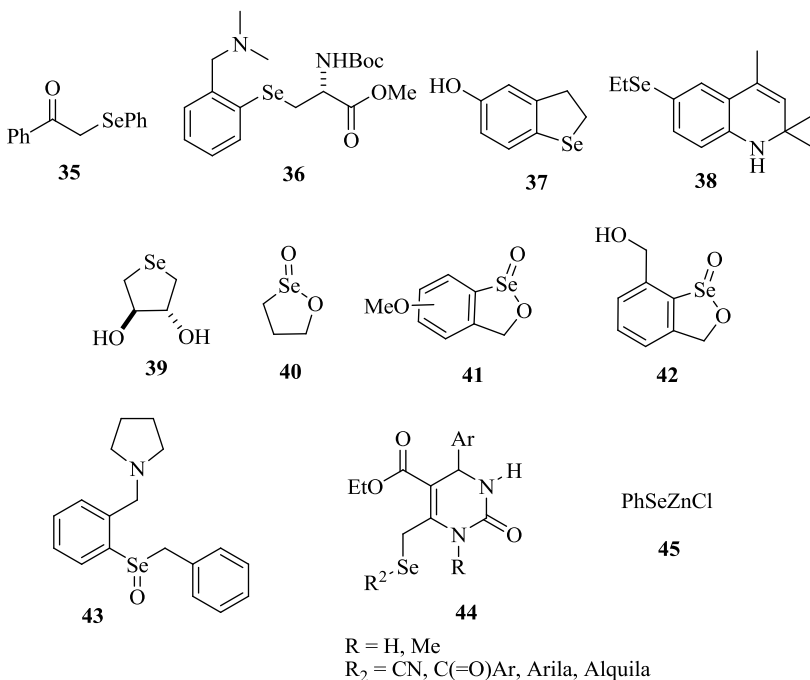
No que diz respeito à aplicação disselenetos com interação não covalente como miméticos da enzima glutationa peroxidase, merece destaque o disseleneto derivado da efedrina **34**. Além de ser empregado como catalisador quiral, este composto mostrou eficiência catalítica acentuada quando submetido à reação de redução de peróxidos na presença de tióis.⁴⁷

Figura 7. Disselenetos contendo aminas e amidas com atividade mimética à enzima GPx.



Ainda que selenoamidas e seus derivados bem como disselenetos sejam bastante estudados como catalisadores em reações de oxidação de tióis na presença de peróxido, a habilidade de mimetizar a enzima glutationa peroxidase não se limita somente a essas duas classes de compostos. Selenosubutilisina (selenoenzima artificial) e seus derivados, por exemplo, possuem uma alta eficiência como miméticos da selenoenzima natural GPx.⁵⁴⁻⁵⁶ Outrossim, alguns selenetos mostrados na Figura 8 também apresentam atividade GPx *like*, atuando por diferentes mecanismos de ação. Os selenetos **35** e **36** são considerados pré-catalisadores, pois a espécie ativa (sulfeto de selenenila) será formada após a reação dos mesmos com tiol.⁵⁷ Já os compostos **37-39** reagem com peróxidos e produzem *in situ* o selenóxido correspondente, o qual é responsável por promover a oxidação dos tióis a dissulfetos.⁵⁸⁻⁶⁰ Uma característica importante do composto **39** é que este catalisador apresenta solubilidade em água, a qual é extremamente desejada para futuras investigações terapêuticas.

Figura 8. Exemplos representativos de outros compostos orgânicos de selênio com atividade GPx *like*.

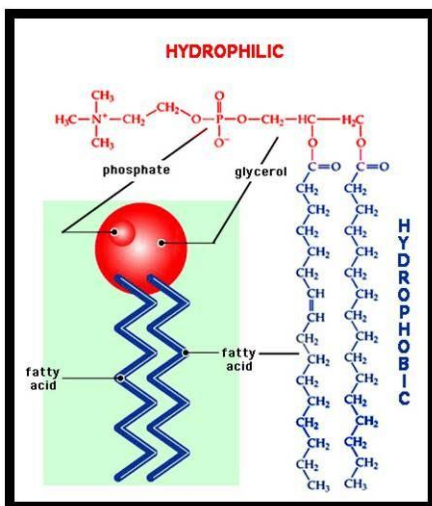


Outros catalisadores, como por exemplo, os ésteres cíclicos de selênio **40**,⁶¹⁻⁶² **41**⁶³⁻⁶⁴ e **42**⁶⁵ são compostos que apresentaram atividade GPx *like*. Um fato interessante sobre os compostos **41** é que a adição de vários grupamentos metoxila na estrutura do catalisador não causa efeito cumulativo na sua eficiência catalítica e este comportamento é atribuído ao maior impedimento estérico presente na molécula, o que acaba dificultando a formação do intermediário chave da reação. A habilidade de selenóxidos **43**,⁶⁶ selênio di-hidropirimidinonas **44**⁶⁷ e do cloreto de fenilselênio zinco **45**⁶⁸ de atuarem como miméticos da enzima GPx também foi recentemente reportada. Os selenóxidos atuam através da formação da espécie ativa, conhecida como peridróxisselena e o PhSeZnCl como precursor, assim como o disseleneto de difenila, do intermediário ácido selenênico. Já as selênio di-hidropirimidinonas se mostraram eficientes antioxidantes através de vários mecanismos de ação.

1.1.2 Atividade inibitória da peroxidação lipídica de compostos orgânicos de selênio

As membranas celulares apresentam uma composição geral que inclui uma bicamada lipídica associada a proteínas. Os principais componentes lipídicos das membranas são os fosfolípidios, os quais são formados por uma cauda hidrofóbica (apolar) e uma cabeça hidrofílica (polar). Comumente, a cauda é formada por cadeias de ácidos graxos com uma ou duas insaturações, como ilustrado na Figura 9.⁶⁹⁻⁷⁰

Figura 9. Estrutura Geral dos Fosfolípidios Contendo uma Cabeça Polar e Cauda Apolar, esta Formada por Cadeias de Ácidos Graxos.



Fonte:

http://www.fomosplanejados.com.br/capitulos/assuntos/assunto_fullscreen.asp?codcapitulo=26&codassunto=84&numero=12 (Acessado em: 15/02/2013).

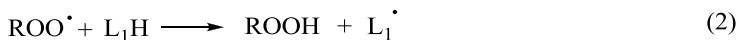
Os radicais livres, espécies eletrofílicas extremamente reativas, podem ser produzidos durante o metabolismo basal normal das células aeróbicas, e estas moléculas podem reagir com uma diversidade de biomoléculas e componentes celulares importantes, causando danos irreversíveis ao organismo.⁷¹

A peroxidação lipídica (PL) é uma das consequências da ação destes radicais livres nas membranas biológicas através do ataque aos lipídios insaturados presentes na mesma. A peroxidação lipídica acarreta no comprometimento das membranas celulares, pois as mesmas acabam perdendo suas características arquitetônicas. Nessas condições, as membranas se tornam suscetíveis às mudanças em suas propriedades, como a permeabilidade (criam-se fendas iônicas que favorecem o trânsito indiscriminado de metabólitos e detritos celulares, provocando a sua ruptura e lise, com consequência necrose celular),⁷² viscosidade, modificação na interação lipídio/proteína entre outros.⁷³

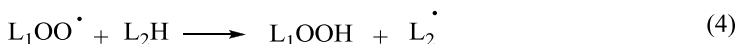
A peroxidação de lipídios (PL) ocorre em três etapas: iniciação, propagação e terminação e pode ser resumida nas reações abaixo.⁷⁴

Esquema 7. Reações de peroxidação de lipídios.

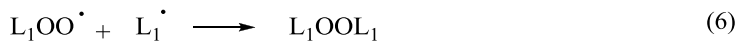
Iniciação:



Propagação:



Terminação:



$R \cdot$ = Radical livre em meio aeróbico $ROO \cdot$ = Radical peróxido

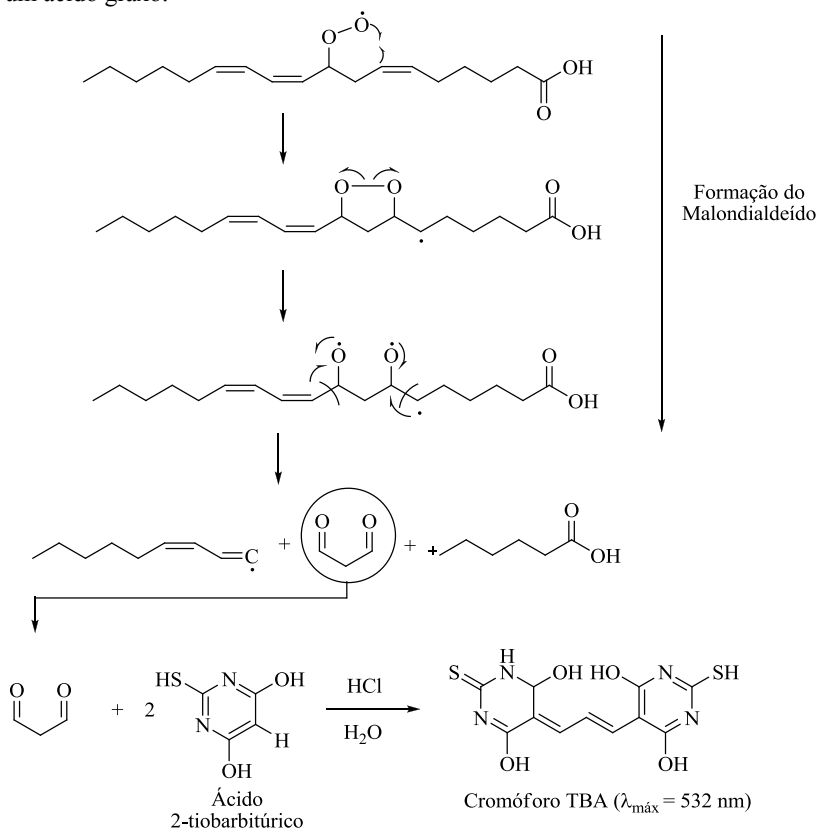
L_1H = Lipídio insaturado $ROOH$ = Hidroperóxido $L_1 \cdot$ = Radical livre

Primeiramente, a espécie reativa de oxigênio ($ROO \cdot$) se origina através da reação entre um radical livre e o oxigênio do meio aeróbico (Equação 1, Esquema 7). Em seguida, na fase conhecida como iniciação, o hidrogênio do ácido graxo insaturado (L_1H) reage com essa espécie reativa de oxigênio ($ROO \cdot$), produzindo o radical lipídico $L \cdot$ (Equação 2, Esquema 7). Já na fase de propagação (Equação 3, Esquema 7), o radical lipídico desenvolvido na reação anterior reage com oxigênio molecular, formando o radical peroxila ($LOO \cdot$). Este radical pode dar início a um novo processo de remoção de hidrogênio de uma nova molécula de ácido graxo o que resulta em mais um radical $L \cdot$ e hidroperóxido (L_1OOH).⁷⁵⁻⁷⁶ Com a formação de radicais peroxilas os danos podem ser ainda maiores, uma vez que eles podem atacar também as proteínas das membranas.⁷⁷ Em sequência, na fase de terminação (Equação 5, Esquema 7), dois radicais se combinam e produzem uma espécie não radicalar.⁷⁸

Adicionalmente, o hidroperóxido lipídico (L_1OOH) formado pode sofrer outras transformações e romper-se. Essas reações geralmente são catalisadas por metais de transição como ferro e cobre, e acabam criando diferentes espécies como alcanos, ácidos e aldeídos, tais como o malondialdeído (MDA), 4-hidroxinonal e isoprostanos, conhecidos como marcadores químicos, que podem ser detectados em amostras biológicas e utilizados para se analisar o estresse oxidativo.⁷⁹ Dentre esses produtos, destaca-se o malondialdeído que é muito utilizado em ensaios *in vitro*. A quantificação da formação do MDA tem sido extensivamente utilizada para avaliar a dimensão do dano oxidativo através da reação do mesmo com o ácido tiobarbitúrico (TBA).

Estudos que visam investigar o envolvimento da peroxidação lipídica podem ser feitos através de uma técnica de determinação indireta das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, na qual um dos produtos finais da peroxidação lipídica, o MDA, reage com o ácido tiobarbitúrico, originando um produto cromógeno de cor rosa que pode ser quantificado espectrofotometricamente ou por fluorescência.⁸⁰ No Esquema 8 ilustra-se a formação do malondialdeído a partir da peroxidação lipídica de um ácido graxo tri-insaturado C18 e, em seguida, a reação de condensação entre o MDA e o ácido tiobarbitúrico para formação do complexo cromóforo.

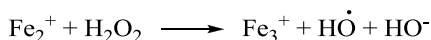
Esquema 8. Formação do malondialdeído a partir da peroxidação lipídica de um ácido graxo.



Ainda no que diz respeito à peroxidação lipídica e suas causas, um dos responsáveis por induzir a formação de radicais impulsionando a ocorrência deste tipo de reações em cadeia é o ferro (II). O ferro (II) desempenha importantes funções nos processos metabólicos, sendo um constituinte vital nas células de todos os mamíferos. O mesmo é encontrado em algumas enzimas que catalisam mecanismos de oxidação celular e, muitas vezes, a importância do ferro nos sistemas biológicos está ligada a uma grande variedade de reações de transporte de elétrons. Porém, a presença destes íons pode incitar a produção de radicais livres por diferentes mecanismos.⁸¹⁻⁸²

Inúmeras evidências sugerem que, quando há produção de peróxido de hidrogênio e do ânion superóxido em demasia, uma cadeia de reações de peroxidação lipídica ocorre na membrana celular, acarretando alteração da fluidez da mesma. Entretanto, o dano celular só aparecerá quando as espécies reativas de oxigênio e os radicais hidroxilas, altamente reativos, forem produzidos através da reação de Fenton (Esquema 9). Nesta reação o ferro reduzido doa um elétron para o peróxido de hidrogênio, o que resulta na produção do mais citotóxico dos EROs, o radical hidroxila (HO·). Desta forma, a participação do ferro é crucial na produção do HO·, o qual pode tanto iniciar a peroxidação lipídica quanto propagar as reações dos radicais livres. Além disso, pode oxidar boa parte das moléculas presentes nos sistemas biológicos.⁷⁴

Esquema 9. Reação Fenton.

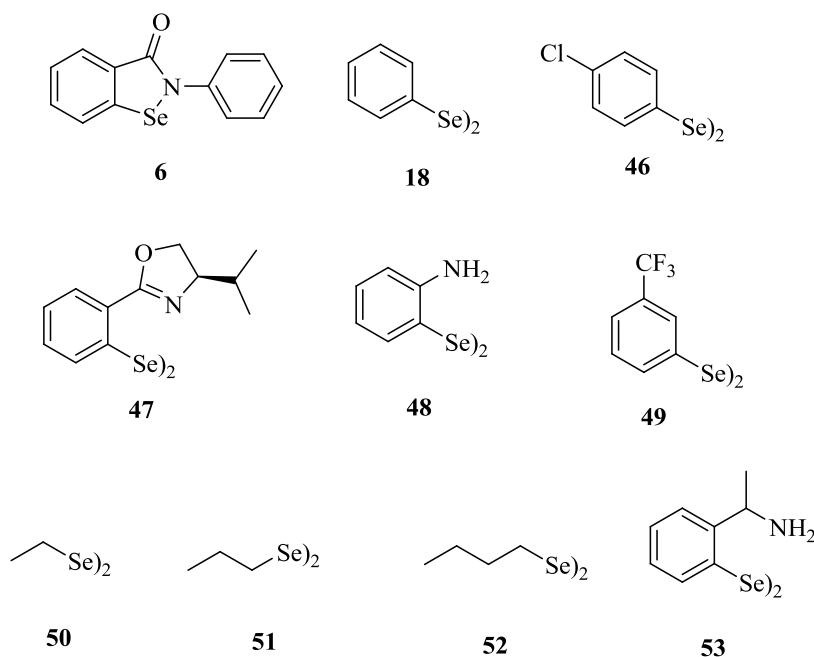


Nas últimas duas décadas, a atividade antioxidante do ebselen, seus derivados e outros compostos orgânicos de selênio vem sendo descrita em diferentes modelos experimentais, dentre estes, a peroxidação lipídica. A contribuição exata da atividade antioxidante de cada modelo ainda não está clara, mas a partir de um ponto de vista teórico, um composto que atue como antioxidante por duas ou mais vias pode ser considerado vantajoso, pois aumenta a sua capacidade em transformar as EROs em metabólitos inócuos.

Nesse contexto, na década de 80, Müller e colaboradores mostraram que o ebselen **6** possui grande capacidade de inibir a peroxidação lipídica *in vitro*.⁸³⁻⁸⁴ O estudo com disselenetos como inibidores da peroxidação lipídica (Figura 10) veio mais tarde com Batista e colaboradores.⁸⁵ Neste trabalho, os autores avaliaram o potencial antioxidante dos compostos **18**, **46** e **47**. Tanto o disseleneto de difenila **18** quanto o seu derivado clorado **46** apresentaram propriedades similares ao ebselen como inibidores da peroxidação lipídica induzida tanto pelo ácido quinolínico quanto pelo nitroprussiato de sódio. O compostos orgânicos de selênio derivado da L-valina **47**, surpreendentemente mostrou-se menos ativo como agente antioxidante quando comparado aos demais disselenetos já citados.

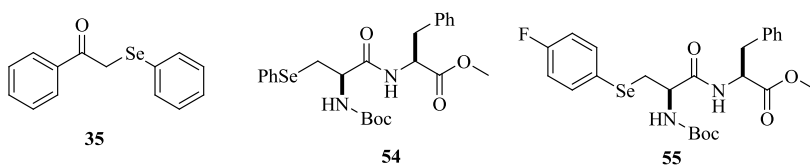
Após esse estudo, foi realizada a aplicação de disselenetos aromáticos contendo grupamentos doadores **48** e retiradores **46**, **49** de elétrons bem como de disselenetos alquílicos **50-52**.⁸⁶ Os resultados obtidos revelaram que os disselenetos **18**, **46**, **49** e **52** protegeram as amostras de cérebro de ratos contra peroxidação lipídica em baixas concentrações. Já os disselenetos **48**, **50** e **51** apresentaram atividade somente em altas concentrações de catalisador. Esse estudo revelou também que os compostos orgânicos de selênio **50** e **51** em baixas concentrações são considerados pró-oxidantes, uma vez que, nessas condições, aumentam a taxa de peroxidação lipídica. Recentemente foi reportada a atividade antioxidante do disseleneto contendo grupamento amina **53**.⁸⁷ Este composto se mostrou mais ativo na inibição da peroxidação lipídica, induzida por Fe(II) e nitroprussiato de sódio, do que o disseleneto de difenila. Os autores aferem este resultado obtido à possível interação não covalente existente entre o átomo de nitrogênio e selênio.

Figura 10. Exemplos de compostos orgânicos de selênio com atividade inibitória da peroxidação lipídica.



Outras classes de compostos contendo selênio vêm sendo aplicadas neste tipo de estudo e apresentando ótimos resultados, como é o caso do seleneto **35**,⁸⁸ que protegeu *in vitro*, contra a peroxidação lipídica, células de cérebro de ratos. Já os selenopeptídeos **54-55**⁸⁹ mostraram excelentes atividades antioxidantes *in vitro* frente à peroxidação lipídica do ácido linoleico, induzida por nitroprussiato de sódio (Figura 11).

Figura 11. Exemplos de selenetos com atividade inibitória da peroxidação lipídica.



1.1.3 Atividade como substratos da enzima tiorredoxina redutase de compostos orgânicos de selênio

O sistema da glutathiona peroxidase somado ao sistema da tiorredoxina redutase são conhecidos como os principais reguladores do ambiente redox intracelular.⁹⁰⁻⁹¹ Este último se destaca pela importância em outros processos celulares como: síntese de DNA, defesa contra o estresse oxidativo, regulação da apoptose, sinalização redox, proliferação celular etc. (Esquema 10), sendo distribuído em vários órgãos e tecidos dos mamíferos.⁹²⁻⁹⁴

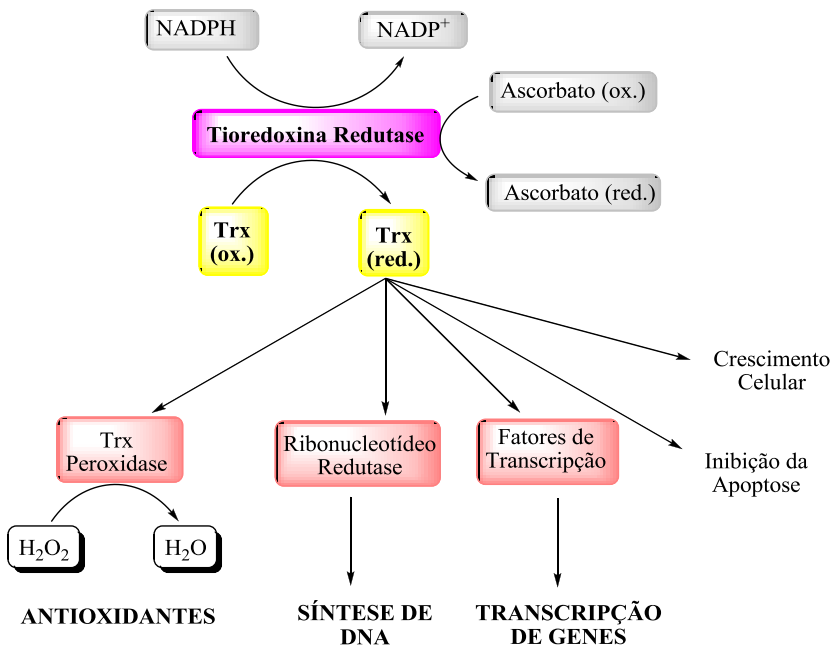
As isoenzimas TrxR (oxirredutases) são flavoenzimas homodiméricas que contém um FAD (flavina-adenina-dinucleotídeo) por subunidade e é dependente de NADPH (fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina). Ela é uma selenoproteína que contém um resíduo de selenocisteína (Sec) próximo à porção carboxi-terminal, o qual é essencial para sua atividade.⁹⁵

O sistema da tiorredoxina compreende o NADPH, a proteína tiorredoxina (substrato Trx) e a enzima tiorredoxina redutase.⁹⁶⁻⁹⁷ A TrxR reduz a ligação/ponte dissulfeto da Trx usando NADPH como fonte de elétrons.^{91,98}

A TrxR catalisa a redução principalmente da tiorredoxina, mas devido à alta acessibilidade e reatividade do selenolato da porção C-

terminal do sítio ativo desta enzima, ela também é capaz de reduzir outros substratos como: hidroperóxidos lipídicos,⁹⁹ a vitamina C,¹⁰⁰ selenitos etc.¹⁰¹ Apesar de atuar diretamente na degradação de hidroperóxidos, a tiorredoxina redutase também está envolvida na proteção contra as EROs através do controle do estado redox da tiorredoxina.¹⁰² Isto por que, estando reduzida a TrxR atua como doador de elétrons e reduz uma série de enzimas antioxidantes intra e extracelulares, além de poder atuar como substituta da glutaciona (Esquema 10).¹⁰⁰

Esquema 10. Importância da tiorredoxina redutase (TrxR) e tiorredoxina (Trx).

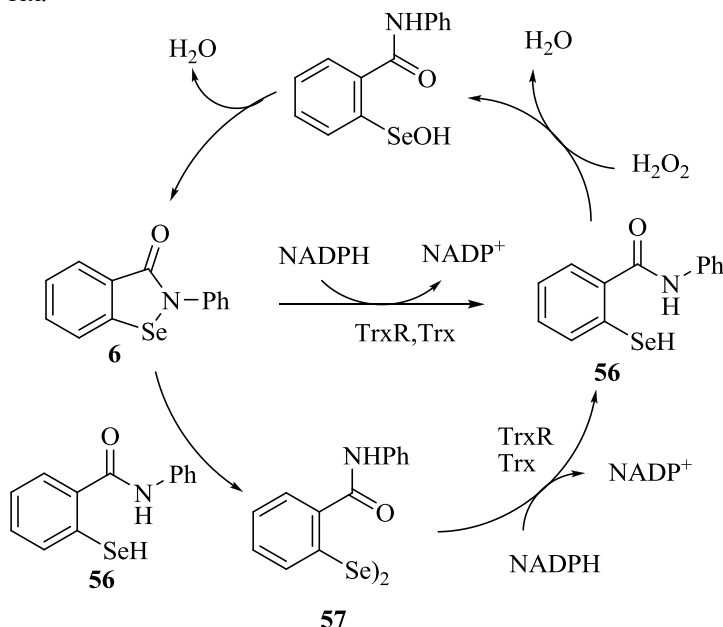


Como pôde ser observado, a tiorredoxina redutase possui uma importância ímpar no organismo e, em virtude disso, tem se tornado um alvo terapêutico interessante. Nesse contexto, estudos mostram que a atividade antioxidante da TrxR de mamíferos poderia estar relacionada à regeneração direta de compostos antioxidantes pela enzima. Dessa forma, a redução de compostos orgânicos de selênio para a síntese da

própria enzima e de outras selenoproteínas torna a TrxR uma enzima crucial no metabolismo do selênio no organismo.¹⁰³ Acredita-se também que, quanto maior a concentração de moléculas contendo selenol livre dentro do meio celular, maior será a capacidade antioxidante do mesmo por meio da degradação de peróxidos. Neste cenário, vários pesquisadores têm se dedicado no *design* e na síntese de compostos orgânicos de selênio capazes de mimetizar a enzima GPx e, ao mesmo tempo, atuarem como substratos da enzima tiorredoxina redutase. Esse interesse é de extrema relevância uma vez que as moléculas sintetizadas seriam consideradas fortes antioxidantes e se tornariam alvos terapêuticos para doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

Zhao e colaboradores recentemente demonstraram que o potencial antioxidante apresentado pelo ebselen **6** pode estar relacionado às reações com o sistema tiorredoxina. A redução do ebselen através da TrxR na presença de NADPH e/ou Trx é capaz de formar a espécie selenol **56**, que atuará como redutor de peróxidos. Além disso, os autores mostraram que o selenol, derivado do ebselen, reage com um equivalente do ebselen para formar o disseleneto **57**, que também pode ser transformado em **56** pelo NADPH catalisada pela TrxR (Esquema 11).¹⁰⁴

Esquema 11. Redução do ebselen através da TrxR na presença de NADPH e/ou Trx.

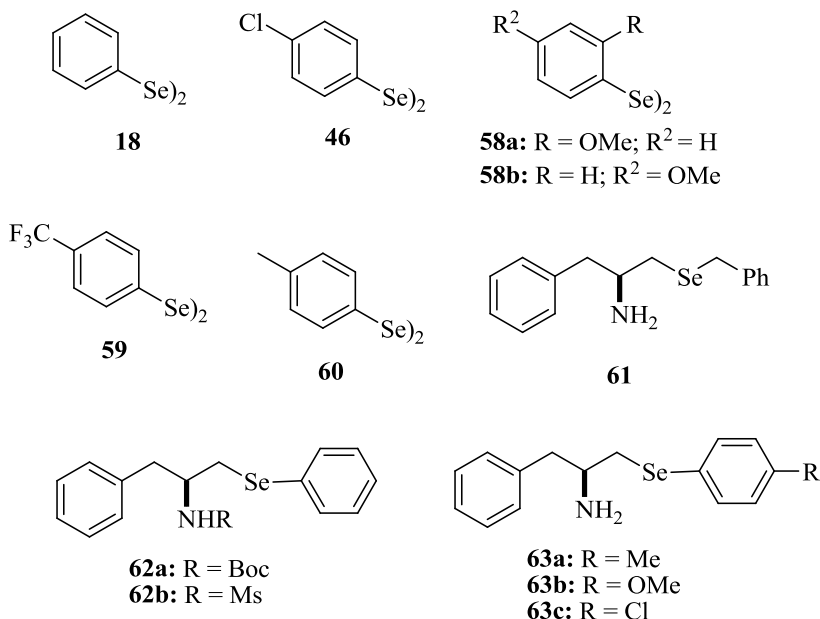


A partir daí, outros compostos de selênio foram estudados pelo seu potencial de serem substratos da TrxR. Na Figura 12 são ilustradas as estruturas de outros compostos orgânicos de selênio que se apresentam como substratos da selenoenzima tiorredoxina redutase. Tanto o disseleneto de difenila **18** quanto alguns de seus análogos **46** e **58-60** são substratos da TrxR.¹⁰⁵ As β-selenoamidas **61-63** apresentaram bons desempenhos como substratos da TrxR e por apresentarem interessantes propriedades antioxidantes continuam sendo alvo de estudos.¹⁰⁶ Um fato interessante a destacar é que nem sempre bons substratos da TrxR serão bons miméticos da GPx e vice versa.¹⁰⁵

Em 2011, um estudo interessante foi realizado por Batista e colaboradores. Neste trabalho, foi demonstrado que na presença da tiorredoxina redutase do cérebro de ratos os disselenetos **18**, **46** e **58b** estimularam a oxidação do NADPH, indicando que são substratos da TrxR. No entanto, o ebselen **6** e o disseleneto **59**, que eram substratos das enzimas TrxR hepáticas, não foram substratos das enzimas TrxR cerebrais. Estes estudos sugerem que o disseleneto de difenila **18** pode

exercer sua atividade neuroprotetora tanto por via da mimese da GPx quanto através de sua redução pela TrxR. Já o ebselen **6** apresenta atividade neuroprotetora em decorrência de ser mimético da GPx.¹⁰⁷

Figura 12. Exemplos de compostos orgânicos de selênio substratos da enzima tioredoxina redutase.

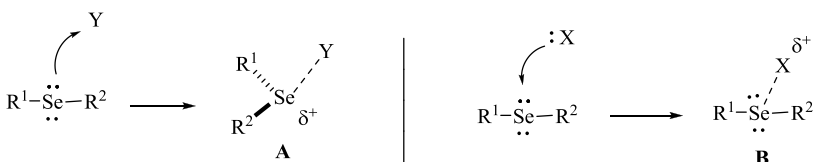


Outros trabalhos referentes à utilização de compostos contendo selênio com capacidade de serem substratos da enzima tioredoxina redutase foram publicados nos últimos anos, sem, contudo, apresentarem explicações relevantes no que concerne a modificações na estrutura dos compostos orgânicos de selênio vs sua atividade antioxidante.^{89,105} Assim, e considerando o potencial destes compostos de serem empregados como antioxidantes por vários mecanismos de ação, até o momento pouco progresso foi alcançado na área de pesquisa. A possibilidade de utilização de novos compostos com estruturas mais elaboradas e refinadas oferece uma perspectiva promissora na busca de moléculas com atividades mais pronunciadas.

1.2 Compostos orgânicos de selênio com interação entre selênio e heteroátomo

O átomo de selênio normalmente, em moléculas orgânicas, aparece na sua forma divalente, apresentando duas ligações covalentes e dois pares de elétrons de valência. Apesar de o átomo de selênio atingir a configuração de gás nobre com duas ligações covalentes, em solução ou no estado sólido, ele com frequência aparece interagindo com heteroátomos vizinhos produzindo espécies conhecidas como: espécies de selênio pseudo-hipervalente.¹⁰⁸⁻¹¹¹ Essas interações são chamadas de interações não ligantes ou não covalentes e podem ocorrer nos compostos orgânicos de selênio de duas formas, conforme mostrado na Figura 13. No primeiro caso **A**, o átomo de selênio doa fracamente um par de elétrons para o heteroátomo vizinho ($Y = \text{Pt}, \text{Hg}, \text{etc.}$) e no segundo caso **B**, recebe parcialmente um par de elétron ($X = \text{N}, \text{O}, \text{S}, \text{etc.}$).¹¹²⁻¹¹³

Figura 13. Diferentes formas de interação não covalente entre o selênio divalente e o heteroátomo vizinho.



A química de compostos derivados de selênio estabilizados por uma interação intramolecular $\text{Se}\cdots\text{X}$ ($\text{X} = \text{N}, \text{O}, \text{S}, \text{Se}, \text{F}, \text{Cl}$) tem atraído atenção nos últimos anos. Estes derivados são interessantes por terem uma estrutura versátil que oferece.¹¹⁴

- compostos orgânicos de selênio hipervalentes estáveis, onde o selênio divalente interage com um heteroátomo vizinho ($\text{O}, \text{N}, \text{Se}, \text{etc.}$) para formar a espécie pseudo-hipervalente. A natureza hipervalente do selênio é dita como responsável pela reatividade redox dos compostos orgânicos de selênio bem como sua alta bioatividade;
- a possibilidade de serem usados como reagentes eletrofílicos ou nucleofílicos em síntese assimétrica;

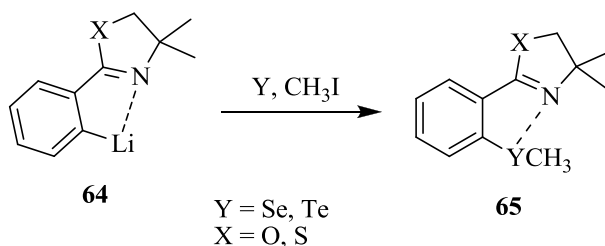
- c) ligantes para catálise aquiral e quiral;
- d) modelos sintéticos para família da enzima glutathione peroxidase, onde a interação $\text{Se}\cdots\text{N}$ estabiliza a molécula do ácido selenênico, dentre outras. Interessante destacar que todo composto de selênio de valência baixa que possui um heteroátomo vizinho, apresenta coordenação intramolecular com este.

A natureza da interação entre o selênio e o heteroátomo vizinho tem sido demonstrada por vários autores para uma gama de compostos orgânicos de selênio. Uma combinação de técnicas pode ser utilizada para tal identificação, como: cristalografia de Raio-X, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e selênio e cálculos de DFT. Sendo que o principal fator que contribui para essas interações não ligantes é identificado como resultante da interação entre orbitais.¹¹⁴

1.2.1 Interação intramolecular não ligante entre os átomos de selênio e nitrogênio ($\text{Se}\cdots\text{N}$) ou selênio e oxigênio ($\text{Se}\cdots\text{O}$)

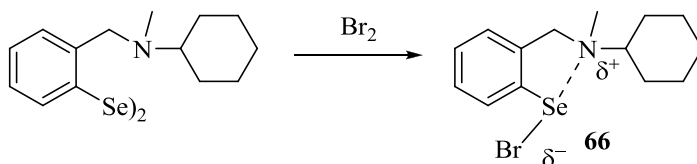
O primeiro exemplo de interação intramolecular $\text{Se}\cdots\text{N}$ em compostos orgânicos de selênio foi reportado por Christiaens e colaboradores em 1984.¹¹⁵ O intermediário ortolitado **64**, como mostrado no Esquema 12, foi estabilizado pelo par de elétrons não ligantes do átomo de nitrogênio. Neste caso a interação atua como direcionador para ocorrer a ortolitiação. Já nas oxazolininas formadas, representadas pela estrutura **65**, a interação não ligante ocorre entre o nitrogênio e o átomo de calcogênio, estabilizando-as. É válido ressaltar que, neste primeiro caso, as técnicas de raio-X e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR) ainda não foram empregadas.

Esquema 12. Interação intramolecular Se···N em compostos orgânicos de selênio reportada por Christiaens e colaboradores.



A utilização da análise cristalográfica de raio-X e espectroscopia de NMR foi empregada para resolução deste tipo de estrutura somente em 1992, por Iwaoka e colaboradores.¹¹⁶ O disseleneto estudado está representado no Esquema 13. Em estado sólido, as distâncias atômicas dos átomos de selênio e nitrogênio e os ângulos de ligações obtidos claramente indicam uma interação entre o selênio divalente e o nitrogênio da amina terciária. No ^1H NMR, não foi observado nenhum indício de interação Se···N em solução, isso devido a pouca eletrofilicidade do átomo de selênio divalente, uma vez que o solvente estaria suprimindo a ocorrência desta interação. Já quando o disseleneto é oxidado à espécie **66**, o ^1H NMR comprova a interação intramolecular entre os átomos de Se e N.

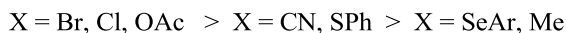
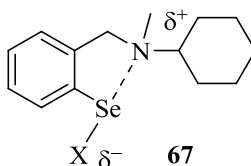
Esquema 13. Interação intramolecular Se···N em compostos orgânicos de selênio reportada por Iwaoka e colaboradores.



Posteriormente, os mesmos autores estudaram a natureza das interações intramoleculares em selenobenzilaminas **67** através de espectroscopia de ^1H , ^{77}Se , e ^{15}N NMR.¹¹⁷ Os resultados obtidos sugerem que os compostos podem ser classificados de acordo com a força de interação Se···N e correlacionado com a eletrofilicidade da

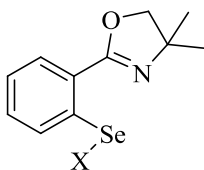
porção Se-X, como mostrado na Figura 14. Ainda para compostos halogenados, as propriedades exibidas pelos estudos de NMR também mostraram que a força da interação entre o Se...N aumenta com o aumento da reatividade eletrofílica do átomo de selênio, seguindo esta ordem SeCl > SeBr > SeI.

Figura 14. Selenobenzilaminas utilizadas no estudo.

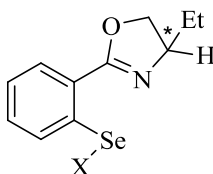


Outro estudo interessante foi desenvolvido por Singh e colaboradores. Os autores analisaram as interações intramoleculares não ligantes para uma série de compostos orgânicos de selênio aquirais e quirais derivados de oxazolinas **68-69**, contendo um átomo de nitrogênio sp^2 como doador do par de elétrons (Figura 15).¹¹⁸⁻¹¹⁹ O ^{77}Se NMR foi utilizado e a interação não ligante entre Se...N resultou em deslocamento do sinal para um campo mais baixo. Para os mono-haletos **68a-c** o deslocamento químico no ^{77}Se NMR seguiu a seguinte ordem: Cl > Br > I, mostrando que o aumento do deslocamento na ressonância de selênio ocorre de acordo com o aumento da eletronegatividade do halogênio ligado, tornando o selênio com maior caráter eletrofílico.

Figura 15. Compostos orgânicos de selênio aquirais e quirais derivados de oxazolinás.



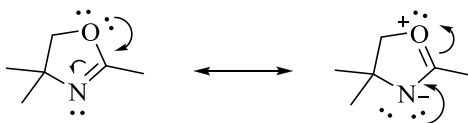
- 68a:** X = Cl
68b: X = Br
68c: X = I
68d: X = CH₂Ph



- 69a:** X = Br
69b: X = I

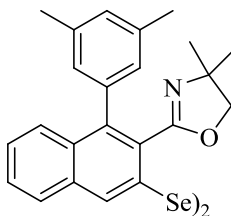
Em todos os compostos, o átomo de nitrogênio presente no heterociclo de cinco membros é o heteroátomo que interage diretamente com o selênio, formando outro anel de cinco membros. Foi sugerido que a interação Se...N e esta estabilidade não comum destes compostos se deve ao fato de que o par de elétrons presente no oxigênio possa estar envolvido na ressonância com o sistema π do anel, como mostrado no Esquema 14.¹¹³

Esquema 14. Ressonância que confere estabilidade à interação Se...N.



A literatura indica que, a interação Se...N ocorre preferencialmente à interação Se...O quando anéis oxazolinicos estão presentes em orto ao selênio. No entanto, devido ao impedimento estérico vizinho ao átomo de nitrogênio, em alguns casos como no composto **70**, a interação Se...O foi observada (Figura 16).¹²⁰⁻¹²¹

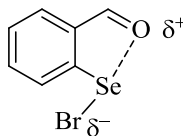
Figura 16. Composto de selênio com interação intramolecular não-ligante entre $\text{Se}\cdots\text{O}$ preferencialmente à interação $\text{Se}\cdots\text{N}$.



70

Um dos primeiros relatos de compostos descritos com interação $\text{Se}\cdots\text{O}$ foi em 1975.¹²² Neste trabalho, os autores observaram através de difração de Raio-X que o composto **71**, mostrado na Figura 17, apresentou interação não ligante entre os átomos de selênio e oxigênio, juntamente com uma tendência em formar um anel quelado de cinco membros.

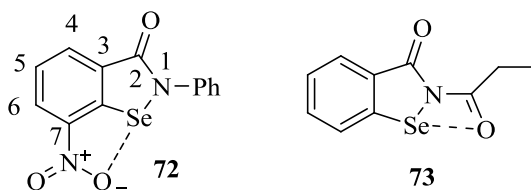
Figura 17. Composto de selênio com interação intramolecular não-ligante entre $\text{Se}\cdots\text{O}$.



71

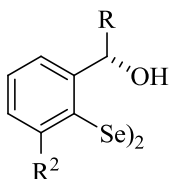
Outra abordagem interessante para este tipo de interação foi descrita em 1988.¹²³ Com o objetivo de aumentar a atividade catalítica do conhecido mimético da GPx, o ebselen, os autores sintetizaram compostos com substituintes na posição 7 e no nitrogênio ligado ao selênio (Figura 18). Tanto para o composto **72** quanto para o **73** foram observadas, através da análise cristalográfica, interações não ligantes entre o Se e o O.

Figura 18. Compostos derivados do ebselen com interação intramolecular não-ligante entre Se...O.



Em 1998, Wirth e colaboradores reportaram a síntese e aplicação em reações de metoxisselenação assimétricas dos disselenetos quirais enantiomericamente puros **74a-d** mostrados na Figura 19.¹²⁴⁻¹²⁵ Neste trabalho foi mostrado que o átomo de oxigênio ligado ao centro assimétrico da molécula próximo ao átomo de selênio foi o responsável pela eficácia na indução de quiralidade.

Figura 19. Disselenetos quirais utilizados por Wirth e colaboradores.



74a: R = Et, R² = H

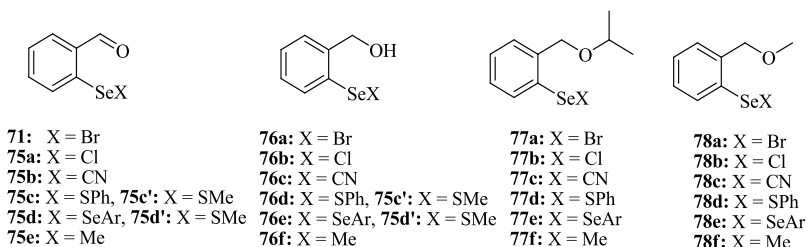
74b: R = Et, R² = OMe

74c: R = Me, R² = H

74d: R = Me, R² = OMe

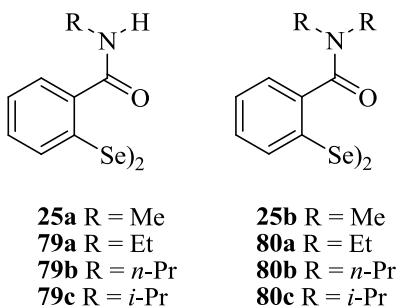
Ainda no contexto de compostos com interação intramolecular não ligante entre o selênio e o oxigênio, Tomoda e colaboradores realizaram um sistemático estudo através da espectroscopia de ¹⁷O e ⁷⁷Se NMR para os compostos **71**, **75-78** (Figura 20).¹²⁶⁻¹²⁷ Nestes estudos os autores observaram, dentre outras coisas, que o efeito anisotrópico magnético presente nos compostos **71**, **75a-e**, possui uma grande influência no deslocamento químico do selênio, devido a sua proximidade com o grupamento carbonila presente na estrutura.

Figura 20. Compostos de selênio com interação intramolecular não-ligante entre $\text{Se}\cdots\text{O}$ objetos de estudo de Tomoda e colaboradores.



Recentemente, Bhabak e Mugesh⁴⁹ sintetizaram uma série de disselenetos derivados de amidas secundárias e terciárias (**25a-b**, **79a-c** e **80a-c**) e estudaram a sua atividade como miméticos da GPx (Figura 21). Para entender a natureza das interações $\text{Se}\cdots\text{O}/\text{N}$ os autores submeteram alguns dos compostos às análises de difração de raio-X, sendo que as estruturas dos mesmos sugeriram que o oxigênio do grupo carbonila interage com o selênio, levando à formação de um arranjo $\text{O}\cdots\text{Se}-\text{Se}\cdots\text{O}$. Os estudos também sugeriram que grupos mais volumosos nas amidas terciárias diminuem a força da interação $\text{Se}\cdots\text{O}$.

Figura 21. Disselenetos derivado de amidas com interação $\text{Se}\cdots\text{O}$.



1.3 Métodos de preparação do ebselen e seus derivados

Como citado anteriormente, a glutatona peroxidase (GPx) é uma selenoenzima de fundamental importância na redução do excesso de peróxidos nas células dos mamíferos. Sendo assim, a busca por compostos que possam mimetizar a atividade desta enzima é um campo fértil na química de compostos de selênio. Além das características biológicas, compostos orgânicos de selênio possuem outras vantagens no que diz respeito às características químicas e sintéticas. Nesse contexto, moléculas contendo selênio são facilmente transformadas em reagentes nucleofílicos, eletrofílicos e radicalares que podem ser empregados em uma série de reações orgânicas. Além disso, substratos quirais contendo selênio são muito utilizados em reações estereosseletivas.¹²⁸⁻¹³⁰ Dessa forma, compostos heterocíclicos contendo selênio, por possuírem características químicas e propriedades farmacológicas ímpares, vêm sendo amplamente estudados.¹³¹ Embora, o perfil biológico do Ebselen (2-fenil-1,2-benzisoselenazol-3(2*H*)-ona) seja bem conhecido, há um crescente número de metodologias para a síntese de derivados do mesmo, na busca de moléculas mais efetivas e menos tóxicas e de metodologias mais limpas e baratas. Do ponto de vista sintético, é interessante ressaltar o fato desses compostos derivados do ebselen se apresentarem como eficientes catalisadores em vários tipos de reações orgânicas, tais como, a bromolactonização de ácidos alcenoicos e a oxidação de álcoois secundários às cetonas.¹³²

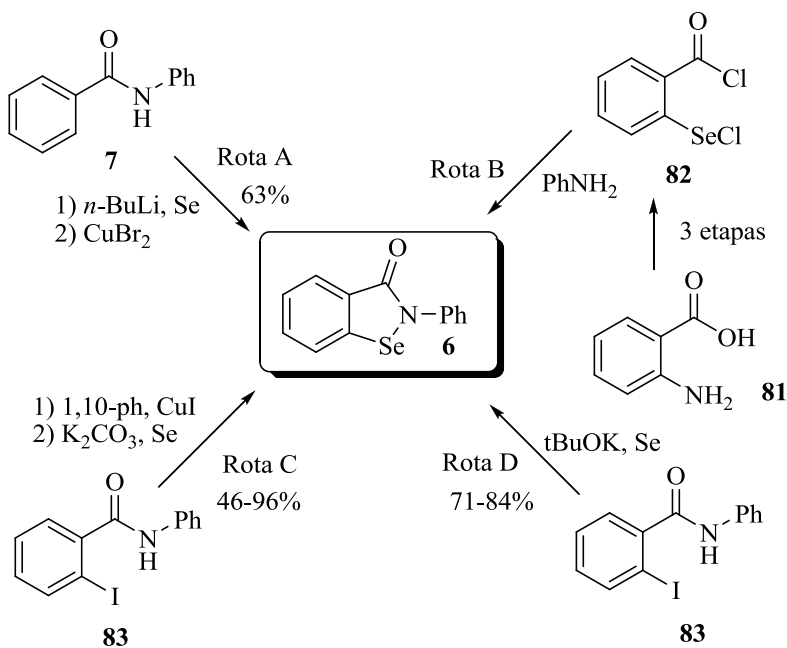
Desde o final da década de 80 foram desenvolvidas muitas metodologias para a obtenção de benzoselenazol-3(2*H*)-onas (estruturas derivadas do ebselen **6**). Nesse sentido, quatro desses métodos descritos recebem destaque por serem os mais empregados até hoje (Figura 22).

Como previamente mencionado, um método bastante utilizado foi descrito por Engman em 1989. Nesta reação o autor utiliza a benzanilida **7** (Figura 22 – Rota A), butil lítio, selênio elementar e brometo de cobre como oxidante para obtenção do heterociclo desejado, o ebselen **6**, em 63 % de rendimento.²⁴ Outra metodologia conhecida para formação de ligações Se-N é através da Rota B. Nesta estratégia sintética, primeiramente ocorre a diazotação do ácido antranílico **81**. Este intermediário diazotado, por sua vez, reage com o disseleneto de sódio para produzir o disseleneto *o*-ácido dibenzoico, o qual pela reação com cloreto de tionila forma o intermediário clorado **82**. Por fim, para obtenção da molécula desejada, submete-se o composto **82** à reação com

a amina primária correspondente, no caso, a benzilamina e obtêm-se o produto **6** em rendimento moderado.¹³³

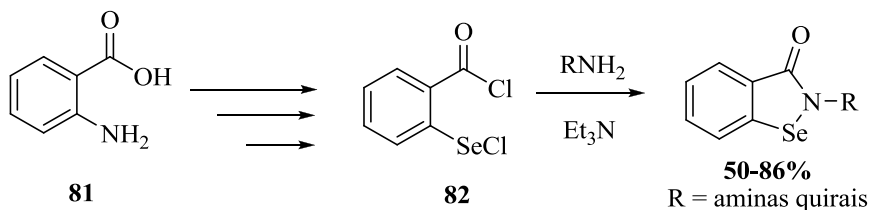
Mais recentemente, Kumar e colaboradores propuseram duas diferentes rotas para obtenção do ebselen e seus derivados utilizando os mesmos substratos, as *o*-iodobenzamidas *N*-substituídas **83** (Figura 22-Rota C e Rota D).¹³⁴⁻¹³⁶ Pela rota sintética C, os autores promoveram um acoplamento Se-N utilizando carbonato de potássio como base e catalisado por um complexo formado por CuI e 1,10-fenantrolina.¹³⁴⁻¹³⁶ Pelo método ilustrado na Rota D, os autores geram *in situ* a espécie $KSeO^tBu$, pelo tratamento do *t*BuOK com selênio em uma estequiometria 2:1, e reagiram-na com a *o*-iodobenzamida desejada.¹³⁶ Em ambos os casos, os rendimentos obtidos variaram de bons a ótimos (Esquema 15).

Esquema 15. Metodologias para a síntese de benzisoselenazol-3(2*H*)-onas.



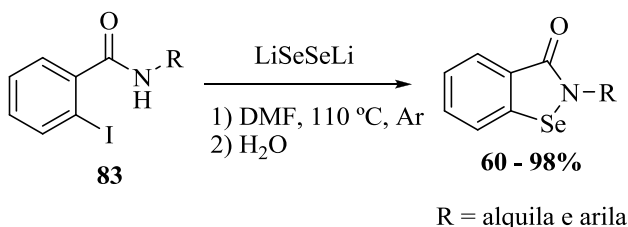
Em 2014, Elsherbini e colaboradores reportaram a síntese de novos análogos quirais do ebselen.³⁰ Para a obtenção dos compostos desejados, os autores utilizaram o intermediário chave **82**, trataram-no com as aminas quirais desejadas, na presença de trietilamina e éter ou acetonitrila secos como solvente. Foram preparados nove compostos e os rendimentos obtidos variaram entre 50-86 % (Esquema 16).

Esquema 16. Síntese empregada por Elsherbini e colaboradores.



Em uma abordagem ainda mais recente, Pacuta e colaboradores descreveram uma nova rota “one pot” para a formação de benziselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas.²⁹ Esta metodologia está baseada na reação de *o*-iodobenzamidas **83** com disseleneto de lítio. Uma série de derivados alquílicos e arílicos foi sintetizada, com bons a excelentes rendimentos (Esquema 17).

Esquema 17. Síntese empregada por Pacuta e colaboradores.

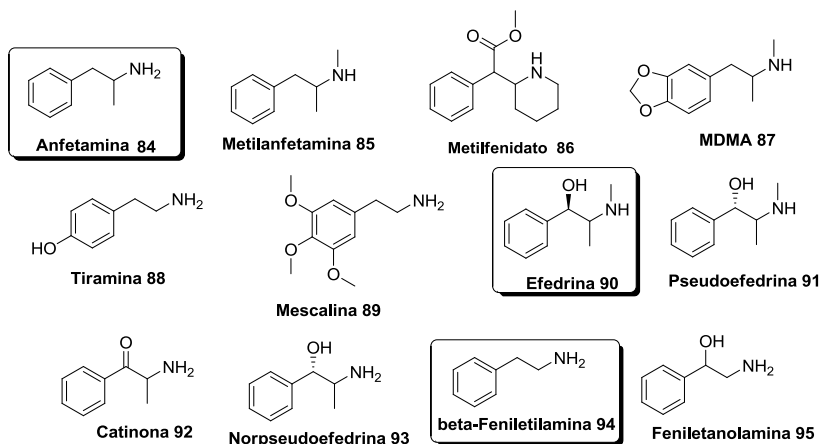


1.4 Importância na síntese de novos compostos biologicamente importantes contendo selênio

Anfetaminas e seus derivados **84-95** (Figura 22) são considerados as principais drogas da classe das psicoativas devido ao seu grande potencial estimulante do sistema nervoso central.¹³⁷⁻¹³⁸ A classe das feniletilaminas interfere no sistema nervoso periférico e é capaz de induzir a liberação de noradrenalina, atuando assim, como potente vasoconstritor. Somado a isso, essas aminas são importantes intermediários na síntese de compostos com interesse fisiológico como alcaloides e aminoácidos.¹³⁹

Da mesma maneira que as amfetaminas podem ser de origem vegetal e sintética, de acordo com Nakajima¹⁴⁰ e Inwang¹⁴¹ algumas podem ser produzidas no sistema nervoso periférico e no cérebro, respectivamente. Como exemplo, a descarboxilação da fenilalanina que produz como metabólito a β -feniletilamina **94**, dentre outros. Estes compostos têm sido sugeridos como moduladores do comportamento afetivo, incluindo excitação e estado de alerta.¹⁴²

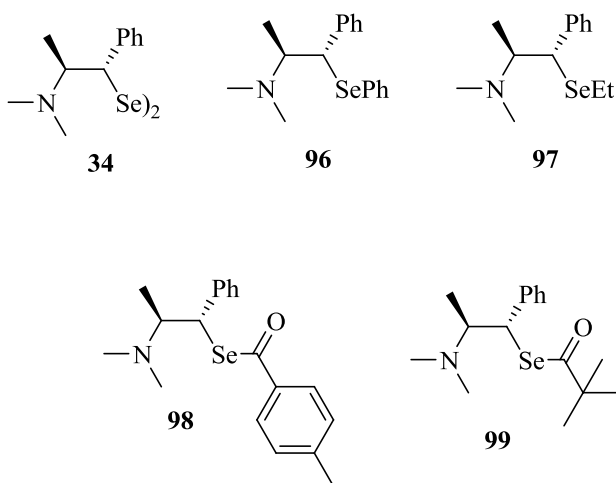
Figura 22. Anfetaminas e seus derivados.



Neste contexto, na tentativa de desenvolver e avaliar o perfil biológico de compostos orgânicos de selênio contendo aminas

potencialmente ativas, o grupo de pesquisa no qual esta autora é partícipe reportou recentemente a síntese de alguns compostos orgânicos de selênio derivados da efedrina **90**.⁴⁷ Dentre as moléculas sintetizadas **34**, **96-99**, o disseleneto **34** se mostrou interessante por apresentar melhor atividade GPx *like* quando comparado com seus análogos bem como com o disseleneto de difenila (cerca de 11 vezes mais ativo) (Figura 23).

Figura 23. Compostos de selênio derivados da efedrina.



Como discutido previamente, o selênio possui a capacidade de interagir com o heteroátomo (N, O, S) que se encontra na mesma molécula.¹¹³ O aumento da atividade mimética da enzima glutationa peroxidase para compostos que apresentem esta característica é atribuída a esta interação não covalente que pode ocorrer no curso da reação. A presença da interação $\text{Se}\cdots$ heteroátomo estabiliza o átomo de selênio, principalmente para que o mesmo não sofra oxidações irreversíveis, além de torná-lo menos eletrofílico. Sendo assim, disselenetos, que já eram melhores antioxidantes que o ebselen, contendo essa interação não-covalente, tornam-se ainda mais atrativos do ponto de vista biológico.

Destarte, o desenvolvimento de disselenetos contendo a função amida, derivadas de aminas biologicamente importantes é de extrema

relevância, além de ser um tópico pouco explorado. A utilização de derivados anfetamínicos na formação de amidas contendo a função disseleneto seria importante, pois envolveria compostos com funções como disseleneto, com propriedades antioxidantes e amins com propriedades biológicas comprovadas (por exemplo, atividade estimulante etc.). Essa junção poderia resultar em moléculas com atividades biológicas diferenciadas de extrema importância. Somado a isso, disselenetos contendo a função amida obtidos a partir de amins simples ou aminoácidos já foram descritos como bons miméticos da GPx, indicando que a interação do selênio com o grupo amida promove uma influência positiva na atividade antioxidante dos compostos.^{49,52-53,143} Como se comentará mais adiante, o desenvolvimento dessas moléculas faz parte dos objetivos deste trabalho.

“Don’t only practice your art, but force your way into its secrets, for it and knowledge can raise men to the Divine.”

(Ludwig van Beethoven)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

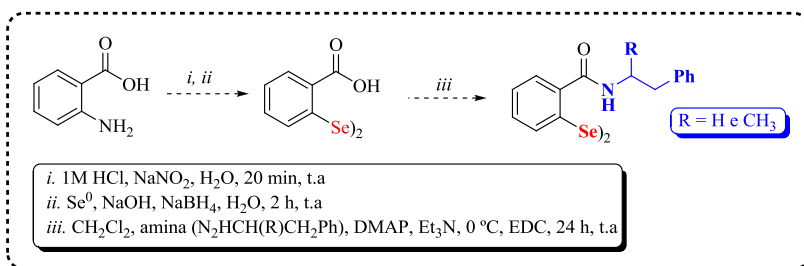
A proposta deste trabalho tem como objetivo geral sintetizar e avaliar o potencial antioxidante de novos compostos orgânicos de selênio contendo classes de compostos importantes do ponto de vista biológico, como por exemplo, anfetaminas e aminoácidos. Neste contexto, para parte das moléculas sintetizadas, pretende-se, também, realizar estudos de ressonância magnética nuclear para elucidar a interação intramolecular existente entre o átomo de selênio e heteroátomos presentes na molécula, em posição apropriada, bem como o provável mecanismo de mimese da enzima GPx, utilizando DTT como cofator.

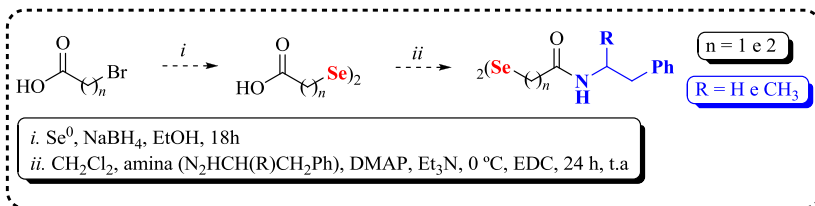
2.2 Objetivos Específicos

As estratégias específicas utilizadas para alcançar o objetivo geral deste trabalho estão subdivididas em (i) disselenetos derivados de anfetaminas e (ii) compostos derivados do ebselen, sendo estas apresentadas a seguir:

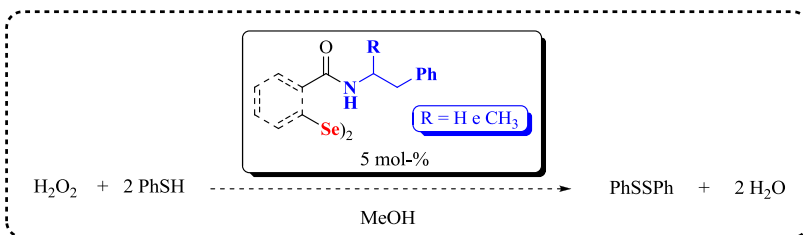
I. Disselenetos derivados de anfetaminas

- Preparar novos disselenetos através da síntese de amidas. Para isso, serão empregados ácidos carboxílicos alquílicos e acrílicos e aminas derivadas de anfetaminas. Caracterizar os compostos sintetizados através de técnicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, carbono e selênio, e, quando necessário, espectrometria de massas de alta resolução e ponto de fusão;





- Estudar os disselenetos sintetizados quanto ao seu potencial de mimetizar a enzima glutationa peroxidase (GPx), utilizando quantidade catalítica dos mesmos, seguindo as condições estabelecidas pelo Método de Tomoda;¹⁴⁴ analisar a influência das modificações estruturais propostas e obter uma relação estrutura *vs.* atividade das moléculas sintetizadas; realizar estudos cinéticos, traçando gráficos de concentração do produto formado (PhSSPh) em função do tempo da reação de mimese da GPx. Estes ensaios serão realizados em colaboração com o Prof. Dr. João Batista Teixeira da Rocha, na Universidade Federal de Santa Maria;

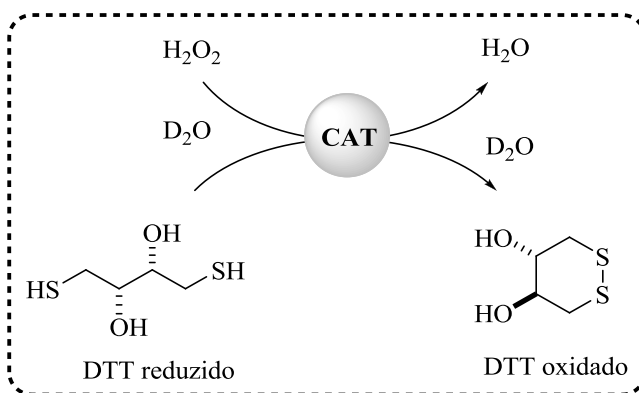


- Avaliar o potencial antioxidante dos disselenetos derivados de anfetaminas na inibição da peroxidação lipídica, através de ensaios *in vitro*, utilizando análises espectrofotométricas para a quantificação da formação do malondialdeído (MDA). Estes ensaios serão realizados em colaboração com o Prof. Dr. João Batista Teixeira da Rocha, na Universidade Federal de Santa Maria;

- Investigar a eficiência dos compostos orgânicos de selênio sintetizados no que diz respeito a sua capacidade de atuar como

substrato da enzima tioredoxina redutase, por meio de testes *in vitro*. Estes ensaios serão realizados em colaboração com o Prof. Dr. João Batista Teixeira da Rocha, na Universidade Federal de Santa Maria;

- Estudar possíveis interações intramoleculares não covalentes entre o átomo de selênio e o heteroátomo (N ou O) vizinho presente nas moléculas, através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de selênio (^{77}Se);
- Estudar o possível mecanismo da reação de redução de H_2O_2 , utilizando ditioneitol (DTT) como cofator, seguindo as condições estabelecidas por Santi e colaboradores.⁶⁸ com uso da técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para identificação do produto formado e cálculo da velocidade de formação do mesmo;

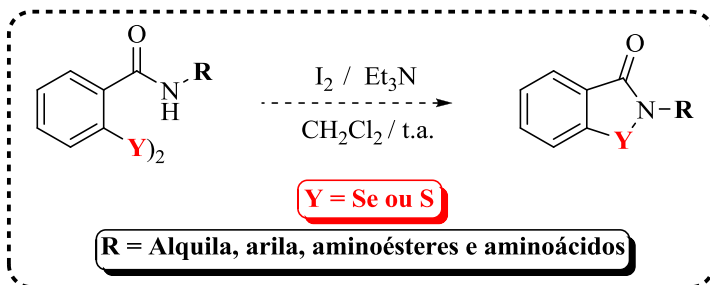


- Realizar estudos de eletroquímica – Voltametria Cíclica – no intuito de investigar o comportamento redox do átomo de selênio nas estruturas dos compostos sintetizados, a fim de conseguir informações sobre os possíveis intermediários formados no mecanismo de reação de redução de peróxido de hidrogênio, quando os compostos orgânicos de selênio agem como miméticos da enzima GPx.

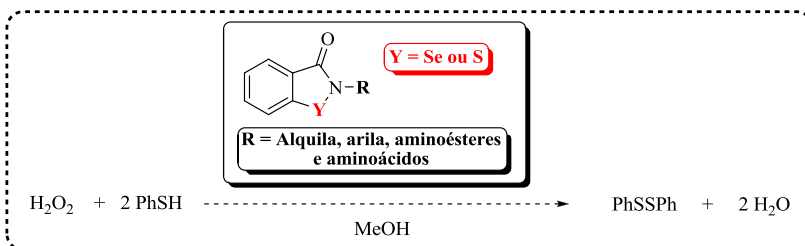
II. Compostos derivados do ebselen

- Desenvolver uma metodologia simples, rápida e eficiente para a síntese de uma série de benzisosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas

(derivados do ebselen) e benzisossulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas. Este método consistiria na formação de anéis heterocíclicos de cinco membros pela ciclização intramolecular de disselenetos e dissulfetos contendo amidas na presença de iodo molecular e trietilamina;



- Caracterizar os compostos sintetizados através de técnicas de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono e, quando necessário, espectrometria de massas de alta resolução;
- Proceder com o estudo dos compostos sintetizados como miméticos da enzima glutationa peroxidase (GPx), utilizando quantidade catalítica dos mesmos pelas condições estabelecidas pelo Método de Tomoda,¹⁴⁴ analisar a influência das modificações estruturais propostas e obter uma relação estrutura *vs.* a atividade das moléculas sintetizadas.



“O mundo não é feito de luzes e arco íris; é um lugar cruel e sujo, que não quer saber o quanto você é durão. Vai botar você de joelhos e você vai ficar de joelhos para sempre se você deixar. Você, eu, ninguém vai bater tão forte como a vida, mas não se trata de bater forte. Se trata de quanto você aguenta apanhar e seguir em frente, o quanto você é capaz de aguentar e continuar tentando. É assim que a vitória é conquistada.”

(Parte de uma fala do filme Rocky Balboa)

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção são expostos e discutidos os resultados obtidos durante a realização deste trabalho. Para cada classe de compostos preparados se discute o planejamento das estruturas desejadas, sua síntese e caracterização, bem como a aplicação dos mesmos como miméticos da enzima glutathione peroxidase.

Para os disselenetos derivados de anfetaminas, apresenta-se os resultados atingidos referentes à avaliação do potencial destes compostos em inibir a peroxidação lipídica e atuar como substrato da enzima tioredoxina reductase. Analisa-se, também, os resultados dos estudos da interação intramolecular não covalente entre o átomo de selênio e o heteroátomo (N ou O) vizinho, seguido da investigação do mecanismo de redução de peróxidos, por meio de estudos de ^1H , ^{77}Se NMR e voltametria cíclica.

3.1 Disselenetos derivados de anfetaminas

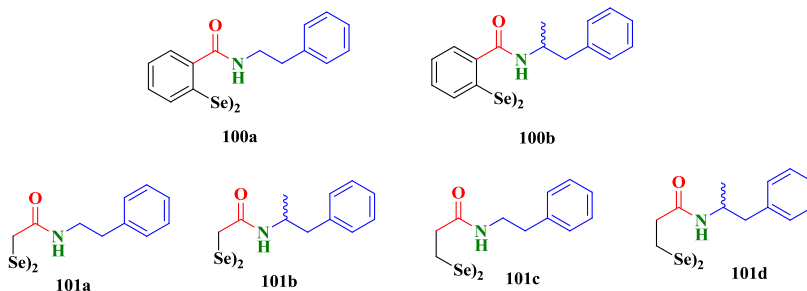
3.1.1 Planejamento e síntese

A síntese e avaliação do potencial biológico de compostos orgânicos de selênio é um importante campo da química estudado pelo núcleo de pesquisa no qual se integra esta autora. Em alguns destes estudos já foram reportadas diferentes metodologias sintéticas para obtenção de peptídeos, derivados de aminoácidos e outras classes de compostos funcionalizados com átomo de selênio e com aplicação biológica.^{145-149, 47, 51, 66-67}

Dessa forma, tendo em vista o interesse deste grupo de pesquisa à reconhecida importância biológica dos compostos orgânicos de selênio e em concordância com os objetivos propostos, planejou-se a síntese de uma série de disselenetos derivados de anfetaminas, conforme Figura 24, onde são apresentadas as estruturas dos compostos desejados **100 a-b** e **101 a-d**. Esta classe de disselenetos foi projetada com o objetivo de estudar a interação $\text{Se}\cdots\text{Heteroátomo}$, considerada fundamental para uma atividade antioxidante eficiente de compostos contendo selênio, assim como, no intuito de obter informações a respeito da relação estrutura *vs.* atividade desta classe de compostos. Nesse grupo de moléculas preparadas, a porção escolhida para unir as duas estruturas de interesse foi o grupamento amida, principalmente devido a sua presença no ebselen. Sendo assim, os compostos propostos foram planejados com o objetivo de serem disselenetos substituídos com aminas de relevante

potencial biológico, em forma de amida, para que possam interagir com o átomo de selênio e ter a sua atividade antioxidante aumentada.

Figura 24. Estruturas dos disselenetos derivados de anfetaminas.

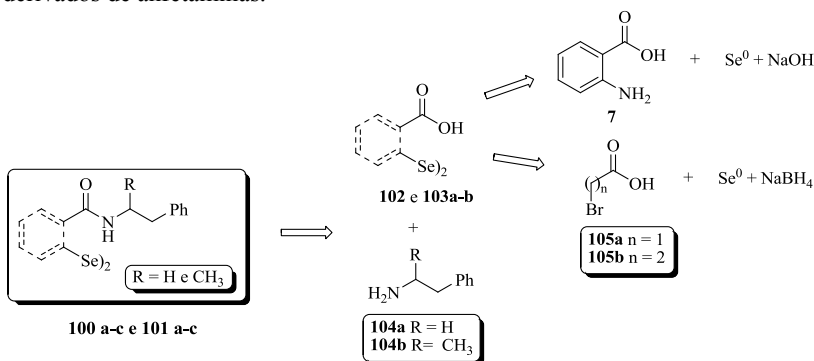


Do ponto de vista estrutural, os disselenetos derivados do ácido antranílico **100a-b** foram planejados para que a função amida se posicionasse próxima ao selênio, aumentando assim a probabilidade da interação não covalente ocorrer e permitir o estudo do seu efeito na atividade antioxidante. Os disselenetos alifáticos **101a-b** foram planejados com uma distância interatômica de apenas um grupamento metileno. Já os disselenetos **101c-d** possuem a mesma distância entre o grupamento amida e o átomo de selênio como os derivados aromáticos, porém fornecem um certo grau de flexibilidade. O principal objetivo desta variação estrutural proposta é obter maiores informações a respeito da influência da interação $\text{Se}\cdots$ heteroátomo na atividade antioxidante de disselenetos contendo ligações amídicas.

A partir da definição estrutural dos compostos planejados se propôs sua retróssíntese, como pode ser visto no Esquema 18. Baseando-se na retróssíntese, observa-se (pelo caminho inverso) que a síntese dos disselenetos **100 a-b** e **101 a-d** não é complexa e mostra que a preparação dos mesmos envolve uma rota sintética relativamente simples, com somente duas etapas reacionais. Dessa forma, os produtos finais **100 a-b** e **101 a-d** poderiam ser preparados a partir da reação de acoplamento entre os disselenetos **102** e **103 a-b** e aminas primárias **104 a-b**. O disseleneto **102** pode ser obtido mediante a diazotação do ácido *o*-aminobenzoico **7** e subsequente reação com a espécie nucleofílica de selênio NaSeSeNa , gerados a partir de selênio elementar e NaBH_4 . Os

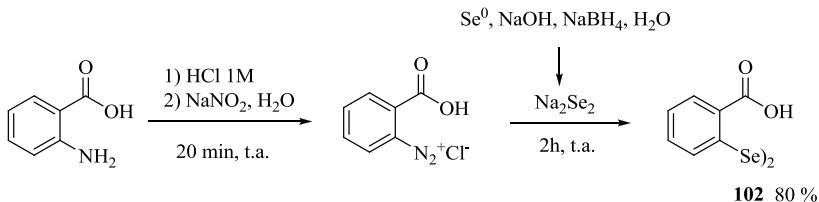
disselenetos alifáticos **103 a-b**, por sua vez, poderiam ser preparados através de reações entre os respectivos brometos **105 a-b** com o disseleneto de sódio, gerado através da reação entre boro hidreto de sódio e selênio elementar.

Esquema 18. Retrossíntese simplificada proposta para os disselenetos derivados de anfetaminas.



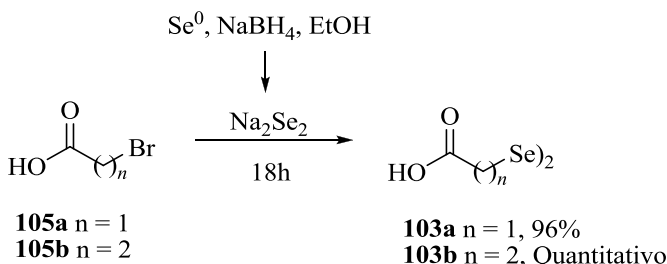
Inicialmente, sintetizaram-se os disselenetos derivados de ácido carboxílico, que foram utilizados como materiais de partida para obtenção das moléculas alvo. A síntese do disseleneto **102** foi realizada, em bom rendimento, através da diazotação do ácido antranílico **7** (ácido *o*-aminobenzoico), seguido de uma substituição pela espécie nucleofílica Na₂Se₂, geradas *in situ*, como mostrado no Esquema 19.¹⁵⁰

Esquema 19. Síntese do disseleneto derivado do ácido antranílico **102**.

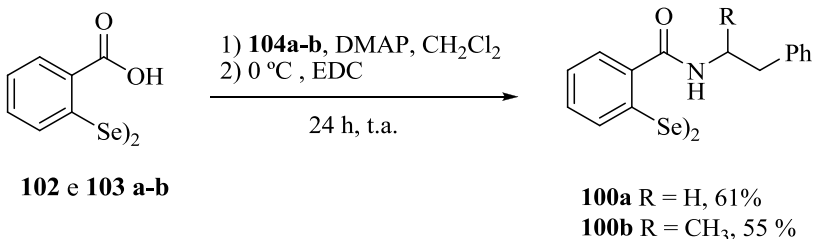
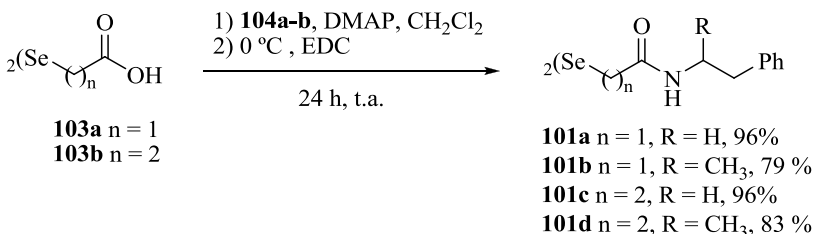


Para a obtenção dos disselenetos alifáticos **103a-b** foram utilizados os ácidos bromos carboxílicos apropriados (**105a-b**) com o disseleneto de sódio em etanol, por 18 h. Através desta metodologia, as moléculas desejadas foram obtidas em excelentes rendimentos de até 96 % (Esquema 20).⁶² A 1-fenilpropan-2-amina utilizada neste estudo foi preparada de acordo com Swern e colaboradores¹⁵¹ e Collins e colaboradores.¹⁵² Os disselenetos foram obtidos com pureza adequada para serem utilizados em reações posteriores e não demandaram purificações adicionais.

Esquema 20. Síntese dos disselenetos alifáticos **103a-b**.



De posse dos disselenetos de partida, focou-se na reação de acoplamento entre os ácidos carboxílicos contendo selênio e as amins biologicamente importantes. A formação da ligação amídica foi promovida pelo reagente de ativação de ácidos carboxílicos, o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), Esquema 21 e 22, obtendo-se os compostos **100a-b** e **101a-d**. É importante salientar que nesta etapa foram testados outros reagentes de acoplamento, tais como: *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e 1,1'-carbonildiimidazol (CDI), no entanto, as reações não ocorreram adequadamente, resultando em uma mistura complexa de subprodutos e materiais de partida.

Esquema 21. Síntese das moléculas-alvo **100a-b**.**Esquema 22.** Síntese das moléculas-alvo **101a-d**.

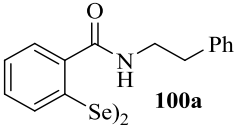
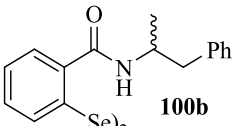
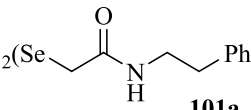
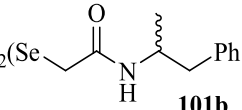
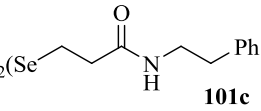
A rota sintética adotada provou ser muito eficiente e as moléculas-alvo foram obtidas em rendimentos adequados, variando entre 55 e 96%. Como exemplos, o composto **100b** foi obtido com 55 % de rendimento, ao passo que **101c** com 96 % (Esquema 21 e 22). Observou-se também que, quando a amina empregada foi a 1-fenilpropan-2-amina **104b** (R = CH₃), os rendimentos das reações levaram a um leve decréscimo quando comparados aos apresentados pelas reações com a feniletilamina **104a** (R = H). Esse fato também foi observado, por exemplo, para os compostos **100a** e **100b** (Tabela 1, linhas 1 e 2). Pela Tabela 1, linhas 3-6, também é possível constatar que os rendimentos das moléculas alvo tiveram um aumento significativo comparado aos análogos derivados do ácido antranílico que variaram de 96 a 76 %. Além disso, notou-se que o aumento da cadeia carbônica entre o átomo de selênio e a ligação amídica não teve grande influência nos rendimentos dos produtos finais (Tabela 1, linhas 3 e 5 ou 4 e 6). De maneira geral, as rotas sintéticas partindo, tanto dos ácidos bromos carboxílicos, quanto do ácido antranílico apresentaram rendimentos globais de moderados a elevados, variando entre 44 a 96 %.

É importante salientar que, a escolha adequada dos diferentes disselenetos **102** e **105a-b** possibilitou a preparação de amidas com distintas distâncias interatômicas entre o átomo de selênio e o heteroátomo presente na molécula e flexibilidade das ligações. Esta diversidade estrutural é de fundamental importância em ensaios biológicos, permitindo o estudo da relação estrutura / atividade dos compostos avaliados. Assim, esta estratégia permite a utilização de diferentes aminas com potencial biológico, as quais podem ser facilmente funcionalizadas com átomos de selênio.

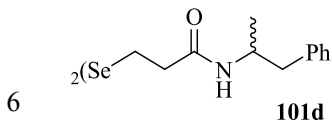
Além de a rota sintética adotada permitir a obtenção dos compostos planejados em rendimentos satisfatórios, apresentou a grande vantagem de diminuir, de forma considerável, a formação de subprodutos, principalmente na reação de acoplamento entre os ácidos contendo disselenetos e aminas. Embora nesta etapa tenha sido observada a formação de subprodutos, a purificação pôde ser feita de maneira fácil e rápida através de coluna cromatográfica, utilizando uma mistura de hexano:acetato como fase móvel e sílica gel como fase estacionária.

Na sua grande maioria os disselenetos derivados de anfetaminas apresentaram boa estabilidade química, não sendo observada decomposição dos mesmos, ainda que armazenados em temperatura ambiente durante períodos superiores a cinco meses. As moléculas sintetizadas são inéditas e foram devidamente caracterizadas através de técnicas de ^1H e ^{13}C NMR e de massas de alta resolução, conforme os dados descritos na parte experimental desta tese. Determinou-se, também, o ponto de fusão dos mesmos, com exceção do disseleneto **101b**, que é um líquido viscoso. Foi realizado, também, o experimento de ^{77}Se NMR para o disseleneto **100b**. Os rendimentos globais e os dados de ponto de fusão dos compostos obtidos se encontram resumidos na Tabela 1.

Tabela 1. Rendimentos globais e ponto de fusão dos compostos sintetizados **100a-b** e **101a-d**.

#	Produto	Rendimento Global (%) ^a	Ponto de Fusão (P.F.) (°C)
1	 100a Sólido branco	48	199-201
2	 100b Sólido branco	44	200-201
3	 101a Sólido amarelo	92	93-94
4	 101b Líquido viscoso amarelo escuro	76	-
5	 101c Sólido amarelo escuro	96	114-115

Continua

 Continuação


83

95-96

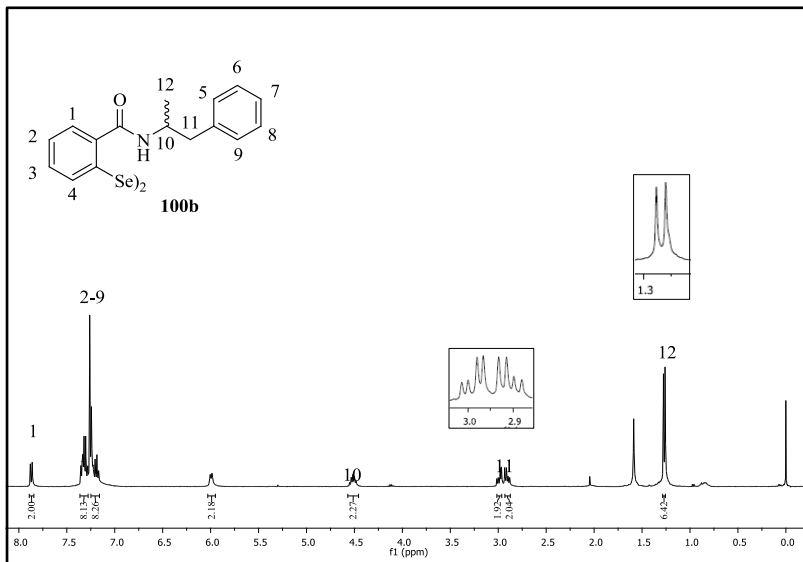
Sólido amarelo claro

^a Rendimento isolado dos compostos em duas etapas reacionais a partir do ácido carboxílico.

A título de exemplo, discutem-se as atribuições dos sinais nos espectros de NMR do composto **100b**, como representante da classe de moléculas sintetizadas. A Figura 25 apresenta o espectro de ¹H NMR, obtido na frequência de 400 MHz e utilizando CDCl₃ como solvente.

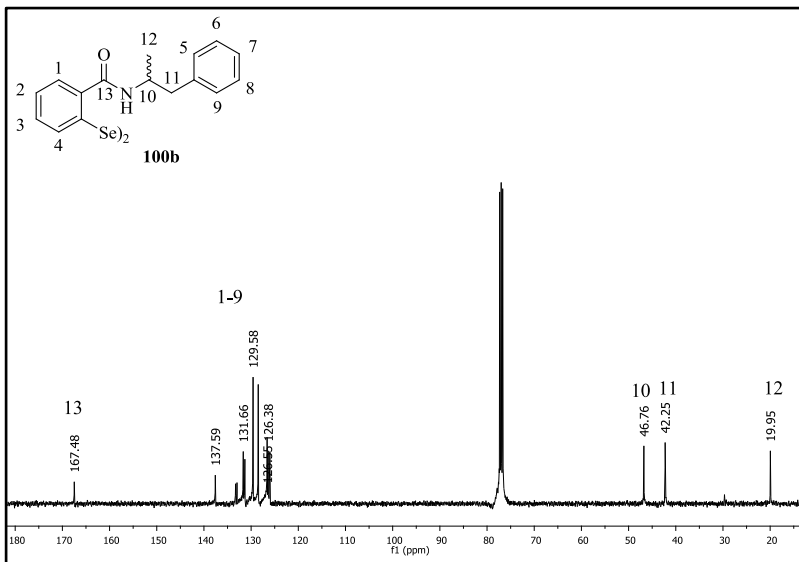
Em 7,87 ppm se observa um duplete, com constante de acoplamento de $J = 8$ Hz e integral relativa a dois hidrogênios, os quais podem ser atribuídos aos hidrogênios ligados ao carbono 1. Os outros hidrogênios ligados aos carbonos 2 a 9 se encontram na região compreendida entre 7,35-7,17 ppm, na forma de um multiplete com integral relativa a dezesseis hidrogênios. Em 5,99 ppm, verifica-se um duplete que apresenta uma constante de acoplamento de $J = 4$ Hz, com integral relativa a dois hidrogênios, correspondentes aos hidrogênios ligados diretamente ao átomo de nitrogênio da amida. Na região entre 4,55 e 4,48 ppm se denota um multiplete com integração de dois hidrogênios, que podem ser atribuídos aos hidrogênios ligados ao carbono 10. Com deslocamento de 2,99 e 2,91 ppm, encontram-se dois dupletos de dupletos com integrais relativas a dois hidrogênios cada, referentes aos hidrogênios ligados ao carbono 11. As constantes de acoplamentos observadas foram de $J^2 = 12$ Hz, $J^3 = 8$ Hz e $J^2 = 12$ Hz, $J^3 = 4$ Hz, respectivamente. Por serem vizinhos ao centro quiral, estes hidrogênios são diastereotópicos e não equivalentes. Além do acoplamento com o hidrogênio vizinho, eles acoplam entre si, resultando nos dois sinais observados. Já em campo mais alto, 1,27 ppm, percebeu-se um sinal na forma de duplete, com constante de acoplamento de $J = 8$ Hz e integral relativa a seis hidrogênios, que podem ser atribuídos aos hidrogênios ligados ao carbono 12.

Figura 25. Espectro de ^1H NMR, do composto **100b** em CDCl_3 a 400 MHz.



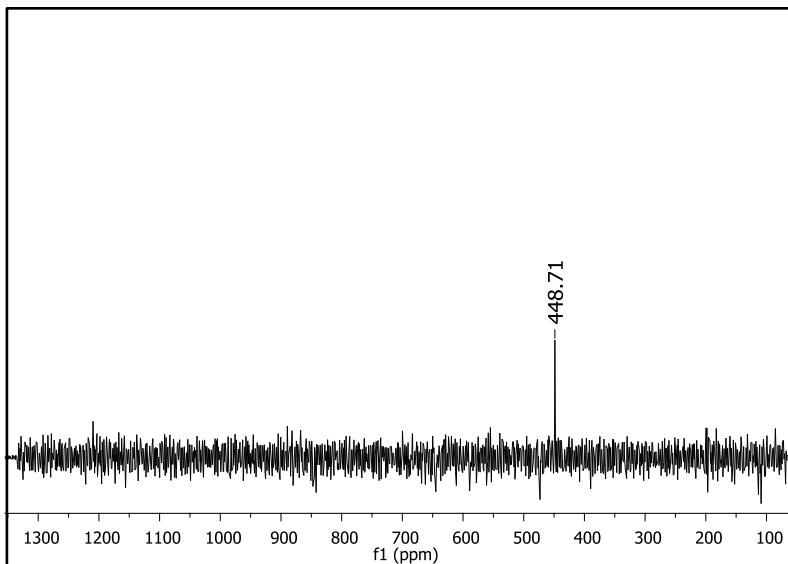
No espectro de ^{13}C NMR (Figura 26) obtido na frequência de 100 MHz e utilizando CDCl_3 como solvente, observam-se os sinais correspondentes aos átomos de carbono desse composto. O total de carbonos da molécula são trinta e dois. Por ser um dímero deveriam ser observados apenas dezesseis sinais. No entanto, existem dois carbonos do anel benzênico que se equivalem, resultando em um mesmo sinal para ambos; este é o caso observado para os carbonos 5/9 e 6/8. Em deslocamento químico de 167,5 ppm encontra-se o carbono 13, referente ao carbono da carbonila. Na região compreendida entre 137,6 e 126,0 verificam-se os sinais referentes aos carbonos dos dois anéis aromáticos. Em campo mais alto notam-se os sinais referentes aos carbonos alifáticos. Com deslocamento de 46,8 ppm se registra o sinal referente ao carbono 10. Em 42,2 ppm se encontra o sinal do carbono metilênico 11, enquanto o sinal em 19,9 ppm pode ser atribuído para a metila 12.

Figura 26. Espectro de ^{13}C NMR, do composto **100b** em CDCl_3 a 100 MHz.



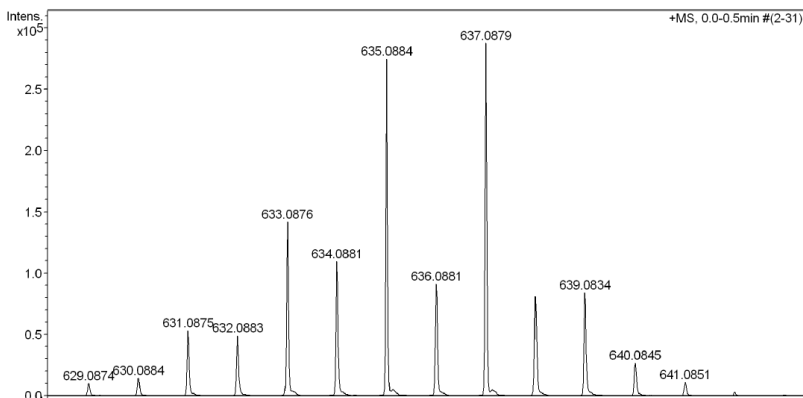
Ainda no intuito de confirmar a estrutura do disseleneto **100b** realizou-se um experimento de ^{77}Se NMR. A Figura 27 mostra o espectro obtido na frequência de 76,5 MHz, utilizando CDCl_3 como solvente. Observou-se em 448,71 ppm um sinal, que pode ser atribuído aos átomos de selênio e por serem simétricos apresentam o mesmo deslocamento químico. Este valor está de acordo com os valores descritos para disselenetos derivados do ácido antranílico, que giram em torno de 440-450 ppm, aproximadamente.⁵³

Figura 27. Espectro de ^{77}Se NMR, do composto **100b** em CDCl_3 a 76,5 MHz.



Tratando-se de um composto inédito, foi realizada ainda a análise de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) para o mesmo composto **100b**, utilizando fonte de ionização por eletrospray (ESI). A Figura 28 mostra o espectro de massas do composto **100b**, onde é possível observar o pico do íon molecular, $[\text{M}]^+$, com o padrão de distribuição isotópica característico dos disselenetos. Para a fórmula $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{Se}_2$ a razão m/z encontrada do $[\text{M}]^+$ foi de 637,0879, e o valor calculado é de 637,0873.

Figura 28. Espectro de massas de alta resolução do composto **100b**, utilizando fonte de ionização eletrospray (ESI-MS).



3.1.2 Avaliação do potencial antioxidante

Durante o metabolismo celular são produzidas, em pequenas quantidades, as espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo elas: superóxidos ($O_2^{\cdot-}$), radicais hidroxila ($\cdot OH$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). As EROs são espécies altamente reativas e causam danos irreversíveis nas células, pois possuem a habilidade de iniciar e atuar em reações em cadeia.¹⁵³ O nosso organismo possui um complexo e elaborado sistema de defesa contra os malefícios causados pelas EROs e nesse sentido atuam as enzimas antioxidantes e alguns antioxidantes de origem natural.¹⁵⁴ A descoberta de que o selênio possui um papel fundamental em muitos desses processos antioxidantes, intensificou a busca por novos compostos orgânicos de selênio com habilidade de poder atuar nesse sentido.

Por outro lado, a síntese e avaliação de compostos que atuem em vários alvos, mas objetivando a mesma via biológica vêm sendo o foco no desenvolvimento de novas drogas, uma vez que elas podem atuar de maneira complementar potencializando o resultado final.¹⁵⁵

Dessa forma, em concordância com as informações supracitadas, o objetivo desta avaliação biológica é o de investigar detalhadamente as propriedades antioxidantes dos compostos previamente sintetizados e obter informações sobre o seu mecanismo de

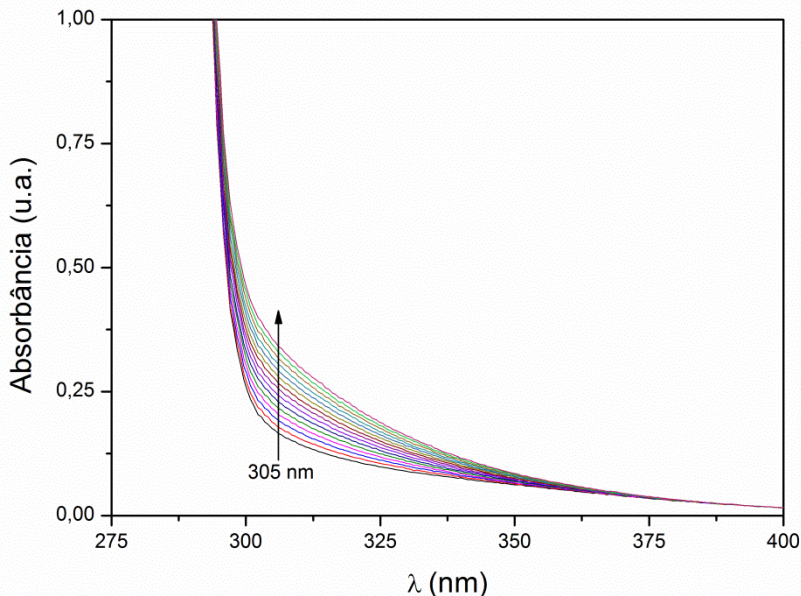
ação. Estes estudos foram realizados através de três ensaios antioxidantes diferentes (*in vitro*), com o intuito de demonstrar que os compostos podem atuar como tais através de vários mecanismos, aumentando a sua atividade antioxidante final. Sendo assim, os disselenetos derivados de anfetaminas foram avaliados quanto à sua capacidade em mimetizar a enzima glutatona peroxidase, seguido do potencial inibitório da peroxidação lipídica em homogenatos de cérebro de rato. Além disso, todos os compostos foram investigados quanto à sua habilidade em atuar como substratos da enzima tioredoxina redutase (TrxR). A partir destes estudos pôde-se mostrar que alguns fatores como: o tamanho da cadeia carbônica entre o átomo de selênio e a ligação amídica, impedimento estérico e força da interação intramolecular Se...heteroátomo podem ser de extrema importância no que se refere a um mecanismo de ação, mas não para outro. A atividade antioxidante dos novos disselenetos derivados de anfetaminas (**100a-b** e **101a-d**) foi comparada em relação a dois antioxidantes conhecidos e já usados como padrões, o ebselen e o disseleneto de difenila.

Vale salientar que a os testes biológicos foram realizados na Universidade Federal de Santa Maria, em colaboração com o Prof. Dr. João Batista Teixeira da Rocha.

3.1.2.1 Avaliação da atividade como miméticos da enzima glutatona peroxidase

Depois da síntese, avaliou-se o potencial GPx *like* de todos os novos disselenetos derivados de anfetaminas de acordo com o método descrito por Tomoda e colaboradores, utilizando tiofenol (PhSH) como substituinte da glutatona.^{66,144} Por esse método, a oxidação do tiofenol (PhSH) à espécie oxidada de enxofre (PhSSPh), na presença de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), em metanol como solvente, pode ser monitorada, através de um espectrofotômetro de UV-vis, pelo aparecimento de uma banda de absorvância em 305 nm, como é exemplificado no gráfico da Figura 29.

Figura 29. Exemplo da variação da absorbância no comprimento de onda 305 nm, devido à reação de oxidação do PhSH, na presença de H₂O₂ e do catalisador contendo selênio.

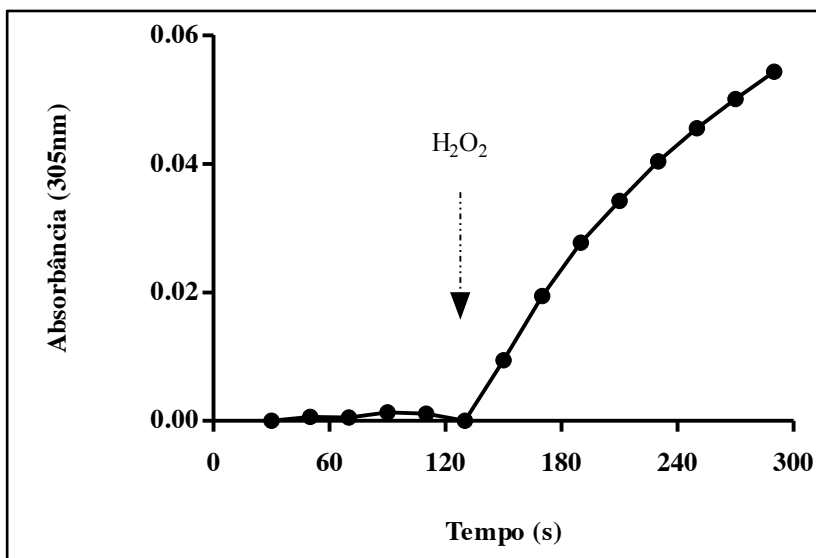


Encontram-se na literatura vários relatos que descrevem a influência positiva de grupamentos quelantes, tais como, aminas, álcoois ou amidas, próximos ao átomo de selênio, na atividade GPx *like* destes compostos.^{43-44,51,156-161} Em razão disso, acredita-se que as estruturas sintéticas propostas, devido à presença do grupamento amida, podem apresentar a mesma influência.

Os compostos orgânicos de selênio derivados de anfetaminas **100a-b** e **101a-d** foram testados em quantidades catalíticas (5 mol-%) em relação à quantidade de tiofenol e o resultado da atividade mimética da GPx foi expressa como o tempo requerido para reduzir a concentração do tiol em 50% (T₅₀). Cada composto foi dissolvido em metanol e adicionado a uma solução contendo tiofenol. Pelos primeiros 120 segundos a absorbância desta reação foi monitorada, na ausência de H₂O₂, para verificar se os catalisadores por si só não oxidariam o tiofenol a dissulfeto de difenila. Essa análise é de fundamental importância, uma vez que pode indicar se o composto analisado não

exibe atividade da enzima glutationa oxidase (GOx). A enzima GOx forma espécies reativas de oxigênio a partir do oxigênio, ou seja, sua atividade é a inversa da enzima GPx. A título de exemplo, apresenta-se na Figura 30 um gráfico com as variações das absorvâncias obtidas durante o experimento de mimese da enzima GPx do composto **100b**. Conforme mostra o gráfico não houve aumento significativo da absorvância na ausência de H_2O_2 , sendo assim, a formação do PhSSPh não foi observada. A adição de peróxido de hidrogênio produz um aumento expressivo na absorvância em 305 nm (formação do PhSSPh), o que caracteriza a atividade GPx *like*.

Figura 30. Gráfico da variação da absorvância em função do tempo para o composto selecionado **100b**.

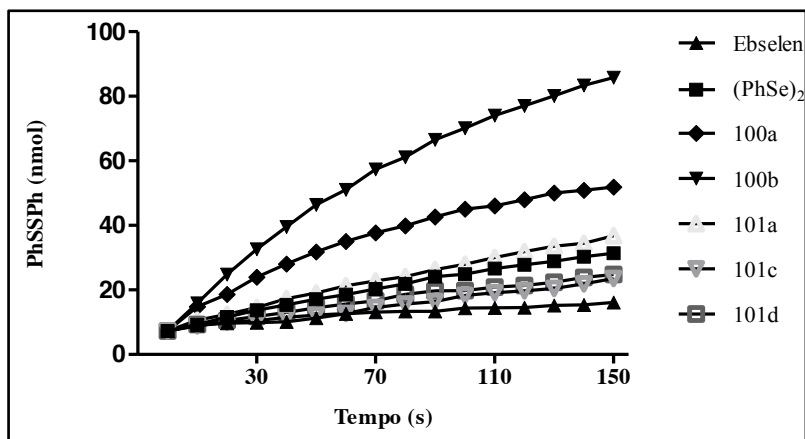


Condições: Volume final de MeOH (1 mL); Concentrações finais: PhSH 2 mM, catalisador 0,1 mM e H_2O_2 5 mM.

A Figura 31 apresenta o gráfico da variação da concentração (expressa em nmol) em função do tempo (expresso em segundos) para os catalisadores testados. Nele se observa um crescimento da concentração do produto formado (PhSSPh) em função do tempo, logo após a adição de peróxido de hidrogênio na solução contendo solvente,

catalisador e tiofenol. A redução do H_2O_2 foi analisada em diferentes concentrações dos catalisadores, tais como: 25, 50, 100 e 200 μM . Em todas as concentrações utilizadas os resultados seguiram o mesmo perfil e, para exemplificar, selecionou-se o valor de 100 μM . Um teste sem catalisador foi executado, chamado de reação controle, e para este não se observou nenhuma atividade notável. Em virtude da solubilidade de alguns disselenetos, houve a necessidade de fazer uma pequena modificação no método descrito. Em alguns casos, como mostrado na Tabela 2, utilizou-se etanol em vez de metanol como solvente da reação e essa alteração não provocou nenhum efeito relevante. Isso pôde ser comprovado, uma vez que não foi observada oxidação apreciável do tiol quando não se utilizou peróxido de hidrogênio ou catalisador, bem como, para ambos os padrões (ebselen e disseleneto de difenila) que não apresentaram mudança notável no resultado final.

Figura 31. Formação de PhSSPh devido à ação dos catalisadores **100a-b** e **101a-d**, Ebselen e $(\text{PhSe})_2$.



Condições: Volume final de MeOH (1 mL); Concentrações finais: PhSH 2 mM, catalisador 0,1 mM e H_2O_2 5 mM.

Para fins de comparação da atividade catalítica dos disselenetos avaliados, foram utilizados como padrões o ebselen e $(\text{PhSe})_2$ sendo atribuído o valor de 1,0 para suas atividades relativas (Tabela 2, linhas

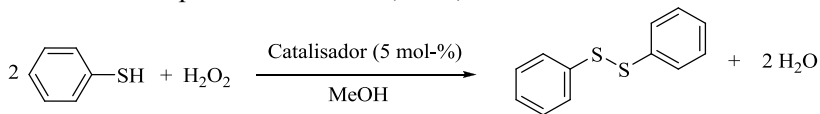
1-2). A maioria dos compostos testados apresentou alguma atividade catalítica com valores de T_{50} , no mínimo, comparáveis com aquele apresentado pela reação controle (sem presença de catalisador). Esta primeira avaliação confirma que disselenetos derivados de anfetaminas, contendo ligações amídicas, são viáveis no que se refere à obtenção de agentes miméticos da GPx eficientes.

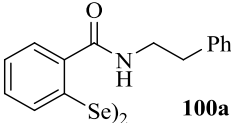
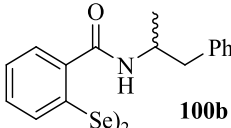
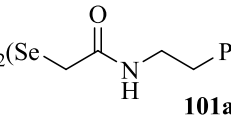
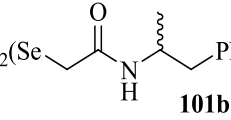
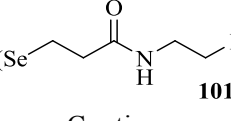
Conforme esperado, a atividade GPx *like* dos compostos **100a-b** e **101a-d** apresentaram uma relação com a força da interação não ligante presente nas estruturas dos catalisadores e, de acordo com as hipóteses do núcleo de estudo ao qual a autora se inclui, os derivados **100a** e **100b** forneceram os melhores resultados (Tabela 2, linhas 3-4). O composto **100b**, por exemplo, reduziu a concentração de tiofenol para a metade do seu valor (T_{50}) em apenas 16,87 minutos (Tabela 2, linha 4) sendo este aproximadamente 9 vezes mais rápido que o ebselen ($T_{50} = 154,26$ min/ Tabela 2, linha 1) e 3 vezes mais rápido que o $(\text{PhSe})_2$. Já para o composto **100a** foi encontrado um T_{50} de 29,73 min, sendo 5 e 2 vezes mais efetivo que as referências, ebselen e $(\text{PhSe})_2$, respectivamente (Tabela 2, linha 3).

As mesmas condições foram aplicadas para os disselenetos alquílicos **101a-d**. Caracterizado pelo reduzido tamanho da cadeia carbônica entre o átomo de selênio e a porção amídica, o disseleneto derivado da feniletilamina **101a** mostrou uma boa atividade mimética catalítica ($T_{50} = 44,90$ min/ Tabela 2, linha 5). No entanto, infelizmente, o seu derivado **101b** não foi capaz de promover a redução do H_2O_2 em uma velocidade considerável ($T_{50} = 299,63$ min/ Tabela 2, linha 6). Observou-se que conforme a posição relativa entre o átomo de selênio e o grupamento amídico aumentava, somente uma moderada atividade catalítica foi observada (Tabela 2, linhas 7-8). Em termos de eficiência, o composto **101c** e **101d** em que a distância entre o átomo de selênio e o grupamento amídico é de 2 carbonos, apresentaram uma atividade cerca de duas vezes melhor que o ebselen, todavia menor que o disseleneto de difenila.

De maneira geral, os resultados obtidos estão de acordo com as informações citadas anteriormente, as quais indicam que a distância (rigidez)/interação entre o átomo de selênio e o heteroátomo presente na molécula é fulcral na atividade mimética desta classe de compostos

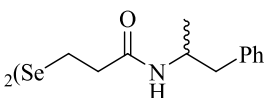
Tabela 2. Comparação da atividade GPx *like* dos compostos **100a-b** e **101a-d** com os padrões **ebsele**n e **(PhSe)₂**.^{a,b}



#	Catalisador ^c	T ₅₀ (min) ^{d,e}	Eficiência Relativa ao Ebselen	Eficiência Relativa ao (PhSe) ₂
1 ^f	Ebselen	154,26 (± 6,35)	1,00	2,80
2 ^f	(PhSe)₂	55,04 (± 3,50)	2,80	1,00
3 ^g	 100a	29,73 (± 0,16)	5,20	1,85
4 ^g	 100b	16,87 (± 0,33)	9,14	3,26
5	 101a	44,90 (± 2,15)	3,43	1,23
6	 101b	299,63 (± 8,00)	0,51	0,18
7	 101c	81,43 (± 1,77)	1,89	0,68

Continua

 Continuação

8		76,00 (± 2,57)	2,03	0,72
	101d			

^a Sob essas condições, a adição de H₂O₂ na ausência do catalisador de selênio, não produziu oxidação significativa do PhSH para ambos os solventes utilizados (MeOH e EtOH);

^b Sob essas condições, na ausência de H₂O₂ (MeOH ou EtOH + catalisador de selênio + PhSH) não foi observada nenhuma oxidação do PhSH apreciável;

^c Solução final: MeOH (1 mL); catalisador (0,1 mM); PhSH (2 mM); H₂O₂ (5 mM);

^d T₅₀ é o tempo requerido, em minutos, para reduzir a concentração do tiol pela metade do seu valor, depois da adição de H₂O₂;

^e Dados entre parênteses: Erro experimental (média de 3 experimentos);

^f Para ambos os solventes usados (MeOH e EtOH) não foi observada nenhuma diferença significativa nos valores de T₅₀;

^g EtOH foi usado no lugar de MeOH.

Em termos estruturais, o comprimento da cadeia carbônica é importante no que diz respeito à interação Se...heteroátomo. A distância de 2 carbonos seria considerada a ideal por formar um anel de 5 membros. A substituição, da cadeia alquílica entre o selênio e a função amida pelo anel aromático, restringe as possíveis conformações dirigindo a ocorrência da interação. A presença ou ausência do grupamento metila no fragmento feniletilamina parece ser menos importante em termos da atividade GPx *like*.

3.1.2.2 Avaliação da atividade como inibidores da peroxidação lipídica

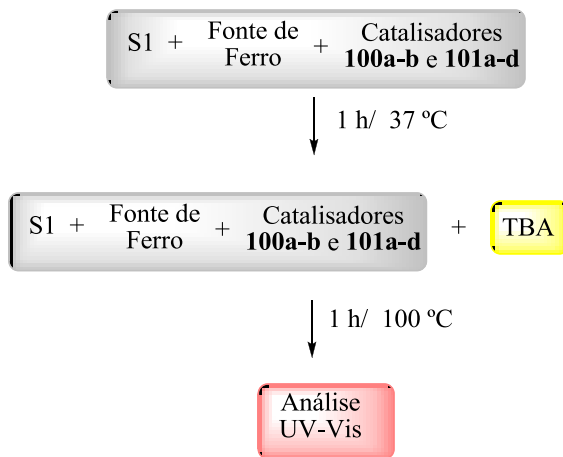
A peroxidação lipídica é um dos principais mecanismos envolvidos na toxicidade celular e pode ser uma resposta primária ao ataque dos peróxidos às biomembranas por reações de Fenton ou de Haber-Weiss. Pode ainda ser uma segunda resposta tóxica causada pelo estresse oxidativo induzido por agentes eletrofílicos.¹⁶²

Sabe-se que a membrana é um dos componentes celulares mais suscetíveis ao ataque das espécies reativas de oxigênio (EROs) em consequência da peroxidação lipídica, que acarreta alterações na permeabilidade e estrutura das membranas celulares. Por conseguinte há perda de seletividade na troca iônica e formação de produtos citotóxicos (como o malondialdeído MDA), culminando com a morte celular.¹⁶³⁻¹⁶⁴ Sendo assim, a presença de peroxidação lipídica é um importante biomarcador dos níveis de estresse oxidativo, pois indica o quão afetadas estão as membranas celulares. Portanto, possuir efeito protetor contra a peroxidação lipídica se torna uma característica de fundamental importância no planejamento de novos medicamentos antioxidantes clinicamente eficazes e é um campo ativo nas pesquisas.⁸⁶

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são formadas pela reação entre o ácido tiobarbitúrico (TBA) e os subprodutos da peroxidação lipídica, sendo o malondialdeído (MDA) uma das principais moléculas formadas. Em amostras biológicas, para quantificar a peroxidação lipídica é utilizado o produto da reação entre o TBA e o malondialdeído, por este possuir uma cor estável e poder ser detectado espectrofotometricamente ou por fluorescência.¹⁶⁵ Os homogenatos de cérebro (S1) podem ser empregados como fonte de biomembranas e este modelo vem sendo utilizado como índice de peroxidação lipídica.⁹⁶⁻⁹⁷

Neste trabalho, utilizou-se Fe (II) como um indutor da peroxidação lipídica do cérebro, uma vez que causa um aumento considerável na produção de TBARS. O Esquema 23 ilustra as etapas das análises realizadas para avaliar o potencial antioxidante dos disselenetos derivados de anfetaminas (**100a-b** e **101a-d**) na inibição da peroxidação lipídica em amostras de cérebro de ratos, induzidas por Fe (II). Importante salientar que a atividade dos compostos foi comparada em relação ao ebselen, por ser um composto orgânico de selênio já conhecido como inibidor da produção de TBARS.

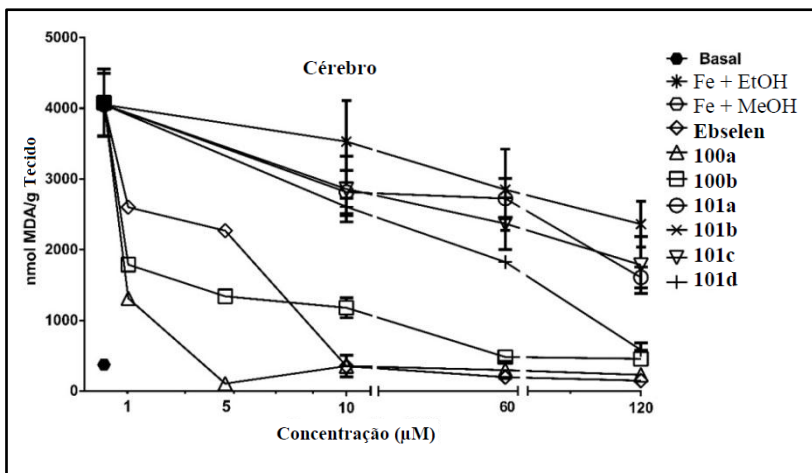
Esquema 23. Ilustração das etapas das análises realizadas para avaliar o potencial antioxidante dos disselenetos derivados de anfetaminas (**100a-b** e **101a-d**) na inibição da peroxidação lipídica em amostras de cérebro de ratos, induzidas por Fe (II).



De modo geral, todos os novos compostos testados inibiram a produção, Fe induzida, de TBARS. Os melhores resultados foram obtidos com os disselenetos **100a** e **100b**, ambos foram mais ativos que o padrão utilizado e, além disso, mostraram a capacidade de impedirem a formação de TBARS em menores concentrações do que o ebselen (Figura 33).

Os disselenetos alifáticos **101a-d** também inibiram a formação induzida por Fe(II) de TBARS em homogenatos de cérebro, entretanto foram menos efetivos que o ebselen (Figura 32).

Figura 32. Efeitos dos disselenetos derivados de anfetaminas **100a-b** e **101a-d** e **Ebselen** na produção de TBARS em homogenatos de cérebro de rato (S1).^{a,b}



^a Todos os compostos foram testados em concentrações finais que variaram entre 1 a 120 µmol/L.

^b Os resultados foram expressos em nmol de malondialdeído (MDA) por grama (g) de tecido.

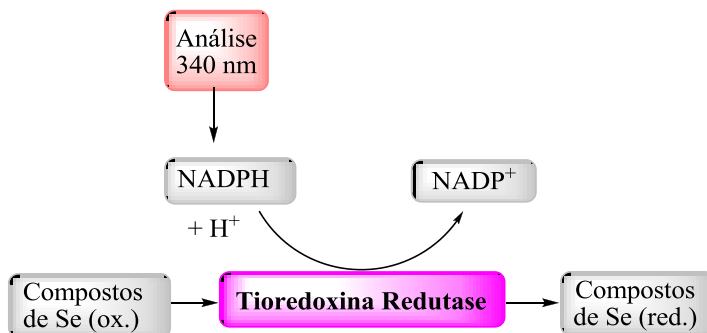
De acordo com os resultados obtidos, os disselenetos **100a** e **100b** foram mais efetivos que os seus análogos alquílicos **101a-d** e o ebselen, confirmando a tendência já apresentada durante os testes como miméticos da enzima GPx. O exato mecanismo molecular de ação envolvido na inibição da peroxidação lipídica promovida por disselenetos é ainda desconhecido. Apesar disso, acredita-se que a transformação dos disselenetos derivados de anfetaminas em seus respectivos intermediários selenóis está envolvida na degradação de peróxidos orgânicos formados nas membranas biológicas.¹⁶⁶⁻¹⁶⁷ Conseqüentemente, nos homogenatos de cérebro utilizados neste estudo, os disselenetos (**100a-b** e **101a-d**) podem reagir com tiois de baixo peso molecular, bem como com proteínas contendo tiois, tais como, a lactato desidrogenase (LDH) e a aminolevulinato desidratase (ALA-D), resultando na formação do respectivo selenol e este, por sua vez, terá a ação antioxidante.^{97,168}

3.1.2.3 Avaliação da atividade como substrato da enzima tioredoxina redutase

Muitos compostos, incluindo moléculas inorgânicas, vêm sendo descritos como substratos da enzima tioredoxina redutase (TrxR) mamífera, e isto se deve à ampla especificidade de substrato apresentada pela enzima.^{104,106-107}

Foram estudados, neste trabalho, os potenciais de redução dos novos disselenetos derivados de anfetaminas (**100a-b** e **101a-d**) pela enzima TrxR de fígado de rato parcialmente purificada. A determinação foi realizada através da detecção espectrofotométrica, em 340 nm, do consumo de fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida (NADPH), na presença ou ausência de composto de selênio, conforme o Esquema 24.¹⁰⁶ Importante salientar que a atividade das moléculas foi comparada em relação ao ebselen, por ser um composto orgânico de selênio já conhecido como substrato da TrxR.

Esquema 24. Determinação através da detecção espectrofotométrica, do consumo de NADPH, na presença do composto de selênio (**100a-b** e **101a-d**).

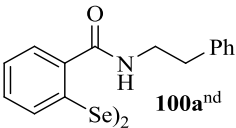
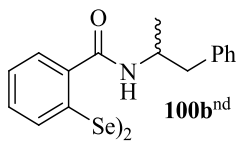
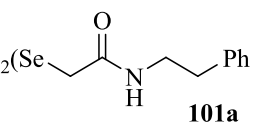
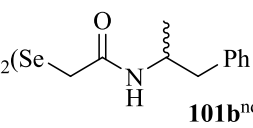


Compostos de Se: **100a-b**, **101a-d** e ebselen

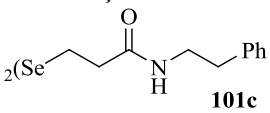
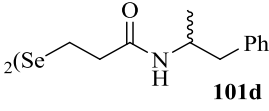
Nesse estudo, de maneira oposta aos resultados obtidos nos ensaios de GPx *like*, os disselenetos aromáticos **100a** e **100b** não foram reduzidos pela TrxR hepática (Tabela 3, linhas 2-3). Entretanto, os disselenetos alquílicos **101a**, **101c** e **101d** demonstraram ser bons substratos da enzima tioredoxina redutase e sua atividade relativa foi

maior que a do padrão utilizado, o ebselen (Tabela 3, linhas 4, 6 e 7). Em termos de eficiência, na presença do disseleneto **101a**, derivado da feniletilamina, o consumo do NADPH pela TrxR hepática parcialmente purificada foi cerca de 6 vezes maior do que na presença do ebselen. Enquanto que os disselenetos **101c** e **101d** aumentaram de 4-5 vezes a oxidação do NADPH, em relação ao padrão.

Tabela 3. Oxidação do NADPH pela enzima TrxR hepática, parcialmente purificada, obtida a partir de ratos na presença dos disselenetos derivados de anfetaminas **100a-b** e **101a-d** e do padrão **ebselen**.^a

#	Catalisador	Substrato da TrxR (nmol NADPH/min/mg)	Eficiência Relativa ao Ebselen
1	Ebselen ^b	3.4 (± 1.0)	1,0
2	 100a nd	0	-
3	 100b nd	0	-
4	 101a	19.1 (± 2.2)	5,6
5	 101b nd	0	-

Continua

Continuação			
6	 $\text{2}(\text{Se})\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---C(=O)---NH---CH}_2\text{---CH}_2\text{---Ph}$ 101c	16.1 (\pm 3.7)	4,7
7	 $\text{2}(\text{Se})\text{---CH}_2\text{---CH}_2\text{---C(=O)---NH---CH}_2\text{---CH}_2\text{---Ph}$ 101d	13.7 (\pm 7.1)	4,0

^a A oxidação do NADPH foi monitorada em 340 nm por 10 min, na ausência ou presença dos compostos orgânicos de selênio;

^b A oxidação do NADPH determinada na presença do ebselen foi inibida por mais de 95% pela adição de 5 $\mu\text{mol/L}$ de AuCl_3 .

nd Nada foi detectado durante 10 min de ensaio biológico;

Já é descrito na literatura que pequenas modificações nas estruturas de disselenetos simples podem ocasionar um decréscimo ou, até mesmo, a completa inibição na habilidade do composto em atuar como substrato da TrxR. Entretanto, os requisitos estruturais para que um composto de selênio possa atuar como substrato da tiorredoxina redutase são desconhecidos e, também, uma questão bastante complexa.¹⁰⁶

No que diz respeito à afinidade para TrxR, a partir deste estudo, verificou-se que o anel benzênico entre o selênio e a função amida é prejudicial para a funcionalidade disseleneto. Para os disselenetos alifáticos, três dos quatro compostos (**101a**, **101c** e **101d**) foram capazes de interagir com a enzima e serem totalmente convertidos nos seus respectivos selenois. Neste caso, acredita-se que o menor impedimento estérico e maior flexibilidade tornam a porção contendo o disseleneto mais acessível, favorecendo sua transformação pela enzima. Entretanto, muitos estudos ainda são necessários para a melhor compreensão dos parâmetros estruturais indispensáveis para a interação dos compostos orgânicos de selênio com a TrxR.

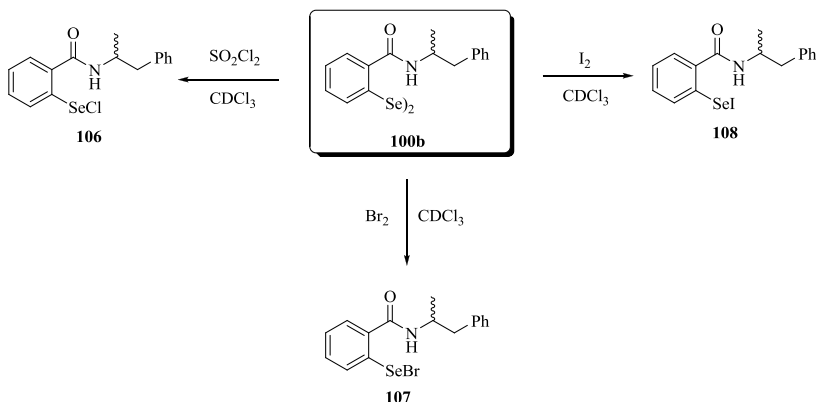
3.1.3 Estudos de ressonância magnética nuclear de selênio

Compostos orgânicos de selênio, principalmente aqueles que possuem interação intramolecular do selênio com heteroátomo, são

alvos atuais e desafiadores para os químicos orgânicos e organometálicos, devido ao seu papel na indução quiral e atividade antioxidante.¹¹⁸ Essas interações não covalentes são estáveis o suficiente para modular a reatividade, bem como, a conformação espacial de toda a molécula. Ambos os aspectos são fundamentais do ponto de vista do mecanismo de ação. Somado a isso, compostos divalentes de selênio possuem vantagens sobre os seus análogos calcogêneos, por possuírem maior caráter hipervalente, maior estabilidade do que compostos organotelúrios, por apresentarem em solução uma forte interação não ligante que permite análises via ^1H NMR e, além disso, por possuírem um isótopo ativo no NMR (^{77}Se), o que permite análises valiosas sobre esta interação.¹¹⁷

Neste trabalho, examina-se a interação $\text{Se}\cdots$ heteroátomo presente no disseleneto derivado de anfetamina **100b**, através da análise dos resultados obtidos no ^{77}Se NMR. Os mono-haletos **106-108**, foram sintetizados *in situ* através da adição do disseleneto **100b** e quantidades equivalentes dos respectivos reagentes de halogenação (SO_2Cl_2 para **106**, Br_2 para **107** e I_2 para **108**), como mostrado no Esquema 25.¹¹⁸

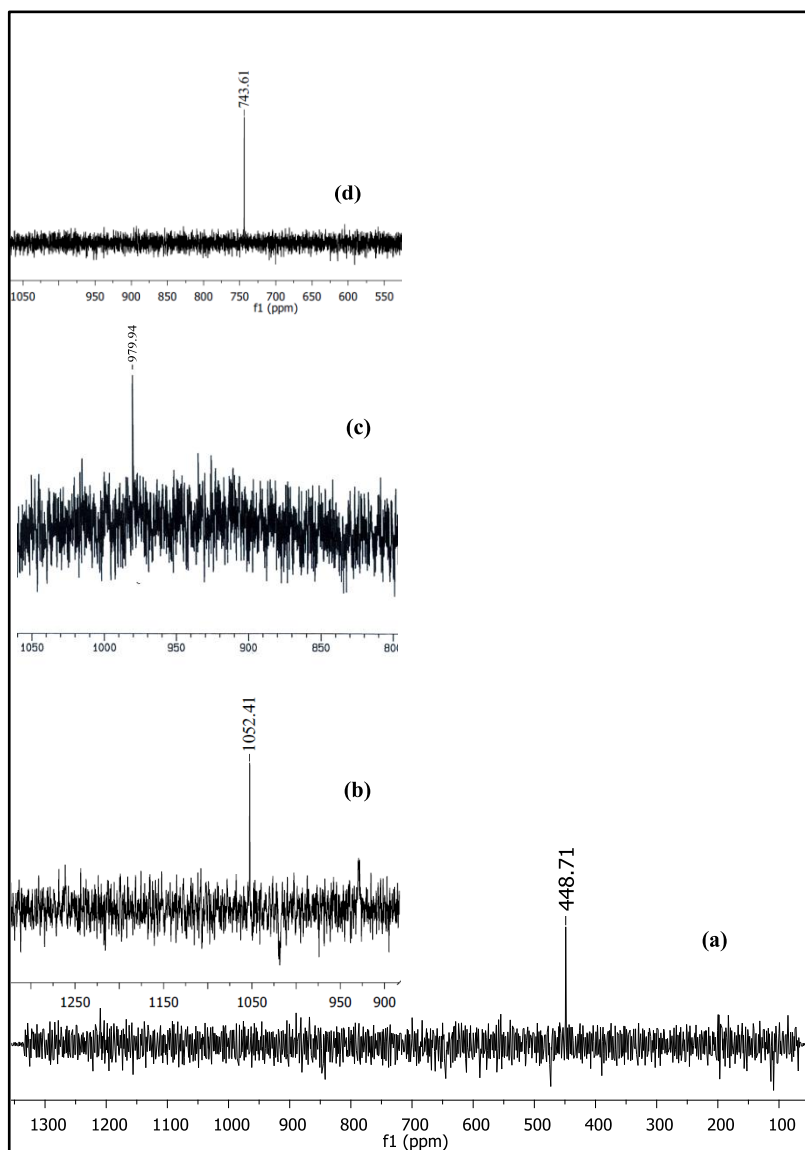
Esquema 25. Obtenção dos mono-haletos para os estudos de ^{77}Se NMR.



As informações dos deslocamentos químicos de ^{77}Se NMR foram muito importantes no que diz respeito à interação não covalente entre Se e o heteroátomo presente na molécula (O ou N). Os resultados obtidos para os mono-haletos mostram um deslocamento químico, para

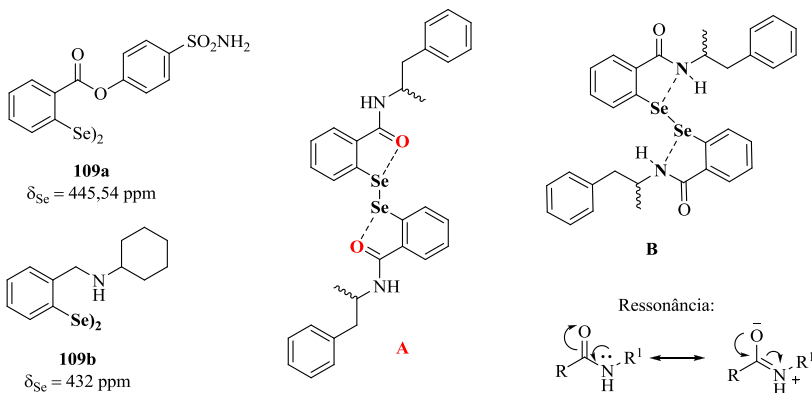
campo mais baixo, dos picos de NMR referentes ao ^{77}Se , e a tendência observada foi RSeCl **106** (1052 ppm/Figura 33 (b)) > RSeBr **107** (979 ppm/Figura 33 (c)) > RSeI **108** (743 ppm/Figura 33 (d)). Estes resultados são consistentes com os descritos por McFarlane e colaboradores¹⁶⁹ no qual os autores propõem que os deslocamentos químicos do ^{77}Se NMR apresentam maior desblindagem com o aumento da eletronegatividade do substituinte ligado ao selênio.¹¹⁷

Figura 33. Espectros de ^{77}Se NMR, do composto **100b** (a), **106** (b), **107** (c) e **108** (d), em CDCl_3 a 76,5 MHz.



Outra informação bastante relevante obtida através destes estudos de ^{77}Se NMR foi sobre qual heteroátomo está interagindo com o átomo de selênio na molécula sintetizada (Figura 34, Estruturas A e B). Neste contexto, notou-se uma grande semelhança entre o deslocamento químico do ^{77}Se NMR obtido para o disseleneto amídico **100b** (448 ppm) e o éster **109a** (445 ppm),¹⁷⁰ além da acentuada diferença de deslocamento comparado com o composto **109b** (432 ppm). Outra observação que merece destaque é que a ressonância do par de elétrons do nitrogênio da amida com a carbonila favorece que o mesmo esteja mais disponível no oxigênio, facilitando a interação do par de elétrons deste átomo com o selênio (Figura 34). A partir disso, pôde-se concluir que o composto sintetizado deve apresentar uma conformação espacial na qual o átomo de selênio coordena com o oxigênio do grupamento carbonílico (Figura 34, Estrutura A).

Figura 34. Estruturas com as interações intramoleculares não covalentes propostas para o composto **100b** analisado.

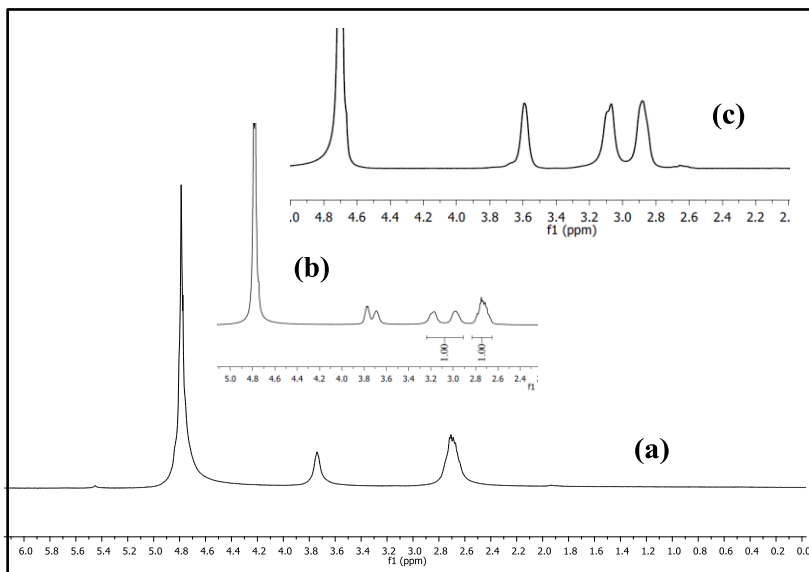


3.1.4 Estudos do mecanismo da reação de oxidação do ditiotretiol

É conhecido que o mecanismo de ação antioxidante de disselenetos depende, principalmente, da reatividade relativa do átomo de selênio frente ao tiol e ao peróxido e da natureza dos mesmos.⁵¹ Em virtude disso, resolveu-se estudar a reatividade do disseleneto derivado

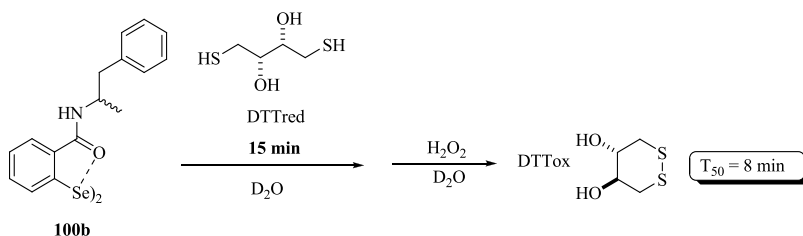
de anfetamina **100b** na oxidação do ditioneitol (DTT), um tiol alquílico, na presença de peróxido de hidrogênio. A reação testada foi descrita por Santi e colaboradores⁶⁸ como um novo método para avaliar a atividade mimética da enzima GPx de compostos de selênio. Esta metodologia possui a grande vantagem de utilizar água (similar ao organismo) no lugar de metanol, da mesma maneira que se podem realizar as análises facilmente através de ^1H NMR. Por meio dos testes efetuados, de acordo com este protocolo, pôde-se especular o possível mecanismo da reação de redução de H_2O_2 , utilizando DTT como cofator (substituto da glutatona). Nos ensaios efetuados foram utilizadas quantidades equimolares de tiol e peróxido, bem como, 0,1 mol % do catalisador de selênio. As análises foram feitas através do acompanhamento do decréscimo dos sinais em $\delta = 2,58$ e $3,64$ ppm referentes ao DTT reduzido e o concomitante aumento dos sinais com centro em $\delta = 2,85$; $3,04$ e $3,55$ relativos ao DTT oxidado (Figura 35).

Figura 35. Espectros de ^1H NMR: (a) DTT ainda sem reagir no início da reação; (b) Espectro obtido no T_{50} e (c) DTT completamente oxidado ao final da reação.



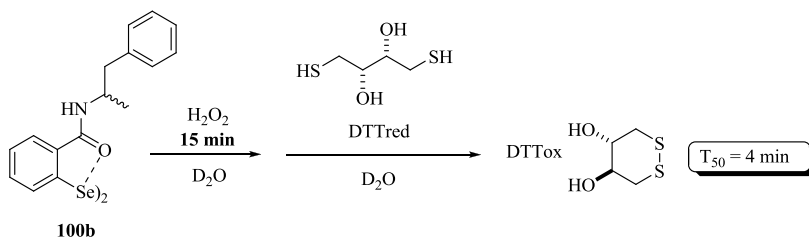
O primeiro teste realizado com o disseleneto **100b** está ilustrado no Esquema 26. Depois de misturar o tiol e o disseleneto, analisou-se o espectro de ^1H NMR e, após 15 minutos, nenhuma oxidação apreciável do DTT foi observada. Passado esse tempo, adicionou-se à mistura o peróxido de hidrogênio e, a partir de então, foi calculado o tempo necessário para consumir metade da quantidade de tiol adicionada (T_{50}).

Esquema 26. Primeiro teste realizado empregando o disseleneto **100b** como catalisador na oxidação do DTT.



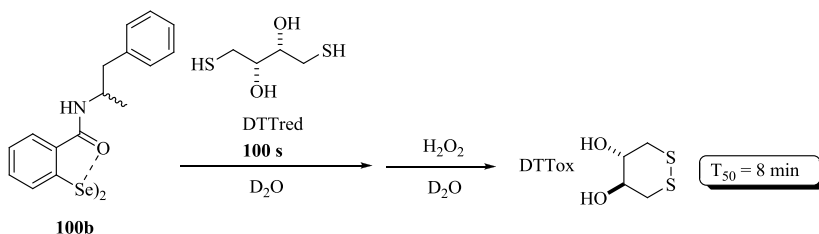
Na segunda reação testada, inverteu-se a ordem de adição dos reagentes equimolares, o que causou um efeito positivo na velocidade de oxidação do DTT. Quando o H_2O_2 foi adicionado primeiro, o T_{50} foi de apenas 4 minutos (Esquema 27).

Esquema 27. Segundo teste realizado empregando o disseleneto **100b** como catalisador na oxidação do DTT.



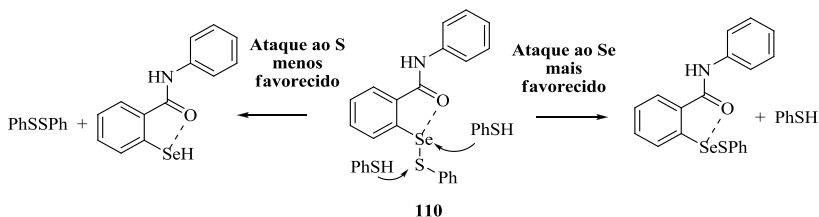
Um teste adicional, ilustrado no Esquema 28, foi realizado para verificar se o disseleneto não estaria degradando na presença do tiol. Entretanto, mesmo adicionando o peróxido 100 segundos após a adição do DTT, o resultado obtido mostrou que a velocidade da reação não se alterou, indicando que o disseleneto não estava sendo degradado no primeiro caso.

Esquema 28. Teste adicional realizado empregando o disseleneto **100b** como catalisador na oxidação do DTT.



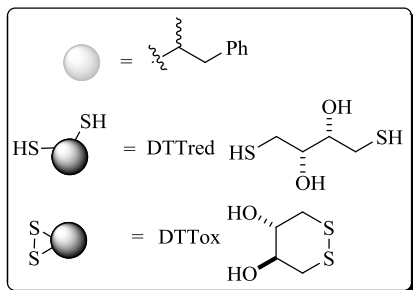
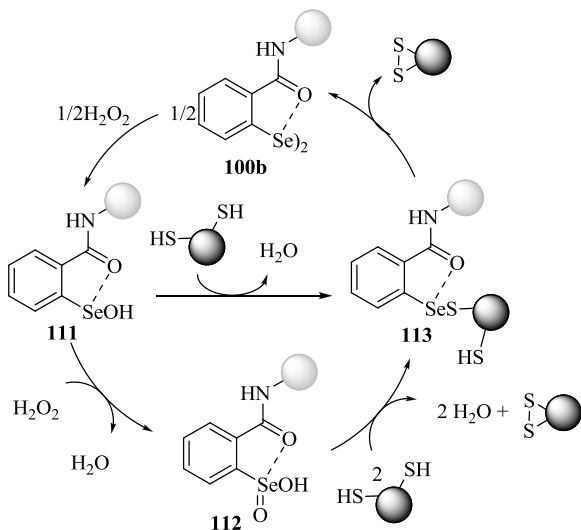
A menor velocidade de oxidação obtida para a reação em que se adicionou o tiol antes do peróxido pode ser explicada pela reação conhecida como troca de tiol. Estudos já publicados na literatura mostram que disselenetos que contêm grupos funcionais capazes de formarem interação não ligante com o átomo de selênio favorecem a atividade GPx *like*. No entanto, quando esta interação é muito forte, como é o caso da interação $\text{Se}\cdots\text{O}$, ela acaba por facilitar o ataque do tiol no selênio em vez do enxofre, diminuindo consideravelmente, a atividade desses compostos. Deste modo, o sulfeto de selenenila **110** não é consumido o que retarda o processo do ciclo catalítico. O Esquema 29 ilustra essa reação de troca de tiol, de acordo com a literatura.⁵¹

Esquema 29. Ilustração da reação de troca de tiol.



Em conformidade com os vários estudos publicados e aos resultados experimentais obtidos neste trabalho, foi proposto o mecanismo de reação de oxidação do DTT com H_2O_2 , catalisada pelo disseleneto derivado de anfetamina **100b** (Esquema 30). A princípio, o disseleneto reage com dois equivalentes de peróxido (H_2O_2) formando o ácido selenênico **111**. Este intermediário **111** reage então, com mais um equivalente de H_2O_2 produzindo, concomitantemente, o ácido selenínico **112** e água. Este, por sua vez, através da reação com dois equivalentes de DTT, forma a espécie **113** com a liberação do DTT na sua forma oxidada. A última etapa, na sequência, é a reação do sulfeto de selenenila **113** com o grupamento -SH livre, presente na própria molécula de DTT, para gerar o dissulfeto e restituir o disseleneto **100b** ao ciclo catalítico. Além disso, outra observação que corrobora com a proposta do mecanismo é sobre a solubilidade do catalisador. Inicialmente, o composto **100b** não é solúvel em água, porém quando transformado nas suas formas oxidadas (**111** e **112**), torna-se solúvel no solvente utilizado, catalisando a reação mais rapidamente. O que não é acontece quando reage primeiramente com o tiol.

Esquema 30. Mecanismo proposto da reação de oxidação do DTT com H_2O_2 , catalisada pelo disseleneto derivado de anfetamina **100b**.



3.1.5 Estudos de voltametria cíclica

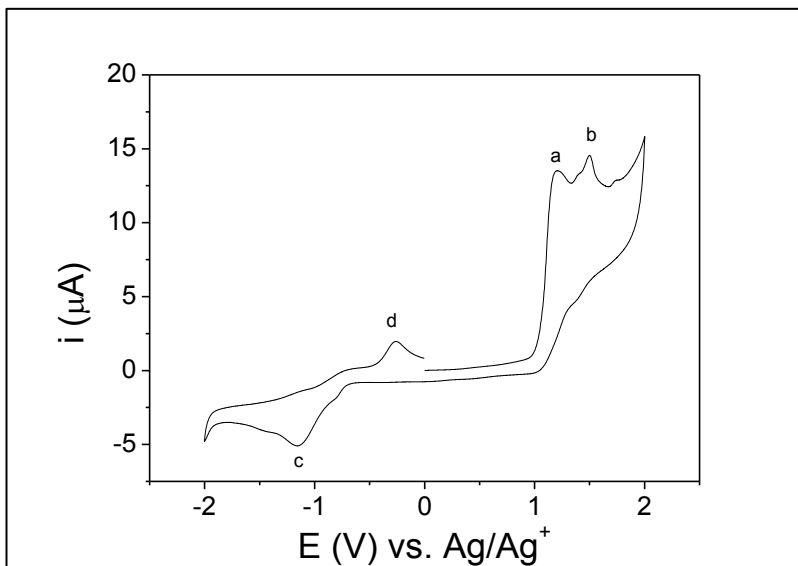
A voltametria cíclica tem sido amplamente utilizada no estudo da eletroatividade de compostos (especialmente moléculas biológicas), na investigação de reações químicas acopladas, na análise de íons e no estudo das superfícies de eletrodos.¹⁷¹⁻¹⁷² Além disso, essa técnica gera informações no que tange à reversibilidade eletroquímica de um sistema, sendo esta vinculada à troca rápida de elétrons entre espécies redox e eletrodo. Esses processos voltamétricos são agrupados em três categorias distintas: reversíveis, quasi-reversíveis e irreversíveis.¹⁷²

Os voltamogramas registram corrente *vs* potencial em uma varredura. Esta varredura geralmente se dá em celas compostas de três eletrodos imersos na solução a ser analisada, sendo constituída por:

- Um eletrodo de trabalho que abriga em sua superfície a reação de interesse (sensível ao analito), sendo geralmente composto de platina, ouro ou grafite;
- Um eletrodo de referência, para controle do potencial, sendo composto usualmente por um eletrodo saturado de calomelano ou prata/cloreto de prata (Ag/AgCl);
- Um contra eletrodo ou eletrodo auxiliar, constituído de material inerte como platina ou grafite, que controla a corrente necessária para a eletrólise que ocorre no eletrodo de trabalho;¹⁷³

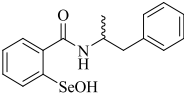
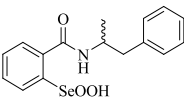
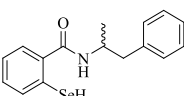
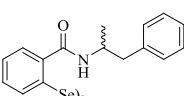
Sendo assim, neste trabalho, investigaram-se as propriedades redox do disseleneto derivado de anfetamina **100b** através da técnica de voltametria cíclica e o voltamograma obtido em solução de acetonitrila contendo hexafluorofosfato de tetra-nbutilamônio (0,1 mol.L⁻¹) com velocidade de varredura de 200 mV s⁻¹ encontra-se na Figura 36.

Figura 36. Voltamograma cíclico do disseleneto do derivado de anfetamina **100b** em solução de acetonitrila contendo hexafluorofosfato de tetrabutílamônio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) com velocidade de varredura de 200 mV s^{-1} .



O voltamograma do disseleneto **100b** (Figura 37), observa-se dois processos anódicos (pico a e b/Tabela 4, linhas 1 e 2) iniciando a varredura no sentido anódico de 0 V a 2 V, um processo catódico (pico c/Tabela 4, linha 3) quando a varredura é invertida e um pico anódico (pico d/Tabela 4, linha 4) com varredura na faixa de -2 V a 0 V. Os dois picos anódicos (picos a e b) são referentes à formação do ácido selenênico e ácido selenínico, ambos processos voltametricamente irreversíveis. O processo catódico (pico c), voltametricamente irreversível, foi atribuído à formação do selenol. O processo anódico (pico d) é possivelmente referente à oxidação do selenol, formando o disseleneto regenerando a molécula inicialmente submetida ao processo de oxidação. Os dados obtidos dos voltamogramas estão resumidos na Tabela 4.

Tabela 4. Propriedades eletroquímicas do disseleneto derivado da anfetamina **100b**.

#	Pico	E (V) vs Ag/AgCl	Processo	Estrutura	Estado de oxidação
1	a	1,16 (i)	Formação do ácido selenênico		2+
2	b	1,50 (i)	Formação do ácido selenínico		4+
3	c	-1,71 (i)	Fomação do selenol		0
4	d	-0,27 (i)	Formação do disseleneto		1+

Vale resaltar que o mecanismo eletroquímico apresentado é uma proposta baseado em artigos¹⁷⁴⁻¹⁷⁷ que apresentam alguns estudos eletroquímicos com derivados de selênio similares. Para elaboração desta proposta também empregou-se o mecanismo de atuação dessas moléculas como mimético da GPx, com o peróxido atuando como agente oxidante e o derivado de tiol atuando com agente redutor. Porém a pequena quantidade na literatura de estudos eletroquímico de miméticos da GPx, apresentam alguns desafios para propostas iniciais, porém que podem ser melhor elucidadas com estudos mais aprofundados combinando outras técnicas juntamente com os estudos voltamétricos.

3.2 Compostos derivados do ebselen

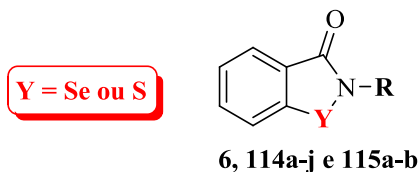
3.2.1 Planejamento e síntese

Conforme já mencionado, a capacidade de heterociclos contendo selênio, como os derivados do ebselen **6**, atuarem de maneira similar ao próprio, no que diz respeito às atividades biológicas, vem demonstrando ser uma área de investigação promissora. Seguindo esta abordagem, Ninomiya e colaboradores¹³¹ destacam alguns conceitos importantes para a síntese de análogos do ebselen, dentre eles: (1) conter uma ligação entre o selênio e um carbono ligado ao anel aromático, para evitar a liberação do primeiro e manter a baixa toxicidade característica do ebselen; (2) apresentar uma ligação entre o selênio e o nitrogênio que é a responsável pela atividade mimética da enzima GPx; e, (3) possuir uma ligação entre o nitrogênio e uma carbonila para manter a estabilidade da estrutura da selenoamida.

Por outro lado, faz parte do interesse deste grupo de pesquisa, a busca por novos compostos derivados de selênio ou enxofre contendo moléculas biologicamente importantes, como por exemplo aminoácidos, para que possam atuar tanto como plataformas quirais em síntese orgânica quanto como compostos com potencial biológico.

Uma das limitações encontradas pelo ebselen é a sua baixa solubilidade em água. Esta condição implica em sérias restrições para futuros ensaios biológicos, principalmente testes *in vivo*, o que limita possíveis aplicações dessas substâncias como fármacos. Dessa forma, com o intuito de superar esta limitação e aumentar a atividade deste tipo de estrutura, a segunda parte deste doutorado envolve a síntese de uma série de benzisosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas (derivados do ebselen) e benzisossulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas com a estrutura geral mostrada na Figura 37.

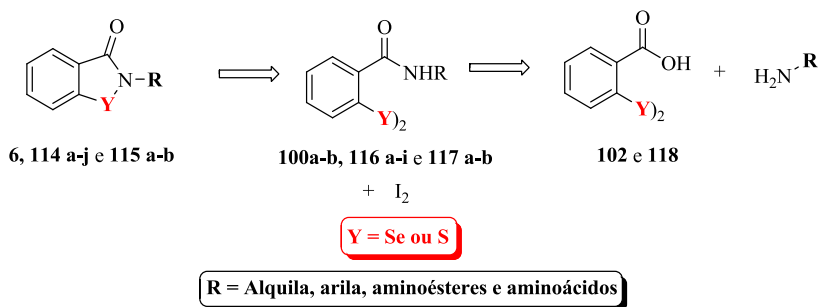
Figura 37. Estrutura geral dos derivados do ebselen.



R = Alquila, arila, aminoésteres e aminoácidos

A partir da estrutura da molécula alvo foi proposta a análise retrossintética mais conveniente para acessar esta nova classe de compostos (Esquema 31).

Esquema 31. Retrossíntese simplificada proposta para obtenção dos derivados do ebselen.

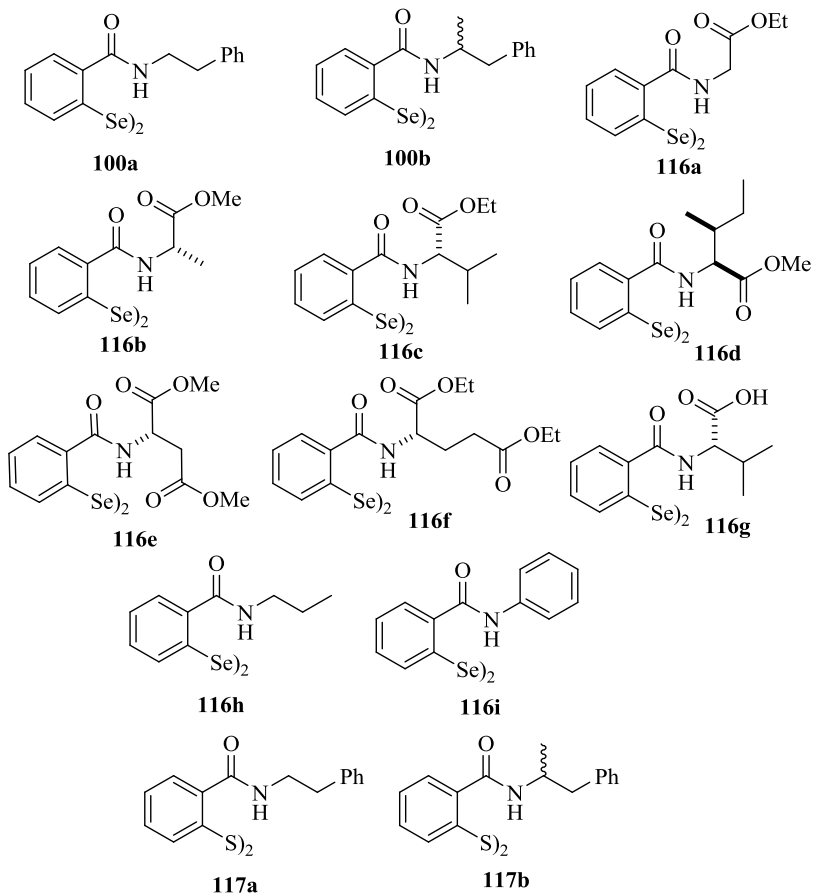


De acordo com a rota sintética planejada, os produtos finais **114a-j** e **115a-b** poderiam ser preparados a partir da ciclização de disselenetos **100a-b**, **116a-i** e dissulfetos **117a-b** contendo ligações amídicas, na presença de iodo molecular como oxidante e trietilamina. Os disselenetos por sua vez poderiam ser sintetizados mediante o acoplamento entre o disseleneto **102** ou dissulfeto **118**, ambos derivados do ácido antranílico, com aminas primárias ou aminoácidos protegidos.

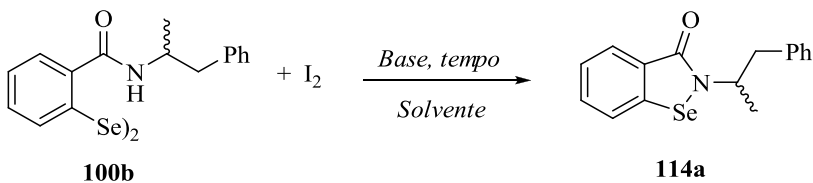
O disseleneto **102** poderia ser sintetizado por meio de diazotação, como mostrado na seção anterior. O dissulfeto **118** foi obtido comercialmente.

Os disselenetos derivados de aminoésteres **116a-f** e aminoácido **116g**, utilizados neste estudo, foram sintetizados previamente e fornecidos pelo grupo do Prof. Dr. Claudio Santi, Università degli Studi di Perugia, Perugia-Itália.¹⁷⁰ O disseleneto alquílico **116h** e os dissulfetos **117a-b** foram preparados de acordo com o método descrito para preparação de disselenetos derivados de anfetaminas apresentado na primeira parte desta tese. Já o disseleneto derivado do ebselen **116i** foi preparado de acordo com método descrito por Mishra e colaboradores em 2006.¹⁷⁸ Todas as estruturas dos dicalcogenetos utilizados como materiais de partida para este estudo estão ilustradas na Figura 38.

Figura 38. Estruturas dos dicalcogenetos empregados neste estudo.

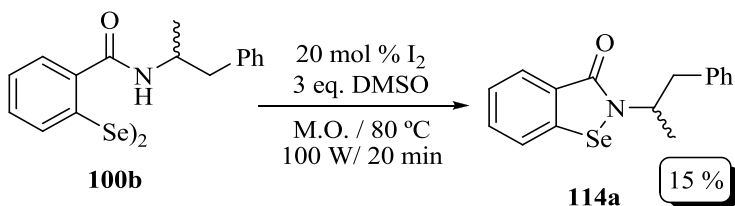


Efetivamente, para a síntese das benzisosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas (derivados do ebselen) e benzisossulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas, planejou-se estudos sistemáticos das condições reacionais, a fim de se alcançar bons rendimentos via uma metodologia rápida e simples. Inicialmente, elegeu-se a reação entre o disseleneto derivado de anfetamina **100b** e o iodo molecular como sistema padrão para uma avaliação da melhor condição reacional (Esquema 32).

Esquema 32. Reação teste.

Em um primeiro momento, o experimento foi conduzido utilizando uma metodologia descrita recentemente pelo grupo desta pesquisadora, utilizando-se quantidade catalítica de I_2 e 3 equivalentes de DMSO.¹⁷⁹ A reação foi executada em um reator de micro-ondas, a uma temperatura de 80 °C e uma potência de 100W e foi acompanhada por cromatografia em camada delgada (CCD). As alíquotas analisadas nos tempos de 10 e 20 minutos não mostraram formação satisfatória do produto **114a** que, após o isolamento de acordo com o ^1H NMR, apresentou um rendimento de apenas 15 % (Esquema 33).

Esquema 33. Primeiro teste realizado empregando a metodologia recentemente descrita pelo grupo desta pesquisadora.



Este baixo valor de rendimento obtido (Esquema 32), pode-se inculir ao fato de que o iodo não estaria agindo como catalisador. Sendo assim, propôs-se uma pequena modificação no método descrito, no qual se empregou 1 equivalente de iodo molecular e 1ml de DMSO. Cabe salientar que, para melhor solubilidade do disseleneto e formação da espécie eletrofílica de selênio, foi necessária a utilização de uma pequena quantidade de diclorometano (CH_2Cl_2). Após 24 h de reação, o

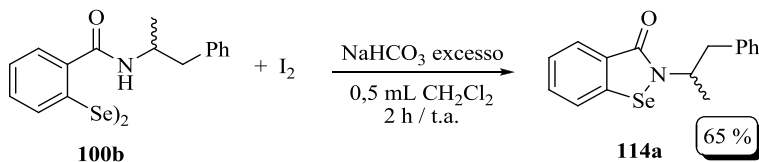
rendimento obtido para a formação do derivado do ebselen **114a** foi de 70 % (Esquema 34).

Esquema 34. Teste realizado utilizando DMSO, I₂ e CH₂Cl₂ como solvente.



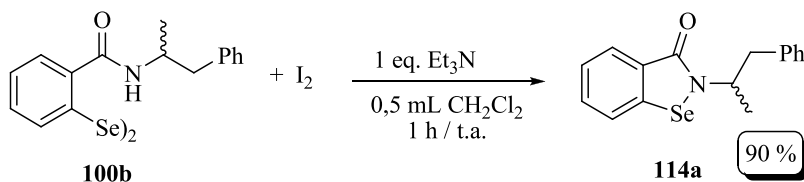
Com o propósito de alterar alguns parâmetros reacionais e verificar a influência dos mesmos nos rendimentos obtidos, realizou-se um experimento no qual o DMSO foi substituído por uma base inorgânica (NaHCO₃), uma vez que ela facilitaria o ataque intramolecular do nitrogênio ao átomo de selênio da provável espécie eletrofílica formada com iodo. Acompanhou-se a reação por CCD e, após 30 minutos de reação, constatou-se a formação significativa do produto. Depois de mais 2 horas de reação, uma nova cromatografia foi realizada, onde não se observou uma mudança apreciável no consumo do material de partida e formação do produto, em comparação com a primeira. A modificação proposta não resultou no aumento do rendimento e o produto foi obtido com 65 % de rendimento (Esquema 35).

Esquema 35. Teste realizado com excesso de NaHCO₃.



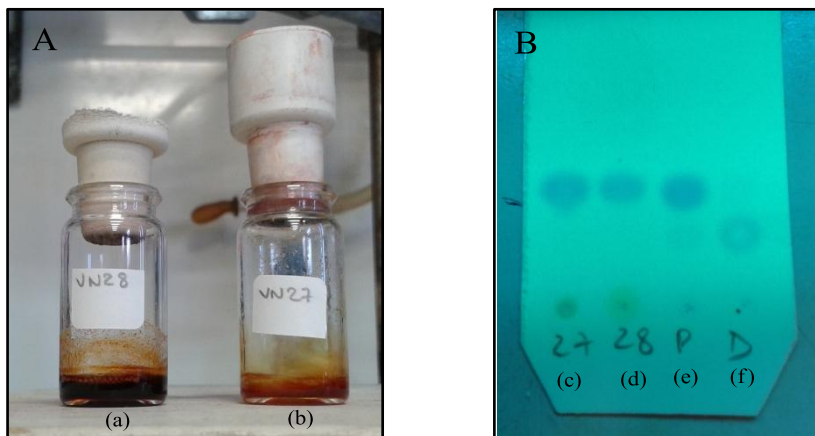
Com o intuito de avaliar a influência da base sobre o rendimento da reação, empregou-se uma base orgânica (Et_3N). Primeiramente testou-se a reação utilizando 1,5 equivalentes da base, onde a benzisselenazol-3(2*H*)-ona *N*-substituída **114a** foi obtida em 90 % de rendimento após 1 hora de reação. Em seguida, reduziu-se a quantidade de trietilamina de 1,5 para 1 equivalente e essa mudança não causou variação considerável no rendimento de formação do produto **114a** (Esquema 36).

Esquema 36. Reação realizada na presença de 1 equivalente de Et_3N .



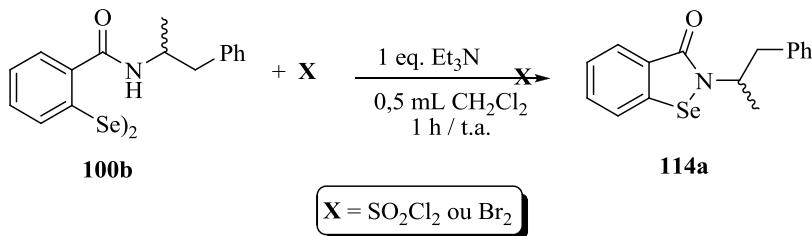
Outro parâmetro importante estudado foi o tempo reacional. Para isso, realizou-se o experimento descrito no Esquema 35, porém com acompanhamento da reação por cromatografia em camada delgada (CCD). Nos tempos de 10, 20 e 30 minutos, foram feitas as análises e, já no tempo de 10 minutos, observou-se o consumo quase que completo dos materiais de partida. Mesmo após 30 minutos, não se constatou mudança significativa na formação do produto, visto que o material de partida já havia sido consumido quase que na sua totalidade. O rendimento desta reação foi de 90 %, calculado pelo espectro de ^1H NMR. Importante salientar que é visível a rapidez da reação, uma vez que, logo após a adição da Et_3N , a mistura reacional muda de cor instantaneamente, como observado na Figura 39 - A.

Figura 39. A) Reações antes (a) e depois (b) da adição de Et₃N. B) CCD das reações: (c) 10 min; (d) 30 min; (e) produto e (f) material de partida.



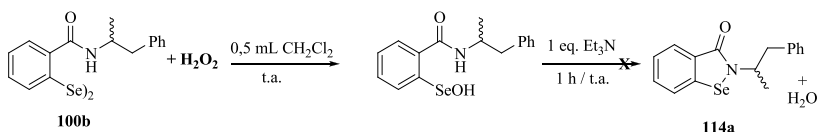
A influência do contraíon da espécie eletrofílica de selênio foi analisada e quando a reação foi realizada na presença de Br₂ ou SO₂Cl₂ no lugar de I₂ não se constatou a formação significativa do produto, mesmo em maiores tempos reacionais. No caso do Br₂, observou-se uma mistura complexa de subprodutos, enquanto que para o SO₂Cl₂ a reação não ocorreu (Esquema 37). O selênio é considerado um átomo mole de acordo com a Teoria de Pearson¹⁸⁰ e, em virtude disso, a reação com iodo é mais favorecida, já que este também é classificado como mole.

Esquema 37. Teste realizado com outras fontes de halogênios.



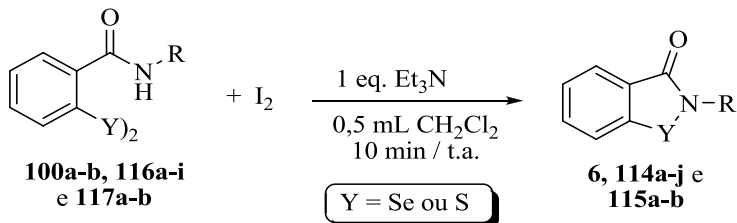
Por fim, foi realizado um teste utilizando 1 equivalente de H_2O_2 em substituição ao iodo. Este experimento foi executado no intuito de observar se uma possível espécie oxidada de selênio poderia sofrer o ataque nucleofílico pelos pares de elétrons do átomo de nitrogênio, com consequente ciclização (Esquema 38). Entretanto, ao final do procedimento, foi observada a formação de diversos produtos diferentes daquele desejado e os mesmos se decompuseram durante a coluna cromatográfica.

Esquema 38. Reação realizada na presença de peróxido de hidrogênio.



Para avaliar a versatilidade do protocolo, decidiu-se explorar a condição ótima frente a diferentes disselenetos que contenham a função amida, com o objetivo de aumentar o escopo da reação, analisar as possíveis influências dos diferentes substituintes além de sintetizar uma série de compostos **114a-k** e **115a-b** com características interessantes do ponto de vista biológico. Os resultados obtidos se encontram na Tabela 5.

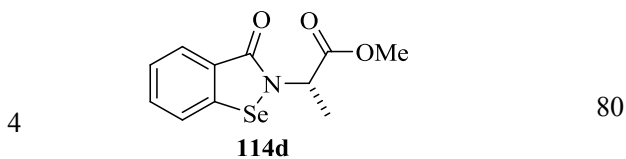
Tabela 5. Síntese das benzoselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **114a-k** e benzosulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **115a-b**.^a



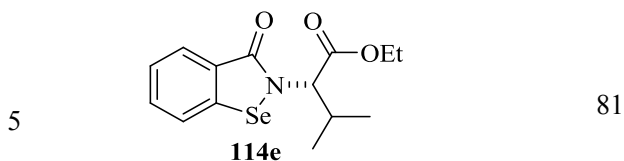
#	Produto	Rendimento (%) ^a
1	<p style="text-align: center;">114a</p> <p style="text-align: center;">Líquido viscoso incolor</p>	> 99
2	<p style="text-align: center;">114b</p> <p style="text-align: center;">Sólido amarelo claro</p>	90
3	<p style="text-align: center;">114c</p> <p style="text-align: center;">Sólido branco</p>	> 99

Continua

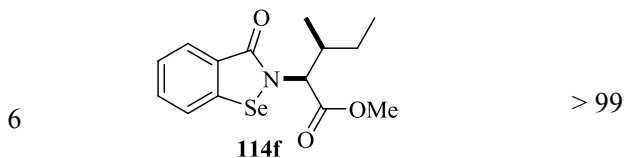
Continuação



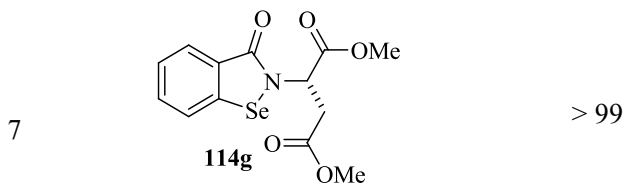
Sólido amarelo



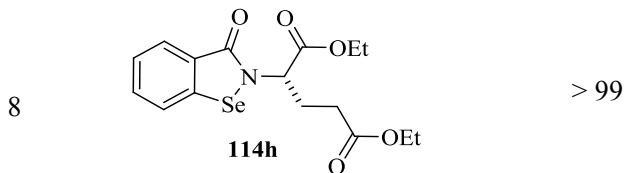
Sólido amarelo escuro



Líquido viscoso amarelo

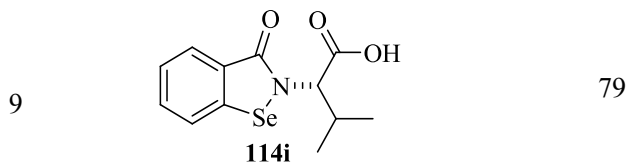


Sólido amarelo



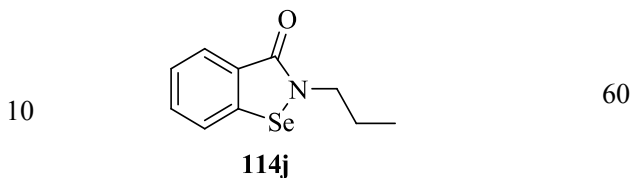
Líquido viscoso amarelo claro

Continua

 Continuação


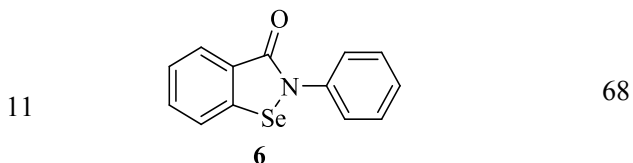
79

Sólido branco



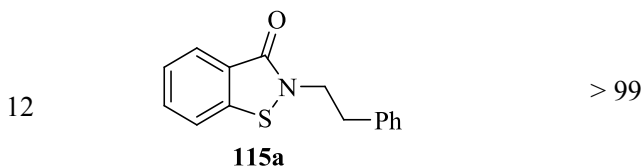
60

Sólido branco



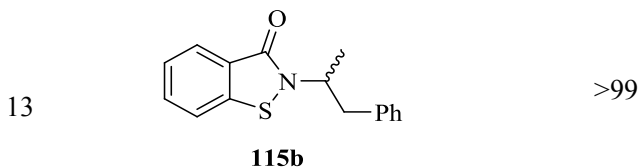
68

Sólido branco



> 99

Líquido viscoso incolor



>99

Líquido viscoso amarelo

^a Reações realizadas na presença de disseleneto ou dissulfeto (1 equivalente), I₂ (1 equivalente), CH₂Cl₂ (0,5 mL), Et₃N (1 equivalente), a temperatura ambiente durante 10 minutos;

^b Rendimentos dos produtos isolados.

Inicialmente, empregaram-se os disselenetos sintetizados na primeira parte deste doutorado. Ambos apresentaram bons resultados quando submetidos à reação de ciclização, destacando o composto **114a** derivado do disseleneto **100a**, que foi obtido em rendimento quantitativo (Tabela 5, linhas 1 e 2). Buscou-se então a síntese a partir dos disselenetos derivados de aminoésteres. De modo geral, o protocolo se mostrou efetivo quando os mesmos foram utilizados (Tabela 5, linhas 3-8). Pôde-se observar que a metodologia não foi sensível aos diferentes grupamentos dos aminoésteres, visto que os produtos foram obtidos de bons a ótimos rendimentos, mesmo na presença de grupamentos volumosos. Em especial, o produto **114f**, contendo um grupamento *sec*-butila, muito volumoso, foi obtido em rendimento quantitativo (Tabela 5, linha 6). Quando os disselenetos derivados da alanina-OEt **116b** e da valina-OEt **116c** foram empregados, observou-se um decréscimo nos rendimentos de formação dos **114d** e **114e**, sendo estes obtidos em 80 e 81 %, respectivamente (Tabela 5, linhas 4 e 5).

No intuito de alterar a solubilidade dos compostos, bem como avaliar a influência da modificação da estrutura no rendimento da reação, um disseleneto derivado de aminoácido **116g** foi utilizado nas mesmas condições descritas acima. O produto ciclizado **114i** foi obtido em 79 % de rendimento (Tabela 5, linha 9). Houve um leve decréscimo no rendimento da reação e, neste caso, credita-se ao fato de o material de partida não ser completamente solúvel no solvente da reação.

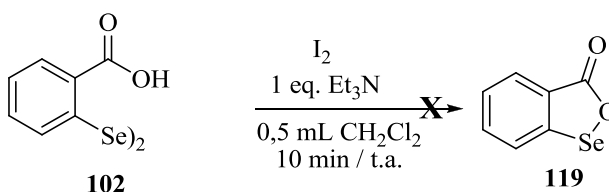
Em outra abordagem, verificou-se a possibilidade de se sintetizar benzisoselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas provenientes de disselenetos alquílicos (Tabela 5, linha 11). Entretanto, a ciclização deste disseleneto alquílico não foi tão eficiente como as demais. Utilizando-se disseleneto **116h**, o produto **114j** foi obtido em 60% de rendimento (Tabela 5, linha 10).

Empregou-se também a metodologia proposta para a síntese do próprio ebslen **6**, o qual foi obtido em 68 % de rendimento (Tabela 5, linha 11). Neste caso, o decréscimo no rendimento ocorreu devido à baixa solubilidade do material de partida **116i** no solvente da reação.

Os bons resultados obtidos nas reações empregando disselenetos encorajou o grupo pesquisador, ao qual esta pesquisadora se insere, a expandir o protocolo para o uso de dissulfetos. De modo geral, o uso de dissulfetos derivados de anfetaminas se mostrou extremamente eficiente nas reações de formação de benzisulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas. Os dissulfetos **117a-b** formaram os respectivos produtos **115a-b**, em rendimentos quantitativos.

Vale salientar que o protocolo desenvolvido para ciclização de amidas, também foi aplicado, porém sem sucesso, para disselenetos contendo grupamento ácido, conforme Esquema 39. Acredita-se que o produto não se formou para este derivado do ácido antranílico **102**, devido a baixa solubilidade do reagente de partida na mistura CH_2Cl_2 e I_2 .

Esquema 39. Reação de ciclização empregando o disseleneto derivado do ácido antranílico **102**.



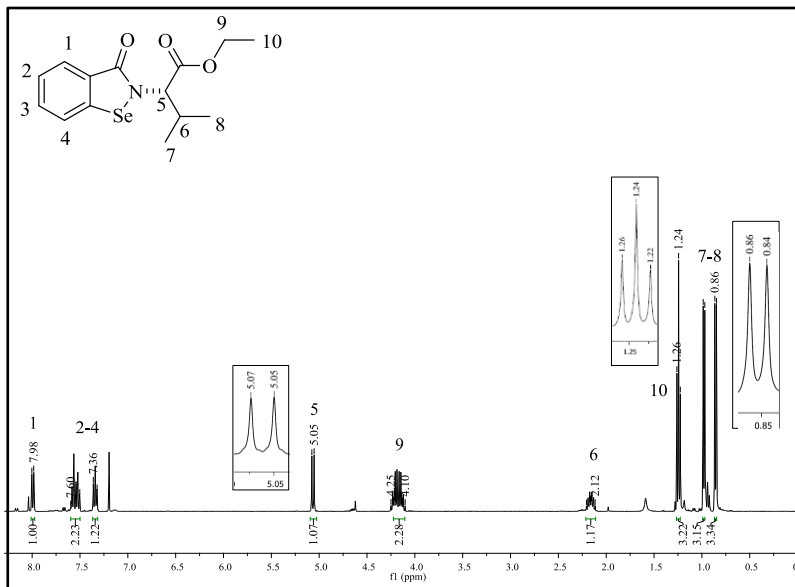
É interessante destacar que o método desenvolvido para sintetizar derivados do ebselen se mostrou rápido e eficiente, uma vez que permitiu a síntese de uma gama de pequenas moléculas, com inúmeras variações dos substituintes, de fácil preparação (sem aquecimento, sem atmosfera inerte e, a maioria, sem purificação por coluna cromatográfica) e em excelentes rendimentos. Vale ressaltar que a síntese de derivados do ebselen contendo grupamentos biologicamente importantes são de fundamental importância no que tange à química biológica e medicinal. Dessa forma, com os compostos sintetizados poderão se obter informações valiosas com relação à estrutura e atividades desta classe de compostos, além de analisar o efeito das modificações propostas em relação à atividade/toxicidade apresentada pela molécula do ebselen.

Todos os produtos tiveram suas estruturas confirmadas por ^1H e ^{13}C NMR, e os respectivos espectros se encontram na seção de espectros e gráficos selecionados. Como a maioria das benzisosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **114a-j** e benzisossulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **115a-b** foram preparadas de forma inédita, também foram realizados experimentos de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS), bem como ^{77}Se NMR, quando necessário.

A título de exemplo, discutem-se, a seguir, as atribuições dos sinais nos espectros de NMR para o composto **114e**, como representante dessa classe de compostos.

No espectro de ^1H NMR do composto **114e**, mostrado na Figura 40, com deslocamento de 7,99 ppm verifica-se um duplete, com constante de acoplamento de $J = 8$ Hz com integral relativa a dois hidrogênios que podem ser atribuídos aos hidrogênios ligados ao carbono 1. Os outros hidrogênios atribuídos aos hidrogênios ligados aos carbonos 2 a 4 se encontram na região compreendida entre 7,60-7,50 e 7,36-7,32 ppm, na forma de dois multipletos com integrais relativas a dois e um hidrogênios, respectivamente. Em 5,06 ppm, denota-se um duplete que apresenta uma constante de acoplamento de $J = 12$ Hz, com integral relativa a um hidrogênio, que deve corresponder ao hidrogênio ligado diretamente ao carbono 5. Na região entre 4,25 e 4,10 ppm se observa um multiplete com integração de dois hidrogênios relativos aos hidrogênios ligados ao carbono 9. Com deslocamento de 2,21-2,12 ppm, encontra-se um multiplete com integral relativa a um hidrogênio, que pode ser atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono 6. Já em campo mais alto, 1,24 ppm verifica-se um triplete, com constante de acoplamento de $J = 8$ Hz, com integral relativa a três hidrogênios, referentes aos hidrogênios ligados ao carbono 10. Com deslocamento de 0,98 ppm e 0,86 ppm, encontram-se dois dupletos com constantes de acoplamento $J = 8$ Hz e $J = 4$ Hz, respectivamente. Estes sinais podem corresponder aos hidrogênios ligados aos carbonos das duas metilas 7 e 8. É importante destacar que no espectro do produto obtido, em comparação ao disseleneto correspondente, não se observa a presença do sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio da amida. Esta informação ajuda a comprovar que ocorreu a ciclização da molécula.

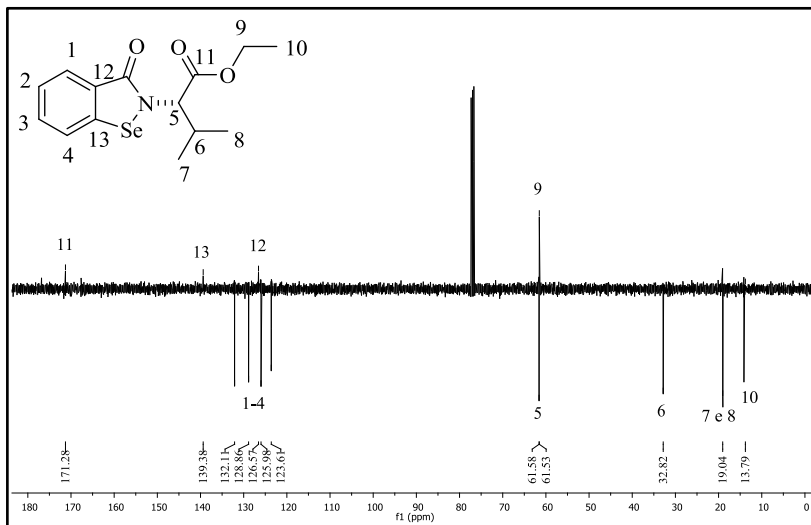
Figura 40. Espectro de ^1H NMR, do composto **114e** em CDCl_3 a 400 MHz.



No espectro de ^{13}C APT NMR (Attached-Proton-Test) (Figura 41) obtido na frequência de 100 MHz e utilizando CDCl_3 como solvente, constata-se os sinais para esse composto. Nesta técnica é possível fazer a diferenciação dos carbonos de acordo com o seu grau de hidrogenação. Dessa forma, C e CH_2 aparecem na mesma fase do solvente (acima da linha), CH_3 e CH na fase contrária (negativa). Com base nisso, é possível observar em deslocamento químico de 171,3 ppm o carbono da carbonila do éster 11. Os sinais que aparecem em 139,4 e 126,6 ppm são referentes aos carbonos quaternários da parte aromática da molécula 12 e 13. Na região compreendida entre 132,1 e 123,6 verificam-se os sinais dos “CH” dos carbonos do anel benzênico 1-4. Em campo mais alto se registram os carbonos alifáticos. Com deslocamento de 61,6 ppm se percebe o sinal referente ao carbono 9 (CH_2) Logo em seguida, em fase oposta, em 61,5 ppm se percebe o pico de carbono referente ao carbono 5, enquanto o sinal em 19,0 ppm, refere-se às metilas 7 e 8. Por fim, com deslocamento de 13,8 ppm se encontra a metila do grupamento éster 10. Neste exemplo, devido ao

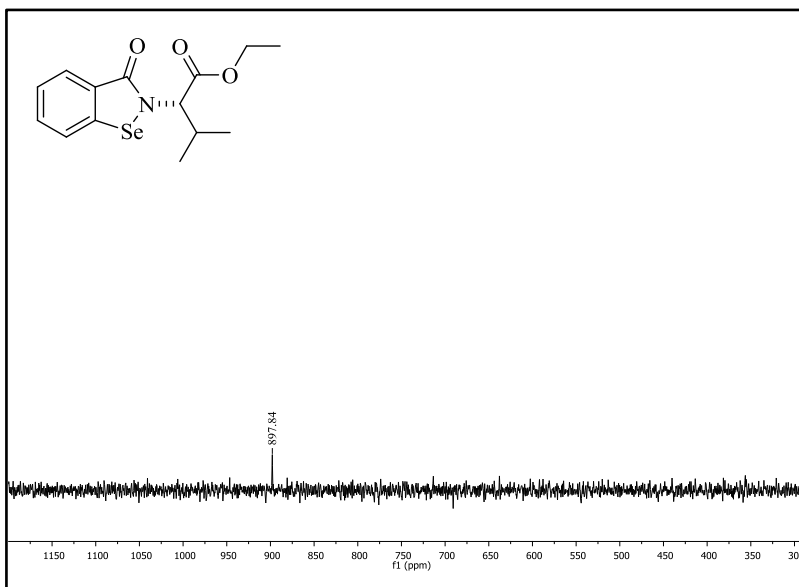
tempo de relaxação muito longo, o pico do carbono da carbonila do grupamento amídico não apareceu.

Figura 41. Espectro de ^{13}C APT NMR, do composto **114e** em CDCl_3 a 100 MHz.



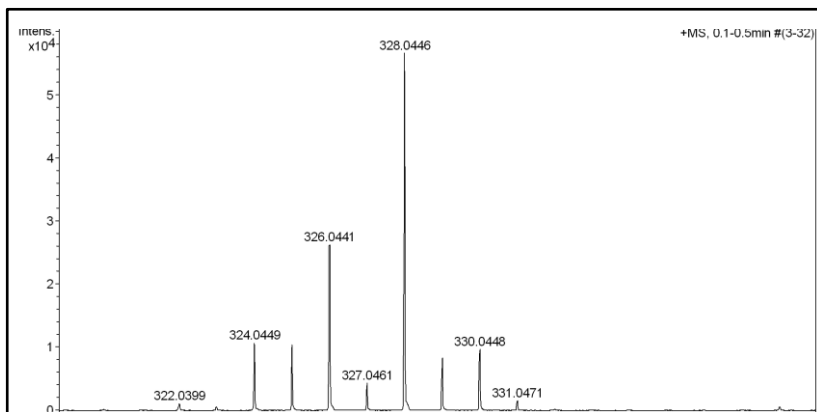
Para complementar a caracterização do composto **114e**, realizou-se o experimento de ressonância magnética nuclear de ^{77}Se . A Figura 42 mostra o espectro obtido na frequência de 76,5 MHz em que se utilizou CDCl_3 como solvente. Sendo assim, em 897,8 ppm se observa o pico referente ao átomo de selênio. Este valor está de acordo com os valores reportados na literatura para derivados do ebselen contendo peptídeos, que gira em torno de 884-900 ppm, aproximadamente.³¹

Figura 42. Espectro de ^{77}Se NMR, do composto **114e** em CDCl_3 a 76,5 MHz.



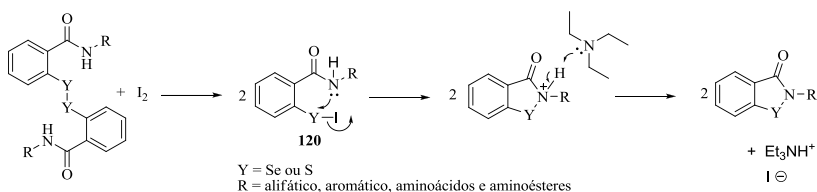
Adicionalmente, fez-se análise por espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) para o mesmo composto **109e**, utilizando fonte de fotoionização (APPI). A Figura 43 mostra o espectro de massas obtido para o composto **114ee** onde é possível observar o pico do íon molecular, $[\text{M}+\text{H}]$, com o padrão de distribuição isotópica característico de compostos contendo selênio. Para a fórmula $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_3\text{Se}$ a razão m/z teórica calculada para $[\text{M}+\text{H}]^+$ é de 328,0452, enquanto que a encontrada foi de 328,0446.

Figura 43. Espectro de massas de alta resolução do composto **114e**, utilizando fonte APPI.



Com base em dados obtidos na literatura,¹⁸¹ propôs-se um possível mecanismo para a síntese dos derivados do ebselen (Esquema 40). Acredita-se que a obtenção das benzissoselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **114a-j** e benzissulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **115a-b** desejadas deva ocorrer a partir de uma reação redox (formação da espécie eletrofílica de selênio **120**), seguida de uma ciclização intramolecular.

Esquema 40. Mecanismo proposto para a ciclização dos disselenetos e dissulfetos empregados neste estudo.



3.2.2 Avaliação do potencial antioxidante

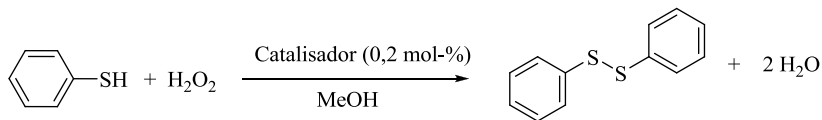
3.2.2.1 Avaliação da atividade como miméticos da enzima glutathiona peroxidase

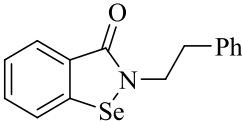
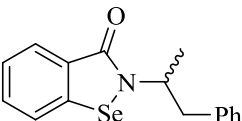
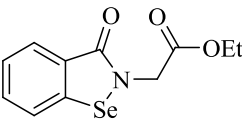
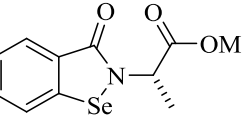
Como citado anteriormente, o ebselen é considerado um exemplo clássico de mimético da enzima glutathiona peroxidase.¹⁸² Nesse contexto, a síntese e o estudo das atividades biológicas dos seus análogos, principalmente, que contêm aminoácidos, têm sido tema de estudo e vêm apresentando interessantes atividades biológicas. Eles já foram descritos como antimicrobianos,¹⁸³ inibidores da enzima óxido nítrico sintase, indutores da atividade das citocinas,¹⁸⁴ miméticos da enzima GPx¹⁸⁵⁻¹⁸⁶ e com atividade anti-inflamatória.¹⁸⁷ Esse potencial biológico apresentado pelos derivados do ebselen contendo aminoácidos atraiu a atenção deste grupo de pesquisadores e, a fim de melhorar sua atividade catalítica, várias modificações foram feitas na estrutura do ebselen. A maioria das modificações propostas envolveram a substituição do grupamento ligado ao nitrogênio.

Dessa forma, explorou-se neste trabalho o potencial antioxidante, como miméticos da enzima GPx, de todas as benzisosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **114a-j** e benzisossulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **115a-b** sintetizadas empregando o modelo descrito por Tomoda e colaboradores.¹⁴⁴ A redução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foi monitorada espectrofotometricamente por meio da formação do dissulfeto de difenila (PhSSPh) através do aumento da absorbância em 305 nm (Vide Figura 30). Os resultados obtidos referentes às atividades dos compostos foram mensurados, considerando o tempo necessário para reduzir a concentração do tiol (PhSH) em 50 % (T₅₀) e o ebselen **6** foi utilizado como mimético padrão. Um experimento foi conduzido na ausência do catalisador e não se observou nenhuma oxidação do tiol apreciável. Da mesma forma que, na ausência de H₂O₂, os catalisadores testados não apresentaram atividade da enzima glutathiona oxidase (GOx), uma vez que não oxidaram o tiofenol a dissulfeto de difenila.

As moléculas derivadas do ebselen **114a-j** e **115a-b** foram testadas em quantidades catalíticas (0,2 mol %) em relação PhSH e os resultados obtidos se encontram descritos na Tabela 6. Para fins de comparação, o valor de 1,0 foi arbitrariamente atribuído ao padrão.

Tabela 6. Resultados obtidos para as benziosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **114a-k** e benziossulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **115a-b** sintetizadas como miméticos da enzima GPx.^{a,b}



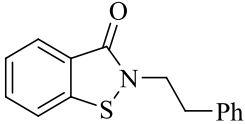
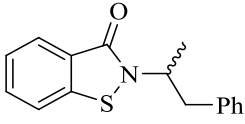
#	Catalisador ^c	T ₅₀ (h) ^{d,e}	Eficiência Relativa ao Ebselen
1	Ebselen	4,51 (± 0,19)	1,00
2	 114a	2,66 (± 0,34)	1,69
3	 114b	2,14 (± 0,11)	2,11
4	 114c	2,81 (± 0,30)	1,60
5	 114d	1,98 (± 0,15)	2,28
Continuação			

Continuação

6	 114e	2,01 (\pm 0,13)	2,24
7	 114f	2,07 (\pm 0,06)	2,18
8	 114g	2,32 (\pm 0,04)	1,94
9	 114h	2,53 (\pm 0,23)	1,78
10	 114i	2,05 (\pm 0,18)	2,20
11	 114j	2,57 (\pm 0,15)	1,75

Continua

Continuação

12	 115a	3,24 (\pm 0,02)	1,39
13	 115b	2,33 (\pm 0,17)	1,93

^a Sob essas condições, a adição de H₂O₂ e a ausência do catalisador de selênio, não produziu oxidação significativa do PhSH;

^b Sob essas condições, na ausência de H₂O₂ (MeOH + catalisador de selênio + PhSH), conduzidas durante os 120 segundos iniciais do experimento, não foi observada nenhuma oxidação apreciável do PhSH;

^c Condições finais: MeOH (1 mL); catalisador (0,01 mM); PhSH (5 mM); H₂O₂ (10 mM);

^d T₅₀ é o tempo requerido, em horas, para reduzir a concentração do tiol pela metade do seu valor, depois da adição de H₂O₂;

^e Dados entre parênteses: Erro experimental.

Todos os compostos apresentaram atividade em níveis comparáveis ao ebselen **6** e esta primeira conjectura confirma que as benzoisosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas são estruturas promissoras na obtenção de compostos antioxidantes com atividade mimética GPx. Como pode ser visto na Tabela 5, na linha 5, a molécula análoga ao ebselen contendo resíduo do aminoéster derivado da L-alanina **114d** proporcionou o melhor resultado, sendo aproximadamente 2,3 vezes mais ativo do que o ebselen **6**. Um decréscimo não tão significativo foi observado na atividade dos exemplos **114e**, **114f** e **114i** que consumiram 50 % do PhSH adicionado em cerca de 2 horas (Tabela 6, linhas 6, 7 e 10). Já os derivados do ebselen contendo anfetamina **114b** e o aminoéster oriundo do ácido L-aspártico **114g** apresentaram um valor de T₅₀ igual a 2,14 e 2,32 horas, respectivamente (Tabela 6, linhas 3 e 8). As menores atividades catalíticas foram observadas para os compostos **114a**, **114c**, **114h** e **114j** os quais reduziram o H₂O₂ por volta de 1,7 vezes mais rápido que o ebselen. Embora as benzoisosselenazol-3(2*H*)-

onas *N*-substituídas tenham sido projetadas com substituintes que possuíssem diferentes características estruturais, alterando o padrão eletrônico e estérico da molécula, a atividade catalítica dos mesmos como miméticos da enzima GPx não seguiu uma tendência clara e, caso haja, o efeito do substituinte não foi tão significativo na performance destes catalisadores.

Um resultado que vale evidenciar foi aquele obtido com as benzisulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas **115a-b** sintetizadas. Surpreendentemente, os derivados do ebselen contendo enxofre no lugar do selênio se mostraram mais ativos como miméticos da enzima GPx do que o próprio ebselen (Tabela 6, linhas 12 e 13). No entanto, o T_{50} encontrado para ambos foi menor em relação aos seus análogos contendo selênio (**114a** e **114b**), destacando, dessa forma, a importância do mesmo para se obter um melhor mimético.

“You want something. Go get it. Period.”

(Will Smith)

4 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

4.1 Conclusões gerais

Em se considerando os objetivos que foram propostos para este trabalho e ao analisar os resultados obtidos é possível fazer algumas considerações frente ao estudo realizado.

Durante o curso de Doutorado o objetivo esteve focado no desenvolvimento de compostos orgânicos de selênio contendo grupamentos importantes do ponto de vista biológico, como por exemplo, anfetaminas e aminoácidos. Foram objetos de interesse constante a síntese, a avaliação do potencial antioxidante dos mesmos, o estudo da interação intramolecular existente entre o átomo de selênio e heteroátomos presentes na molécula em posição apropriada, bem como o provável mecanismo de mimese da enzima GPx.

Do ponto de vista sintético duas classes distintas de compostos orgânicos de selênio funcionalizados com anfetaminas e aminoácidos foram produzidas e pode-se concluir que as rotas sintéticas adotadas para a preparação das mesmas foram simples e eficientes.

No que diz respeito à avaliação do potencial antioxidante como miméticos da enzima GPx, os resultados obtidos mostraram que as moléculas estudadas apresentaram capacidade de agir como GPx *like*, promovendo *in vitro* a redução de peróxido de hidrogênio à água através da oxidação do tiofenol a dissulfeto de difenila. Adicionalmente, a primeira classe de compostos sintetizados (disselenetos derivados de anfetaminas) inibiu a produção de TBARS induzida por ferro, além de atuarem como substratos da enzima TrxR, sendo reduzidas a selenol pela mesma. Para estas moléculas os estudos de ⁷⁷Se NMR forneceram informações importantes, do que se concluiu que a interação intramolecular não covalente ocorre com o oxigênio da carbonila do grupamento amídico e não com o nitrogênio. Além disso, através dos estudos de ¹H NMR, obteve-se informações essenciais para se propor um mecanismo como miméticos da GPx, utilizando DTT como cofator.

De maneira geral, os novos compostos orgânicos de selênio preparados podem representar estruturas promissoras com diferentes atividades biológicas, que podem atuar contra o estresse oxidativo através de diversos mecanismos de ação.

Um resumo das conclusões gerais dos resultados apresentados neste trabalho encontra-se ilustrado na Figura 44.

4.2 Conclusões específicas

As conclusões específicas dos resultados apresentados estão resumidas nos itens abaixo:

I. Disselenetos derivados de anfetaminas

- Neste trabalho se sintetizou-, em bons a excelentes rendimentos, uma nova classe de disselenetos funcionalizados com aminas biologicamente importantes (anfetaminas) que foram completamente caracterizadas por ^1H , ^{13}C NMR e massas de alta resolução.

- Todos os disselenetos foram testados quanto ao seu potencial de mimetizar a enzima GPx, no intuito de compreender melhor a influência estrutural na atividade antioxidante e obter uma relação estrutura *vs* atividade desta classe de compostos. Os melhores resultados foram obtidos com disselenetos **100a** e **100b**, que mostraram elevada capacidade de oxidar o tiofenol a dissulfeto, reduzindo H_2O_2 (potentes miméticos da GPx). O disseleneto **100b** exibiu um valor de T_{50} de 16,87 min, enquanto que para o ebselen, mimético da GPx utilizado como padrão, foi observado um valor T_{50} de 154,26 min, ou seja, o disseleneto sintetizado mostrou-se 9 vezes mais eficiente que o padrão. Os resultados expressivos obtidos podem ser explicados pela interação intramolecular não ligante entre o átomo de selênio e o heteroátomo presente em posição apropriada, o que pode ser evidenciado na comparação dos disselenetos derivados do ácido antranílico com os disselenetos alifáticos. Em particular, os disselenetos derivados do ácido antranílico, nos quais, a restrição conformacional é maior, a atividade GPx *like* mostrou-se mais acentuada.

- Todos os compostos sintetizados foram avaliados quanto ao seu potencial antioxidante na inibição da peroxidação lipídica em amostras de cérebro de ratos, induzidas por Fe (II). De maneira geral, todos os disselenetos derivados de anfetaminas inibiram a produção, Fe-induzida, de TBARS. Os disselenetos derivados do ácido antranílico, seguindo a tendência GPx *like*, foram mais ativos, inclusive em menores concentrações, do que o padrão utilizado (ebselen). A inibição da peroxidação lipídica pode ser explicada pela transformação de disselenetos em intermediários selenóis por meio da reação com os tióis presentes no homogenato do cérebro.

- Os potenciais de redução dos novos disselenetos derivados de anfetaminas pela enzima TrxR de fígado de rato parcialmente purificada

foram testados. Ao contrário da tendência GPx *like*, para este ensaio antioxidante, os melhores resultados foram obtidos para os disselenetos alifáticos. Através desses resultados pode-se concluir que o menor impedimento estérico e maior flexibilidade torna a porção contendo o disseleneto mais acessível e acaba por facilitar a sua transformação pela enzima, tornando a molécula em um melhor substrato da enzima TrxR. Além disso, há de se considerar o fato de que sob as condições do ensaio TrxR efetuadas, a ausência de concentrações apreciáveis de NADPH teria prejudicado a redução de alguns dos disselenetos por TrxR.

- Os resultados obtidos nos experimentos de ^{77}Se NMR, mostraram uma tendência de maior desblindagem nos deslocamentos químicos para os compostos do tipo RSeX (X = Cl, Br e I) de acordo com a maior eletronegatividade do átomo ligado. Assim, com os dados observados se concluiu que o disseleneto derivado de anfetamina **100b** apresenta uma interação intramolecular não ligante com o átomo de oxigênio do grupamento carbonílico da amida, o que pode estar influenciando na sua atividade antioxidante pronunciada.

- Estendeu-se os estudos visando a elucidação do mecanismo do disseleneto sintetizado **100b** na redução de H_2O_2 e oxidação do DTT (outro ensaio alternativo utilizado para avaliar o potencial mimético da GPx), realizado através do ^1H NMR. Propõe-se que o disseleneto derivado da anfetamina reage primeiramente com o peróxido de hidrogênio, formando o ácido selenênico, uma vez que a reação com o DTT se mostrou mais lenta e o que pode estar diminuindo a velocidade nesta etapa seria a reação de troca de tiol.

- Os estudos de voltametria cíclica para o composto **100b** forneceram dados cruciais sobre o comportamento redox do átomo de selênio. Estas informações estão de acordo com os possíveis intermediários formados propostos no mecanismo de reação de redução de peróxido de hidrogênio e oxidação do DTT.

- Parte deste trabalho foi publicado na revista *European Journal of Medicinal Chemistry*, intitulado “*Synthesis and Biological Evaluation of New Nitrogen-Containing Diselenides*”.¹⁸⁸ Além disso, uma solicitação de depósito de Patente intitulada por “*Disselenetos derivados de anfetaminas, compostos obtidos, composição farmacêutica, e, uso dos compostos como miméticos da enzima glutathione peroxidase (GPx)*” foi encaminhado para os órgãos competentes desta instituição, Universidade Federal de Santa Catarina.¹⁸⁹

II. Compostos derivados do ebselen

- Desenvolveu-se uma metodologia simples, rápida e eficiente para a síntese de uma série de benzisosselenazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas (derivados do ebselen) e benzisossulfonazol-3(2*H*)-onas *N*-substituídas. O método sintético adotado foi valioso no sentido de que os compostos foram sintetizados sem a necessidade de utilização de grupos protetores na etapa de ciclização, em rendimentos elevados e, na maioria das etapas reacionais, sem a necessidade de utilizar processos de purificação.

- No que diz respeito à avaliação do potencial biológico dos compostos derivados do ebselen obtidos, eles foram testados como agentes antioxidantes. Todas as moléculas analisadas foram capazes de mimetizar a atividade de uma importante selenoenzima presente no nosso organismo, a glutathione peroxidase (GPx), inclusive, com atividade maior que o padrão conhecido na literatura, ebselen. Em particular, os derivados contendo enxofre **115a** e **115b** apresentaram maior atividade que o ebselen, porém menores em relação aos seus análogos contendo selênio (**114b** e **114c**). Este dado obtido destaca a importância do átomo de selênio para maior atividade antioxidante dos compostos.

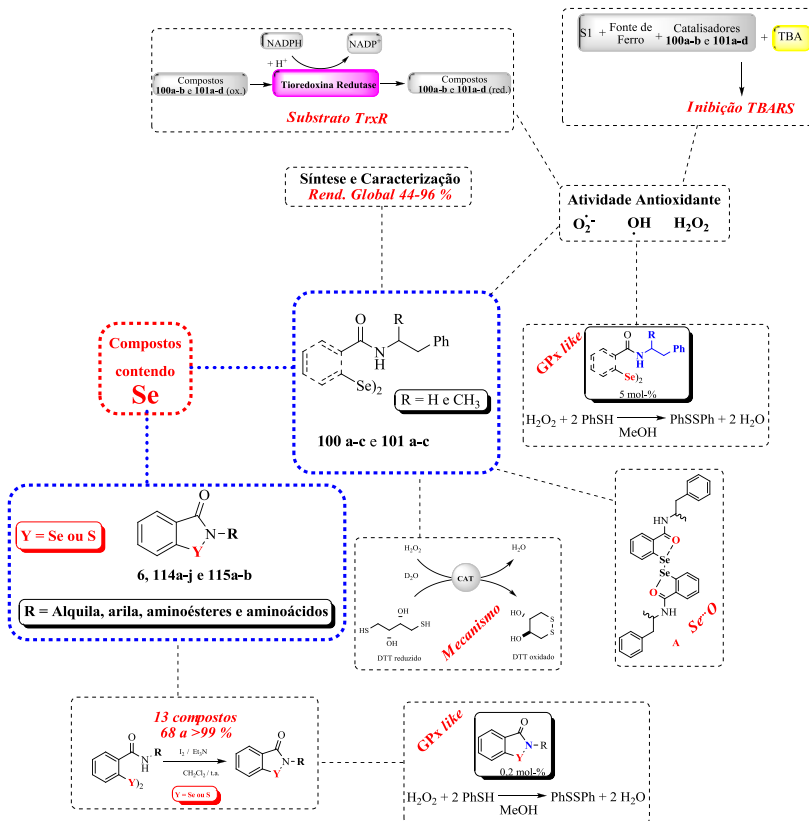
4.3 Perspectivas

Com relação à primeira parte deste trabalho, os resultados obtidos indicam que todos os novos compostos exibiram propriedades antioxidantes importantes e superiores que o ebselen. Estes dados preliminares evidenciam que os novos disselenetos contendo anfetaminas devem ser investigados de maneira mais aprofundada, visando o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de doenças relacionadas com o estresse oxidativo, iniciando principalmente por análises *in vivo*. Adicionalmente, a atividade antimicrobiana destes compostos vem sendo estudada e mostrando excelentes resultados. Vale salientar também que estudos bioquímicos complementares desses compostos estão em andamento em laboratórios parceiros.

Considerando a segunda parte deste trabalho, com as moléculas obtidas pretendem realizar outros testes biológicos, tais como anti-HIV, etc. Por fim, cabe salientar que o estudo que deu origem a esta segunda

parte desta tese está sendo redigido e será submetido a um periódico de nível internacional.

Figura 44. Resumo das conclusões gerais dos resultados apresentados neste trabalho de síntese e avaliação do potencial antioxidante de compostos biologicamente importantes contendo selênio.



“Science, for me, gives a partial explanation of life. In so far as it goes, it is based on fact, experience and experiment...I agree that faith is essential do success in life...In my view, all that is necessary for faith is the belief that by doing our best we shall come nearer to success and that success in our aims (the improvement of the lot of mankind, present and future) is worth attaining.”

(Rosalind Franklin)

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Materiais e métodos

5.1.1. Solventes e reagentes

Os solventes disponíveis comercialmente foram previamente secos e purificados conforme procedimentos descritos na literatura.¹⁹⁰⁻¹⁹¹

A água do diclorometano (CH_2Cl_2) foi removida pelo armazenamento, durante 24 horas, do solvente sob peneira molecular de 3 Å (10% m/v). Já a trietilamina foi refluxada com KOH durante 6 horas, sendo então, destilada e armazenada sob peneira molecular de 3 Å. O ebselen, a anfetamina, os disselenetos e dissulfetos, quando não obtidos comercialmente, foram preparados de acordo com procedimentos descritos na literatura.^{134,151-152,170, 178, 192-193} Os demais solventes e reagentes empregados nas sínteses, purificações e caracterizações foram obtidos de fontes comerciais (Aldrich, Merck, Fluka, Nuclear, Synth) e utilizados sem prévia purificação.

5.1.2. Métodos cromatográficos

Utilizou-se coluna cromatográfica, cuja fase estacionária foi sílica gel (230-400 mesh), para purificação dos compostos. Os eluentes empregados como fase móvel estão descritos nos procedimentos experimentais. O método utilizado para o acompanhamento das reações foi a cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando placas obtidas a partir de cromatofolhas de alumínio impregnadas com sílica gel 60 GF₂₅₄ (Merck). As placas de CCD foram visualizadas com luz UV, cuba com vapor de iodo e solução ácida de vanilina, seguido de aquecimento.

5.1.3. Métodos espectroscópicos e espectrométricos

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H NMR), de carbono (^{13}C NMR) e de selênio (^{77}Se NMR) foram obtidos nos aparelhos Bruker Avance 200 ou Varian AS-400, operando em 200 e 400 MHz para ^1H NMR, 100 e 50 MHz para ^{13}C NMR e 76,5 MHz para ^{77}Se NMR. As amostras foram dissolvidas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-d_6), empregando-se tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em parte por milhão (ppm)

em relação ao TMS (^1H NMR), CDCl_3 (^{13}C NMR) e $(\text{PhSe})_2$ (^{77}Se NMR). Os dados de NMR foram descritos como segue: a multiplicidade dos sinais dos hidrogênios nos espectros de ^1H foi reportada como: *s* = simpleto, *d* = duplete, *dd* = duplete de duplete, *t* = tripleto, *q* = quarteto, *qu* = quinteto, *sex* = sexteto, *m* = multiplete, *sl* = singleto largo), o número de hidrogênios deduzidos da integral relativa e a constante acoplamento (*J*) expressa em Hertz (Hz).

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos a partir de um aparelho micrOTOF Q-II (Bruker Daltonics), do Centro de Biologia Molecular Estrutural (CEBIME), equipado com seringa automática (KD Scientific) para injeção das amostras. O espectrômetro de massas APPI-QTOF MS (*Photo Ionisation Time of Flight Mass Spectrometry*) ou ESI-micrOTOF-Q II MS (*Electrospray Ionisation Mass Spectrometry*) foram operados em modo de íon positivo, onde as amostras foram injetadas em um fluxo constante de 3 $\mu\text{L}/\text{min}$, utilizando como solvente uma mistura de acetonitrila e metanol de grau LCMS. Os dados foram processados em um software Bruker Data Analysis versão 4.0. Os íons parentais foram listados como $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}]^+$ ou $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$.

Os valores de ponto de fusão (P.F.) foram determinados em aparelho MQ APF-301, não aferido.

5.1.4. Espectroscopia de absorção UV

Os dados de absorção de luz ultravioleta foram obtidos a partir de um espectrofotômetro com arranjo de diodos, com célula termostática do LACFI – Laboratório de Catálise e Fenômenos Interfaciais – UFSC ou a partir do aparelho Hitachi U-2001 Spectrophotometer, do Setor de Bioquímica – UFSM.

5.1.5. Micro-ondas

As reações em micro-ondas foram realizadas em tubos selados (10 mL) específicos para reator de micro-ondas, em um aparelho Monomode Reactor CEM Discover, equipado com Explore de 24 posições, com controlador de pressão e monitoramento da temperatura por infravermelho.

5.1.6. Rotaevaporadores e linhas de vácuo

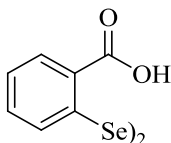
Para remoção dos solventes das soluções orgânicas, foram utilizados:

- Rota-evaporador - M Büchi HB -140;
- Linha de vácuo equipada com uma bomba de alto-vácuo Vacuumbrand modelo RD 4, 4,3 m³/h.

5.2. Procedimentos Experimentais

5.2.1. Procedimento geral para a preparação do disseleneto derivado do ácido antranílico (102)

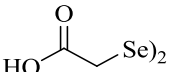
Em um balão de uma boca, resfriado com banho de gelo, contendo ácido antranílico (6,24 mmol) e ácido clorídrico 37 % (1 ml) dissolvidos em 7 mL de água, adicionou-se, gota a gota, uma solução de nitrito de sódio (6,61 mmol) dissolvido em 6 mL de água. A mistura resultante foi agitada por 20 minutos enquanto preparou-se o disseleneto de sódio, como descrito a seguir. Em um balão de duas bocas, sob atmosfera de argônio, foram adicionados selênio (12,6 mmol) e hidróxido de sódio (14,67 mmol). Em seguida, adicionou-se uma solução de 1,7 mL de água, borohidreto de sódio (1,57 mmol) e hidróxido de sódio (2,07 mmol) a 0 °C e conduziu-se a solução sob agitação por 1 hora a temperatura ambiente. Passado este período, a mistura foi lentamente aquecida a 110 °C e conduzida sob agitação por mais 30 minutos nesta temperatura. Em seguida, a solução do sal de diazônio, preparada anteriormente, foi adicionada, gota a gota, sob a solução de disseleneto de sódio. A mistura reacional resultante foi agitada por 30 minutos a temperatura ambiente e, então, aquecida lentamente a 100 °C. Depois, foi resfriada novamente a temperatura ambiente e filtrada sob Celite. A solução vermelha-alaranjada foi acidificada com ácido clorídrico 10 % e o precipitado formado foi coletado, solubilizado em metanol e refluxado. A suspensão foi filtrada e o filtrado foi seco em bomba de vácuo.

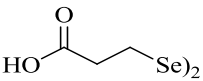


(102) Rendimento: 80%; sólido amarelo claro, P.F. 289-292 °C (lit¹⁹⁴ 292-293 °C); ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ = 8,48 (d, *J* = 4 Hz, 1H); 8,14 (d, *J* = 8 Hz, 1H); 7,91 (t, *J* = 8 Hz, 1H); 7,84-7,77 (m, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ = 168,63; 133,96; 133,59; 131,65; 129,57; 128,83; 126,59.

5.2.2 Procedimento geral para a preparação dos disselenetos alquílicos (103a-b)

O procedimento descrito na literatura foi modificado.⁶² Em um balão de duas bocas, sob atmosfera de argônio, selênio elementar (1 mmol) e 5 mL de etanol foram adicionados. Em seguida, adicionou-se borohidreto de sódio (2 mmol). A mistura reacional foi agitada até que a coloração da solução passasse da cor vermelha para incolor. Passado este tempo, adicionou-se Se⁰ (1 mmol) e a solução resultante foi aquecida até começar a ferver. Depois de 30 minutos, o bromo-ácido correspondente (2 mmol) dissolvido em 2 mL de etanol foi adicionado e a mistura reacional foi agitada durante o período de 12 horas. Após este período, dilui-se com água e extraiu-se com acetato de etila (3 x 20 mL). O resíduo de água foi removido da fase orgânica com sulfato de magnésio e o solvente removido por vácuo (rotaevaporador seguido de linha de vácuo). Os disselenetos sintetizados foram utilizados para as etapas seguintes sem purificação adicional.

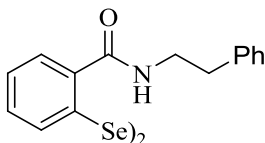

(103a) Rendimento: 96%; sólido amarelo. P.F: 100-103 °C (lit⁶² 102-105 °C); ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ = 13,60 (sl, 2H); 3,76 (s, 4H); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ = 172,14; 23,92.


(103b) Rendimento: Quantitativo; sólido amarelo. P.F: 127-130 °C (lit⁶² 130-132 °C); ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ = 3,05 (t, *J* = 8 Hz, 4H); 2,71 (t, *J* = 8 Hz, 4H); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ = 173,17; 35,50; 24,01.

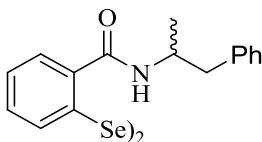
5.2.3 Procedimento geral para a preparação dos disselenetos 100a-b e 101a-d e dissulfetos 117a-b derivados de anfetaminas

O procedimento descrito na literatura foi ligeiramente modificado.¹⁹⁵ Em um balão de duas bocas, sob atmosfera de argônio, foram adicionados o disseleneto ou dissulfeto contendo a função ácido carboxílico correspondente (1 mmol), a amina (1,1 mmol), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,2 mmol) e diclorometano seco (5 mL). Essa solução resultante foi resfriada a 0 °C, e, então, foram adicionados

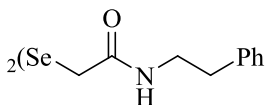
triethylamina (1,1 mmol) e carbodiimida de etil-3-dimetilaminopropil (EDC) (1,1 mmol). A mistura reacional foi agitada durante o período de 24 horas e, passado este tempo, dilui-se com CH_2Cl_2 e a fase orgânica foi lavada com HCl 0,5 M (3 x 20 mL), solução de NaOH 1 % (3 x 20 mL) e solução de NaCl saturada. Adicionou-se MgSO_4 e evaporou-se. O produto foi purificado através de coluna cromatográfica, utilizando sílica flash.



(100a) Rendimento: 61%; sólido branco. P.F: 199-200 °C; 25:75 acetato de etila:hexano; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 7,87 (d, J = 8 Hz, 2H); 7,38-7,13 (m, 16H); 6,23 (t, J = 6 Hz, 2H); 3,76 (q, J = 6 Hz, 4H); 2,98 (t, J = 8 Hz, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz) δ = 168,16; 138,73; 133,10; 131,73; 128,87; 128,78; 126,69; 126,46; 126,08; 41,32; 35,62. HRMS (ESI) m/z calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2\text{Se}_2$ $[\text{M}]^+$ 609,0560; encontrado 609,0561.

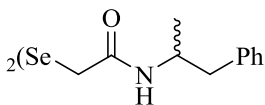


(100b) Rendimento: 55%; sólido branco. P.F: 200-201 °C; 15:85 acetato de etila:hexano; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,87 (d, J = 8 Hz, 2H); 7,35-7,17 (m, 16H); 5,99 (d, J = 4 Hz, 2H); 4,55-4,48 (m, 2H); 2,99 (dd, J^2 = 12 Hz, J^3 = 8 Hz, 2H); 2,91 (dd, J^2 = 12 Hz, J^3 = 4 Hz, 2H); 1,27 (d, J = 8 Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 167,47; 137,59; 131,66; 129,58; 128,48; 126,61; 126,38; 126,02; 46,76; 42,25; 19,95. HRMS (ESI) m/z calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2\text{Se}_2$ $[\text{M}]^+$ 637,0873; encontrado 637,0879.

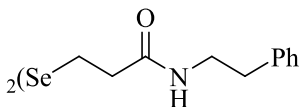


(101a) Rendimento: 96%; sólido amarelo. P.F: 93-94 °C; 35:65 acetato de etila:hexano; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,30-7,27 (m, 4H); 7,21-7,19 (m, 6H); 7,00 (t, J = 4 Hz, 2H); 3,58-3,46 (m, 8H); 2,87-2,79 (m, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 170,09;

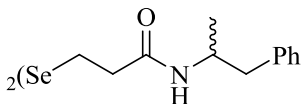
138,66; 128,68; 128,49; 126,42; 41,18; 35,46; 31,66. HRMS (ESI) m/z calculado para $C_{20}H_{24}N_2O_2Se_2 [M]^+$ 485,0245; encontrado 485,0249.



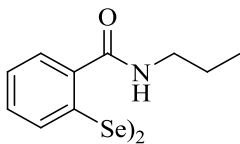
(101b) Rendimento: 79%; Líquido viscoso amarelo escuro. 30:70 acetato de etila:hexano; 1H NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) $\delta = 7,28-7,19$ (m, 10H); 6,82 (d, $J = 6$ Hz, 2H); 4,30-4,17 (m, 2H); 3,53-3,52 (m, 2H); 2,98-2,97 (m, 2H); 2,94-2,61 (m, 4H); 1,17 (d, $J = 8$ Hz, 6H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) $\delta = 169,42$; 138,12; 129,28; 128,28; 126,33; 47,20; 42,50; 31,86; 20,08. HRMS (ESI) m/z calculado para $C_{22}H_{28}N_2O_2Se_2 [M]^+$ 513,0558; encontrado 513,0558.



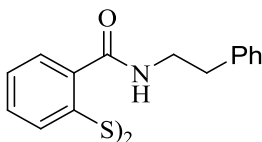
(101c) Rendimento: 96%; Líquido viscoso amarelo escuro. P.F: 114-115 °C; 40:60 acetato de etila:hexano; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) $\delta = 7,32-7,19$ (m, 10H); 6,06 (sl, 2H); 3,52 (q, $J = 8$ Hz, 4H); 3,10 (t, $J = 8$ Hz, 4H); 2,83 (t, $J = 8$ Hz, 4H); 2,59 (t, $J = 8$ Hz, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) $\delta = 171,32$; 138,74; 128,73; 128,60; 126,49; 40,72; 37,37; 35,58; 24,38. HRMS (ESI) m/z calculado para $C_{22}H_{28}N_2O_2Se_2 [M]^+$ 513,0565; encontrado 513,0558.



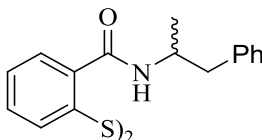
(101d) Rendimento: 83%; sólido amarelo claro. P.F: 94-95 °C; 30:70 acetato de etila:hexano; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) $\delta = 7,30-7,17$ (m, 10H); 6,03 (d, $J = 8$ Hz, 2H); 4,32-4,21 (m, 2H); 3,09 (t, $J = 8$ Hz, 4H); 2,86 (dd, $J^2 = 12$ Hz, $J^3 = 4$ Hz, 2H); 2,71 (dd, $J^2 = 12$ Hz, $J^3 = 4$ Hz, 2H); 2,59-2,56 (m, 4H); 1,13 (d, $J = 8$ Hz, 6H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) $\delta = 170,57$; 137,94; 129,34; 128,32; 126,37; 46,30; 42,40; 37,43; 24,47; 19,97. HRMS (ESI) m/z calculado para $C_{24}H_{32}N_2O_2Se_2 [M]^+$ 541,0871; encontrado 541,0885.



(116h) Rendimento: 40%; sólido branco; 2:98 acetato de etila:diclorometano; Dados obtidos de acordo com a literatura.⁴⁹



(117a) Rendimento: 60%; sólido amarelo; CH_2Cl_2 ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 8,02 (d, J = 8 Hz, 1H); 7,59-7,55 (m, 1H); 7,50-7,48 (m, 1H); 7,39-7,35 (m, 1H); 7,31-7,21 (m, 5H); 4,12 (t, J = 8 Hz, 2H); 3,06 (t, J = 8 Hz, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 165,13; 140,09; 137,62; 131,61; 128,75; 128,53; 126,66; 126,48; 125,31; 124,42; 120,21; 45,22; 35,52. HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NOS}$ $[\text{M}+2\text{H}]^+$ 256,0791; encontrado 256,0790.

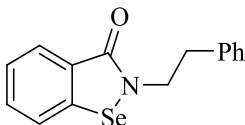


(117b) Rendimento: 84%; sólido amarelo; CH_2Cl_2 ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 8,00 (d, J = 8 Hz, 1H); 7,59-7,52 (m, 2H); 7,41-7,33 (m, 1H); 7,27-7,18 (m, 5H); 5,20-5,02 (m, 1H); 3,12 (dd, J^2 = 14 Hz, J^3 = 8 Hz, 1H); 2,93 (dd, J^2 = 14 Hz, J^3 = 8 Hz, 1H); 1,41 (d, J = 8 Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 50 MHz) δ = 164,90; 139,92; 137,33; 131,38; 128,95; 128,31; 126,51; 126,33; 125,17; 120,25; 51,07; 42,35; 19,68. HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NOS}$ $[\text{M}+2\text{H}]^+$ 270,0947, encontrado 256,0948.

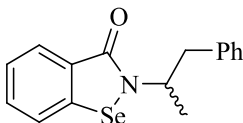
5.2.4 Procedimento geral para a preparação das benziossalenzol-3(2H)-onas e benziossalenzol-3(2H)-onas *N*-substituídas (ebselen, 114a-j e 115a-b)

Em um balão de uma boca, foram adicionados o disseleneto ou dissulfeto correspondente (0,0315 mmol), CH_2Cl_2 (0,5 mL) e iodo molecular (0,0315 mmol). A mistura foi agitada, pelo período de 5 minutos e, então, adicionou-se a trietilamina (0,063 mmol). Depois de

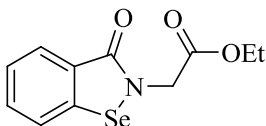
10 minutos de reação, diluiu-se com quantidade mínima de diclorometano e lavou-se a fase orgânica com água. Adicionou-se MgSO_4 e evaporou-se o solvente. O produto foi purificado por filtração em um funil contendo uma pequena quantidade de sílica gel e lavado com CH_2Cl_2 .



(114a) Rendimento: >99 %; Líquido viscoso incolor; 15:85 acetato de etila:hexano; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 8,04 (d, J = 8 Hz, 1H); 7,59-7,20 (m, 8H); 4,11 (t, J = 6 Hz, 2H); 3,04 (t, J = 8 Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz) δ = 167,16; 131,90; 129,94; 128,75; 128,61; 127,16; 126,72; 126,12; 123,89; 46,19; 36,38. HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NOSe}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 304,0236; encontrado 304,0235.

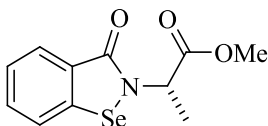


(114b) Rendimento: 90 %; sólido amarelo; 15:85 acetato de etila:éter de petróleo; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ = 8,05 (d, J = 2 Hz, 1H); 7,66-7,27 (m, 8H); 5,11-5,00 (m, 1H); 6,23 (t, J = 6 Hz, 2H); 3,13 (dd, J^2 = 14 Hz, J^3 = 6 Hz, 1H); 2,93 (dd, J^2 = 14 Hz, J^3 = 8 Hz, 1H); 1,39 (d, j = 6 Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 50 MHz) δ = 166,80; 137,59; 131,72; 129,22; 128,64; 128,43; 128,622; 126,58; 126,10; 123,88; 51,60; 43,54; 20,97. ^{77}Se NMR (CDCl_3 , 76,5 MHz) δ = 835 ppm. HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NOSe}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 318,03921; encontrado 318,03925.

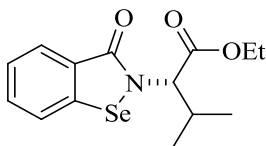


(114c) Rendimento: >99 %; sólido branco; 15:85 acetato de etila:éter de petróleo; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 8,05 (d, J = 8 Hz, 1H); 7,69-7,59 (m, 2H); 7,41-7,45 (m, 1H); 4,61 (s, 2H); 4,26 (q, J = 8 Hz, 2H); 1,31 (t, J = 8 Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 168,59; 167,74; 132,29; 128,82; 126,11; 125,96; 123,94; 61,77; 45,50; 14,06. ^{77}Se NMR (CDCl_3 , 76,5 MHz) δ = 935 ppm.

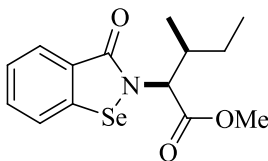
HRMS (APPI) m/z calculado para $C_{11}H_{11}NO_3Se$ $[M+H]^+$ 285,9977; encontrado 285,9979.



(114d) Rendimento: 80 %; sólido amarelo; 15:85 acetato de etila:éter de petróleo; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ = 8,03-7,98 (m, 1H); 7,60-7,51 (m, 2H); 7,37-7,33 (m, 1H); 5,35 (q, J = 12 Hz, 1H); 3,71 (s, 3H); 1,52 (d, J = 8 Hz, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ = 172,22; 167,44; 139,12; 132,16; 128,73; 126,86; 126,11; 123,78; 52,68; 57,75; 18,67. ^{77}Se NMR ($CDCl_3$, 76,5 MHz) δ = 885 ppm. HRMS (APPI) m/z calculado para $C_{11}H_{11}NO_3Se$ $[M+H]^+$ 285,9977; encontrado 285,9978.

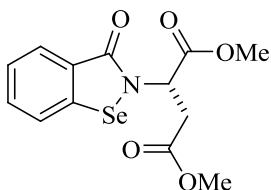


(114e) Rendimento: 80 %; sólido amarelo escuro; 15:85 acetato de etila:éter de petróleo; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ = 7,99 (d, J = 8 Hz, 2H); 7,60-7,50 (m, 2H); 7,36-7,32 (m, 1H); 5,06 (d, J = 12 Hz, 1H); 4,25-4,10 (m, 2H); 2,21-2,12 (m, 1H); 1,24 (t, J = 4 Hz, 3H); 0,98 (d, J = 8 Hz, 3H); 0,86 (d, J = 4 Hz, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ = 171,28; 139,38; 132,11; 128,86; 126,57; 125,98; 123,61; 61,58; 61,53; 32,82; 19,04. ^{77}Se NMR ($CDCl_3$, 76,5 MHz) δ = 898 ppm. HRMS (APPI) m/z calculado para $C_{14}H_{17}NO_3Se$ $[M+H]^+$ 328,0452; encontrado 328,0446.

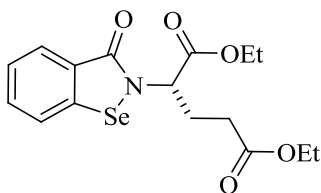


(114f) Rendimento: >99 %; Líquido viscoso amarelo; filtração em sílica com CH_2Cl_2 ; 1H NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) δ = 7,89 (d, J = 6 Hz, 1H); 7,51-7,42 (m, 2H); 7,28-7,11 (m, 1H); 5,05 (d, J = 10 Hz, 1H); 3,61 (s, 3H); 1,88-1,83 (m, 1H); 1,23-0,99 (m, 2H); 0,72 (t, J = 8 Hz, 3H); 0,83 (d, J = 8 Hz, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 50 MHz) δ = 171,71; 167,50; 139,26; 132,09; 128,79; 126,51; 125,96; 123,64; 60,10; 52,17; 38,54; 24,99; 15,22; 10,65. ^{77}Se NMR ($CDCl_3$,

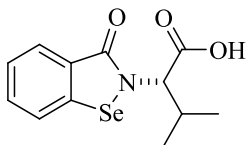
76,5 MHz) $\delta = 898$ ppm. HRMS (APPI) m/z calculado para $C_{14}H_{17}NO_3Se$ $[M+H]^+$ 328,0447; encontrado 328,0448.



(114g) Rendimento: >99 %; sólido amarelo; filtração em sílica com CH_2Cl_2 ; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) $\delta = 7,98$ (d, $J = 8$ Hz, 1H); 7,59-7,51 (m, 2H); 7,34 (t, $J = 8$ Hz, 1H); 5,55 (t, $J = 8$ Hz, 2H); 3,71 (s, 3H); 3,64 (s, 3H); 3,04-3,01 (m, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) $\delta = 170,64$; 170,12; 167,45; 139,31; 132,37; 128,78; 126,12; 126,06; 123,76; 52,94; 52,62; 52,24; 36,66. ^{77}Se NMR ($CDCl_3$, 76,5 MHz) $\delta = 920$ ppm. HRMS (APPI) m/z calculado para $C_{13}H_{13}N_2O_5Se_2$ $[M+H]^+$ 344,0032; encontrado 344,0037.

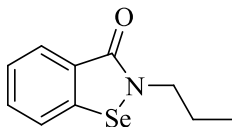


(114h) Rendimento: >99 %; Líquido viscoso amarelo claro; filtração em sílica com CH_2Cl_2 ; 1H NMR ($CDCl_3$, 200 MHz) $\delta = 7,88$ (d, $J = 8$ Hz, 1H); 7,49-7,28 (m, 2H); 7,24-7,11 (m, 1H); 5,27-5,20 (m, 1H); 4,11-3,87 (m, 4H); 2,31-1,90 (m, 4H); 1,15-1,00 (m, 6H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) $\delta = 172,02$; 170,71; 167,71; 139,22; 132,20; 128,75; 126,44; 126,05; 123,80; 61,88; 60,01; 55,05; 30,38; 28,17; 14,03. ^{77}Se NMR ($CDCl_3$, 76,5 MHz) $\delta = 894$ ppm. HRMS (APPI) m/z calculado para $C_{16}H_{19}NO_5Se$ $[M+H]^+$ 386,0502; encontrado 386,0505.

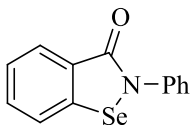


(114i) Rendimento: 79 %; sólido branco; 15:85 MeOH: CH_2Cl_2 ; 1H NMR ($DMSO-d_6$, 400 MHz) $\delta = 7,97$ (d, $J = 8$ Hz, 1H); 7,78 (d, $J = 8$ Hz, 1H); 7,52-7,31 (m, 2H); 4,44 (d, $J = 8$ Hz, 1H); 2,07 (m, 1H); 0,94 (d, $J = 4$ Hz, 3H); 0,78 (d, $J = 8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR

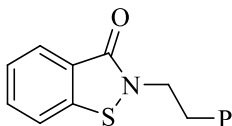
(DMSO-d₆, 100 MHz) δ = 173,18, 166,77; 143,60; 130,90; 128,96; 127,06; 125,98; 125,10; 65,26; 33,11; 20,11; 19,69. HRMS (APPI) m/z calculado para C₁₂H₁₃NO₃Se [M+H]⁺ 300,0134; encontrado 300,0138.



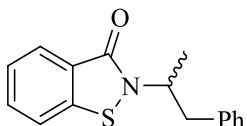
(114j)⁴⁹ Rendimento: 60 %; sólido branco; 15:85 acetato de etila:hexano; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ = 8,05 (d, *J* = 4 Hz, 1H); 7,64-7,56 (m, 2H); 7,44-7,41 (m, 1H); 3,83 (t, *J* = 4 Hz, 2H); 1,81-1,72 (m, 2H); 1,00 (t, *J* = 4 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ = 167,16; 137,61; 131,82; 128,81; 127,59; 126,14; 123,90; 46,41; 23,87; 11,14.



(Ebselen)¹³⁴ Rendimento: 68 %; sólido branco; 20:80 acetato de etila:hexano; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ = 8,05 (d, *J* = 8 Hz, 1H); 7,62-7,54 (m, 4H); 7,46-7,32 (m, 3H); 7,24-7,17 (m, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 50 MHz) δ = 162,30; 139,11; 137,62; 132,51; 129,38; 129,30; 127,56; 127,72; 126,52; 125,40; 123,72.



(115a) Rendimento: >99 %; Líquido viscoso incolor; filtração em sílica com CH₂Cl₂; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ = 8,02 (d, *J* = 8 Hz, 1H); 7,59-7,55 (m, 1H); 7,59-7,55 (m, 1H); 7,51-7,49 (m, 1H); 7,39-7,36 (m, 1H); 7,31-7,21 (m, 1H); 4,12 (t, *J* = 8 Hz, 2H); 3,06 (t, *J* = 8 Hz, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ = 165,17; 140,11; 137,64; 131,63; 128,77; 128,55; 126,68; 126,51; 125,33; 124,43; 120,22; 42,25; 35,50. HRMS (APPI) m/z calculado para C₁₅H₁₃NOS [M+H]⁺ 256,0791; encontrado 256,0792.



(115b) Rendimento: >99 %; Líquido viscoso amarelo; filtração em sílica com CH_2Cl_2 ; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ = 7,99 (d, J = 8 Hz, 1H); 7,58-7,52 (m, 2H); 7,38-7,34 (m, 1H); 7,27-7,17 (m, 5H); 5,15-5,06 (m, 1H); 3,1 (dd, J^2 = 16 Hz, J^3 = 8 Hz, 1H); 2,93 (dd, J^2 = 12 Hz, J^3 = 8 Hz, 1H); 1,40 (d, J = 8 Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ = 164,98; 139,98; 137,40; 131,46; 129,03; 128,39; 126,58; 126,44; 125,26; 125,18; 120,30; 51,14; 42,44; 19,78. HRMS (APPI) m/z calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NOS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 270,0947; encontrado 270,0951.

5.3 Avaliação antioxidante

5.3.1 Procedimento geral para avaliação da atividade dos compostos sintetizados como miméticos da enzima glutathiona peroxidase

A atividade catalítica como miméticos da enzima GPx dos compostos sintetizados foi executada de acordo com o método de Tomoda.¹⁴⁴ Em cubeta de quartzo, adicionou-se o catalisador de selênio (concentração final = 0,1 mM para dos disselenetos derivados de anfetaminas e 0,01 mM para os derivados do ebselen), tiofenol (concentração final = 2 mM para dos disselenetos derivados de anfetaminas e 5 mM para os derivados do ebselen) e MeOH (1 mL) a 25 (\pm 3) °C. Programou-se o espectrofotômetro para promover a leitura da absorbância de luz UV no comprimento de onda de 305 nm a cada 10 segundos. Após 120 segundos do início do experimento adicionou-se na cubeta peróxido de hidrogênio (concentração final = 5 mM ou 10 mM) e monitorou-se a reação por mais 150 segundos aproximadamente. Cada análise foi feita em triplicata.

5.3.2 Procedimento geral para avaliação da atividade dos compostos sintetizados como inibidores da peroxidação lipídica

TBARS foi quantificada pelo método de Ohkawa e colaboradores.⁸⁰ de acordo com as modificações propostas por Puntel e colaboradores.¹⁹⁶ Homogenatos de cérebro (1/5, g/v) foram preparados em tampão de 10 mmol/L de Tris, pH 7,4 e centrifugados por 10 minutos a 3600 rpm. O sobrenadante (S1) foi usado como fonte de

lipídios neste ensaio. Uma alíquota de 20 μL de S1 foi incubada por 60 minutos a uma temperatura de 37 $^{\circ}\text{C}$, juntamente com uma solução de Fe_2SO_4 (concentração final de 10 μM em um volume final de 30 μL) em tampão de 10 mmol/L de Tris (pH 7,4), na presença ou não dos compostos de selênio. Passado este período, adicionou-se 40 μL de 8,1% de dodecil sulfato de sódio (SDS), 100 μL de uma solução tamponada de ácido acético (pH 3,4) e 100 μL de 0.8% de ácido tiobarbitúrico (TBA). A mistura foi incubada por 1 hora a 100 $^{\circ}\text{C}$. As amostras foram centrifugadas em 6000 rpm por 3 minutos e a cor desenvolvida foi medida em 200 μL do sobrenadante, utilizando placas de Elisa e as leituras efetuadas no UV-vis em no comprimento de onda de 532 nm. Os níveis de TBARS foram expressos em nmol de MDA/g de tecido *versus* uma curva padrão de MDA.

5.3.3 Procedimento geral para avaliação da atividade dos compostos sintetizados como substratos da enzima tioredoxina redutase

Purificou-se a TrxR de fígado de ratos de acordo com Hill e colaboradores.¹⁹⁷ Determinou-se a atividade de acordo com Zhao e Holmgren.¹⁰⁴ A atividade dos compostos de selênio testados foi investigada em um tampão contendo 30 mM de Tris-HCl, 1,2 mM de EDTA, pH 7,4, 100 μL de TrxR parcialmente purificada e 120 μM de NADPH.

5.4 Procedimento geral para os estudos de ressonância magnética nuclear de selênio

Em um tubo de NMR adicionou-se o composto de selênio (0,0315 mmols), 0,5 mL de CDCl_3 e, em seguida:

*Para as análises com bromo, adicionou-se 0,031 mL de uma solução 1M de Br_2 em CCl_4 .

*Para as análises com cloro, adicionou-se SO_2Cl_2 (0,0315mmol).

*Para as análises com iodo, adicionou-se iodo molecular (0,0315 mmol).

Depois de misturar, fez-se as leituras dos espectros.

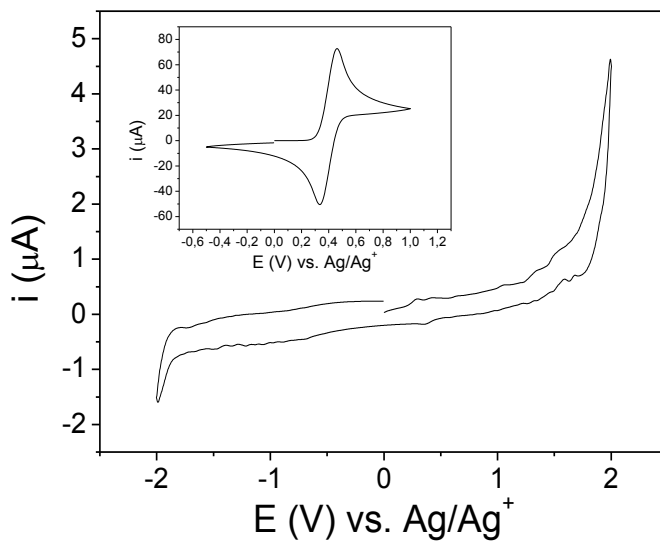
5.5 Procedimento geral para os estudos da reação de oxidação do ditioneitol

Em um balão de 10 mL, adiciona-se o composto de selênio (3×10^{-3} mmol) em 2 mL de CH_2Cl_2 . 0,1 mL desta solução foi adicionada no tubo de NMR, em seguida, evapora-se o CH_2Cl_2 e adiciona-se 0,6 mL de D_2O . Antes de iniciarem as leituras, adiciona-se H_2O_2 (0,15 mmol). No tempo zero, adiciona-se o DTT (0,15 mmol) e iniciam-se as leituras.

5.6 Procedimento geral para os estudos de voltametria cíclica

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um Potenciostato/Galvanostato Autolab PGSTAT128N, conectado a um computador (contendo o *software* de processamento de dados NOVA, versão 1.10) com um sistema de três eletrodos numa solução desoxigenada (sob atmosfera de N_2) de acetonitrila contendo hexafluorofosfato tetra-n-butilamônio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Um eletrodo de carbono vítreo foi utilizado como um eletrodo de trabalho, uma placa de platina foi usada como contra-eletrodo, e um eletrodo Ag/Ag^+ ($0,01 \text{ M AgNO}_3$ em acetonitrila) foi utilizado como o eletrodo de referência. As curvas de CV foram calibradas usando o par redox ferroceno/ferrocênio (Fc/Fc^+) como um padrão externo ($E^{0'} = 0,40 \text{ V vs. Ag}/\text{Ag}^+$) (Figura 45). A Figura 45 apresenta o voltamograma cíclico apenas do eletrólito empregado nas medidas, mostrando que nenhum processo voltamétrico foi observado para a solução de acetonitrila contendo hexafluorofosfato de tetra-nbutilamônio, na faixa de potencial investigada (-2 V a 2 V).

Figura 45. Voltamograma cíclico em acetonitrila contendo hexafluorofosfato de tetra-nbutilamônio (0,1 M) com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . Inserido: Voltamograma cíclico do ferroceno.



“Research is what I'm doing when I don't know what I'm doing.”

(Wernher von Braun)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COMASSETO, J. V. *Selenium and tellurium chemistry: Historical background.* **J. Braz. Chem. Soc.**, v.21, p.2027-2031, 2010.
2. TURNER, D. C.; STADTMAN, T. C. *Purification of Protein Components of Clostridial Glycine Reductase System and Characterization of Protein a as a Selenoprotein.* **Arch. Biochem. Biophys.**, v.154, p.366-381, 1973.
3. FORSTROM, J.W. ; ZAKOWSKI J.J. ; TAPPEL, A.L. *Identification of Catalytic Site of Rat-Liver Glutathione Peroxidase as Selenocysteine.* **Biochemistry**, v.17, p.2639-2644, 1978.
4. FLOHE, L. et al. *Glutathione Peroxidase - Selenoenzyme.* **Febs Letters**, v.32, p.132-134, 1973.
5. KLAYMAN, D. L. ; GÜNTER, H. H. **Organoselenium Compounds: Their Chemistry and Biology.** New York: Wiley, 1973.
6. ROTRUCK, J. T. et al. *Selenium - Biochemical Role as a Component of Glutathione Peroxidase.* **Science**, v.179, p.588-590, 1973.
7. SHAMBERGER, R.J. **Biochemistry of Selenium.** New York: Plenum Press, 1983.
8. FLOHE, L. et al. *Selenium, the element of the moon, in life on earth.* **Iubmb Life**, v.49, p.411, 2000.
9. STADTMAN, T. C. ; DAVIS, J. N. *Glycine Reductase Protein-C - Properties and Characterization of Its Role in the Reductive Cleavage of Se-Carboxymethyl-Selenoprotein-A.* **J. Biol. Chem.**, v.266, p.22147-22153, 1991.
10. FLEMER, S. *Selenol Protecting Groups in Organic Chemistry: Special Emphasis on Selenocysteine Se-Protection in Solid Phase Peptide Synthesis.* **Molecules**, v.16, p.3232-3251, 2011.
11. HUGET, J. L. *Oxidation of olefins catalyzed by selenium.* **Adv. Chem. Ser.** v.76, p.345-351, 1967.
12. AUST, S. D. ; SVIGEN, B. A. **Free Radicals in Biology.** New York: Academic Press, 1982.

13. ALBERTO, E. E. ; NASCIMENTO, V. ; BRAGA, A. L. *Catalytic Application of Selenium and Tellurium Compounds as Glutathione Peroxidase Enzyme Mimetics*. **J. Braz. Chem. Soc**, v.21, p.2032-2041, 2010.
14. LAQUERRE, M. ; LECOMTE J. ; VILLENEUVE P. *Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges*. **Progress in Lipid Research**, v.46, p.244-282, 2007.
15. Ursini, F.P.R. **Oxidative Processes and Antioxidants**. New York: Raven Press. 1994.
16. LUO, G. M. et al. *Generation of Selenium-Containing Abzyme by Using Chemical Mutation*. **Biochem. Biophys. Res. Comm.**, v.198, p.1240-1247, 1994.
17. MAIORINO, F. M. et al. *Diversity of glutathione peroxidases*. **Methods in Enzymology**, v.252, p.38-48, 1995.
18. BÖCK, A. **Encyclopedia of Inorganic Chemistry: Selenium Proteins Containing Selenocysteine**, John Wiley & Sons: Chichester, 1994.
19. LUO, G.M. et al. *Towards more efficient glutathione peroxidase mimics: Substrate recognition and catalytic group assembly*. **Curr. Med. Chem.**, v.10, p.1151-1183, 2003.
20. WENDEL, A. et al. *A Novel Biologically-Active Organoselenium Compound – II. Activity of Pz-51 in Relation to Glutathione-Peroxidase*. **Biochem. Pharm.**, v.33, p.3241-3245, 1984.
21. SCHEWE, T. *Molecular actions of ebselen--an antiinflammatory antioxidant*. **Gen. Pharmacol.**, v.26, p.1153-1169, 1996.
22. PARNHAM, M. J. ; KINDT, S. *A Novel Biologically-Active Organoselenium Compound .3. Effects of Pz-51 (Ebselen) on Glutathione-Peroxidase and Secretory Activities of Mouse Macrophages*. **Biochem. Pharm.**, v.33, p.3247-3250, 1984.

23. FONG, M. C. ; SCHIESSER, C. H. *Intramolecular homolytic substitution with amidyl radicals: A free-radical synthesis of ebselen and related analogues.* **J. Org. Chem.**, v.62, p.3103-3108, 1997.
24. ENGMAN, L.; HALLBERG, A. *Expedient synthesis of ebselen and related compounds.* **J. Org. Chem.**. v.54, p.2964-2966, 1989.
25. REICH, H.J. ; JASPERSE, C.P. *Organoselenium Chemistry - Redox Chemistry of Selenocysteine Model Systems.* **J. Am. Chem. Soc.**, v.109, p.5549-5551, 1987.
26. JACQUEMIN, P. V. et al. *Synthesis of 2h-3,4-Dihydro-1,2-Benzoselenazin-3-One and Derivatives - a New Heterocyclic Ring-System.* **Tetrahedron Lett.**, v.33, p.3863-3866, 1992.
27. ZADE, S.S. et al. *Convenient synthesis, characterization and GPx-like catalytic activity of novel ebselen derivatives.* **Euro. J. Org. Chem.**, p.3857-3864, 2004.
28. BHABAK, K.P. ; MUGESH, G. *Synthesis, characterization, and antioxidant activity of some ebselen analogues.* **Chem. Eur. J.**, v.13, p.4594-4601, 2007.
29. PACULA, J. A.; SCIANOWSKI, J.; ALEKSANDRZAK, K. B. *Highly efficient synthesis and antioxidant capacity of N-substituted benzisoseleazol-3(2H)-ones.* **RSC Advances**, v.4, p.48959-48962, 2014.
30. ELSHERBINI, M. et. al. *Synthesis and Antioxidant Activities of Novel Chiral Ebselen Analogues.* **Heteroatom Chemistry**, v.25, p.320-325, 2014.
31. SATHEESHKUMAR, K.; MUGESH, G. *Synthesis and Antioxidant Activity of Peptide-Based Ebselen Analogue.* **Chem. Eur. J.**, v.17, p.4849-4857, 2011.
32. REICH, H.J.; JASPERSE, C.P. *Organoselenium chemistry. Redox chemistry of selenocysteine model systems.* **J. Am. Chem. Soc.** v.109, p.5549-5551, 1987.

33. PARNHAM, M. J. et al. *Structure-activity relationships of a series of anti-inflammatory benzoselenazolones (BISAs)*. **Agents and Actions**, v.27, p.306-308, 1989.
34. PARNHAM, M.; SIES, H. *Ebselen: prospective therapy for cerebral ischaemia*. **Exp. Open. Invest. Drugs**, v.9, p.603-619, 2000.
35. MOHSINE, A.; CHRISTIAENS, L. *Synthesis of Dibenzo[d,f]-1,2-selena and -1,2-thiazepin-3-ones Derivatives, Bis-homo-ebsele*. **Heterocycles**, v.43, p.2567-2593, 1996.
36. BACK, T. G.; DYCK, B. P. *A Novel Camphor-Derived Selenenamide That Acts as a Glutathione Peroxidase Mimetic*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.119, p.2079-2083, 1997.
37. ZADE, S. S. et al. *Convenient Synthesis, Characterization and GPx-Like Catalytic Activity of Novel Ebselen Derivatives*. **Eur. J. Org. Chem.**, v.2004, p.3857-3864, 2004.
38. MESSALI, M. et al. *Synthesis of 4H-benzo[e]-1,2-selanzin-4-one derivatives: a new heterocyclic ring system*. **Tetrahedron Lett.** v.48, p.7448-7451, 2007.
39. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. *Synthesis, Characterization, and Antioxidant Activity of Some Ebselen Analogues*. **Chem. Eur. J.** v.13, p.4594-4601, 2007.
40. SARMA, B. K. ; MUGESH, G. *Antioxidant Activity of the Anti-Inflammatory Compound Ebselen: A Reversible Cyclization Pathway via Selenenic and Seleninic Acid Intermediates*. **Chem. Eur. J.**, v.14, p.10603-10614. 2008.
41. SANTI, C. et al. *Selenium containing compounds from poison to drug candidates: a review on the GPx-like activity*. **Curr. Chem. Bio.**, v.7, p.25-36, 2013.
42. Wilson, S.R., et al. *Development of Synthetic Compounds with Glutathione-Peroxidase Activity*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.111, p.5936-5939. 1989.

43. GALET, V. et al. *Benzoselenazolinone Derivatives Designed to Be Glutathione-Peroxidase Mimetics Feature Inhibition of Cyclooxygenase/5-Lipoxygenase Pathways and Antiinflammatory Activity*. **J. Med. Chem.**, v.37, p.2903-2911, 1994.
44. TRIPATHI, S.K. et al. *o-hydroxymethylphenylchalcogens: Synthesis, intramolecular nonbonded chalcogen center dot center dot center dot OH interactions, and glutathione peroxidase-like activity*. **J. Org. Chem.**, v.70, p.9237-9247, 2005.
45. WIRTH, T. *Glutathione Peroxidase-like Activities of Oxygen-Containing Diselenides*. **Molecules**, v.3, p.164-166, 1998.
46. IWAOKA, M. ; TOMODA, S. *A Model Study on the Effect of an Amino Group on the Antioxidant Activity of Glutathione Peroxidase*, **J. Am. Chem. Soc.**, v.116, p.2557-2561, 1994.
47. SOARES, L.C. et al. *Ephedrine-based diselenide: a promiscuous catalyst suitable to mimic the enzyme glutathione peroxidase (GPx) and to promote enantioselective C-C coupling reactions*. **Org. Biom. Chem.**, v.10, p.6595-6599, 2012.
48. BHABAK, K. P. ; MUGESH, G. *A Simple and Efficient Strategy To Enhance the Antioxidant Activities of Amino-Substituted Glutathione Peroxidase Mimics*. **Chem. Euro. J.**, v.14, p.8640-8651, 2008.
49. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. *Amide-Based Glutathione Peroxidase Mimics: Effect of Secondary and Tertiary Amide Substituents on Antioxidant Activity*. **Chem. Asian J.**, v.4, p.974-983, 2009.
50. BHABAK, K. P. ; MUGESH, G. *Synthesis and Structure–Activity Correlation Studies of Secondary- and Tertiary-Amine-Based Glutathione Peroxidase Mimics*. **Chem. Euro. J.**, v.15, p.9846-9854, 2009.
51. BHABAK, K. P.; MUGESH, G. *Functional mimics of glutathione peroxidase: bioinspired synthetic antioxidants*, **Acc. Chem. Res.**, v.43, p.1408-1419, 2010.

52. ALBERTO, E.E. et al. *Efficient Synthesis of Modular Amino Acid Derivatives Containing Selenium with Pronounced GPx-Like Activity*. **Euro. J. Org. Chem.**, v.2009, p.4211-4214, 2009.
53. SELVAKUMAR, K. et al. *Synthesis, Structure, and Glutathione Peroxidase-Like Activity of Amino Acid Containing Ebselen Analogues and Diaryl Diselenides*. **Chem. Euro. J.**, v.17, p.12741-12755, 2011.
54. WU, Z. P.; HILVERT, D. *Selenosubtilisin as a glutathione peroxidase mimic*. **J. Am. Chem. Soc.** v.112, p.5647-5648, 1992.
55. HOUSE, K. L. et al. *Structural characterization of selenosubtilisin by selenium-77 NMR spectroscopy*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.114, p.8573-8579, 1992.
56. LIU, L. et al. *Functional Mimicry of the Active Site of Glutathione Peroxidase by Glutathione Imprinted Selenium-Containing Protein*. **Biomacromolecules**, v.9, p.363-368, 2008.
57. ENGMAN, L. et al. *Evidence for a common selenolate intermediate in the glutathione peroxidase-like catalysis of α -(phenylselenenyl) ketones and diphenyl diselenide*. **Tetrahedron**, v.50, p.2929-2938, 1994.
58. KUMAR, S. et al. *Regenerable Chain-Breaking 2,3-Dihydrobenzo[b]selenophene-5-ol Antioxidants*. **J. Org. Chem.**, v.72, p.2583-2595, 2007.
59. KUMAR, S. et al. *Antioxidant Profile of Ethoxyquin and Some of Its S, Se, and Te Analogues*. **J. Org. Chem.**, v.72, p.6046-6055, 2007.
60. KUMAKURA, F. et al. *A Water-Soluble Cyclic Selenide with Enhanced Glutathione Peroxidase-Like Catalytic Activities*. **Euro. J. Org. Chem.**, v.2004, p.440-445, 2010.
61. BACK, T. G. ; MOUSSA, Z. *Remarkable Activity of a Novel Cyclic Seleninate Ester as a Glutathione Peroxidase Mimetic and Its Facile in Situ Generation from Allyl 3-Hydroxypropyl Selenide*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.124, p.12104-12105, 2002.

62. BACK, T. G. ; MOUSSA, Z. *Diselenides and Allyl Selenides as Glutathione Peroxidase Mimetics. Remarkable Activity of Cyclic Seleninates Produced in Situ by the Oxidation of Allyl ω -Hydroxyalkyl Selenides.* **J. Am. Chem. Soc.**, v.125, p.13455-13460, 2003.
- 63 PRESS, J. D. et al. *Substituent Effects upon the Catalytic Activity of Aromatic Cyclic Seleninate Esters and Spirodioxyselenuranes That Act as Glutathione Peroxidase Mimetics,* **J. Org. Chem.**, v.73, p.4252-4255, 2008.
64. PRESS, J.D. et al. *Effects of Methoxy Substituents on the Glutathione Peroxidase-like Activity of Cyclic Seleninate Esters.* **J. Org. Chem.**, v.79, p. 9394–9401, 2014.
65. MCNEIL, M.R.N.; MATZ, C. M.; BACK, G.T. *Fluxional Cyclic Seleninate Ester: NMR and Computational Studies, Glutathione Peroxidase-like Behavior, and Unexpected Rearrangement.* **J. Org. Chem.**, v.78, p.10369-10382, 2013.
66. NASCIMENTO, V. et al. *GPx-Like Activity of Selenides and Selenoxides: Experimental Evidence for the Involvement of Hydroxy Perhydroxy Selenane as the Active Species.* **J. Am. Chem. Soc.**, v.134, p.138-141, 2012.
67. CANTO, R. F. S. et. al. *Design, synthesis and evaluation of selenodihydropyrimidinones as potential multi-targeted therapeutics for Alzheimer's disease.* **Org. Biom. Chem.**, v.12, p.3470-3477, 2014.
- 68 TIDEI, C. et al. *Oxidation of thiols promoted by PhSeZnCl.* **Tetrahedron Lett.**, v.53, p.234-234, 2012.
69. HALLIWELL, B.G., GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Rad. Biol. Med.**, 2th ed, New York: Clarendon Press. 1989.
70. HALLIWELL, B. *Biochemistry of oxidative stress.* **Biochemical Society Transactions**, v.35, p.1147-1150, 2007.
71. MOSKOVITZ, J.; YIM, M. B.; CHOCK, P. B. *Free radicals and disease.* **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.397, p.354-359, 2002.

72. JOSEPHY, P. D. **Molecular Toxicology New York**. New York: Oxford University Press. 1997.
73. IVANOV, I. I. *A relay model of lipid peroxidation in biological membranes*. **Free Rad. Bio. Med.**, v.1, p.247-253, 1985.
74. LAGUERRE, M. ; LECOMTE, J. ; VILLENEUVE P. *Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges*. **Progress in Lipid Research**, v.46, p.244-282, 2007.
75. HALLIWELL, B. *Reactive Oxygen Species and the Central-Nervous-System*. **J. Neurochem.**, v.59, p.1609-1623, 1992.
76. SLATER, T.F. *Overview of Methods Used for Detecting Lipid-Peroxidation*. **Methods in Enzymology**, v.105, p.283-293, 1984.
77. BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. *Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo*. **Química Nova**, v.29, p.113-123, 2006.
- 78 AUGUSTO, O. **Radicais livres: Bons, maus e naturais**. Oficina dos textos, 2006.
- 79 LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. *Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas*. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.37, p.293-303, 2001.
80. OHKAWA, H. ; OHISHI N. ; YAGI K. *Assay for Lipid Peroxides in Animal-Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction*. **Analytical Biochemistry**, v.95, p.351-358, 1979.
81. BRAUGHLER, J.M. ; DUNCAN, A.L. ; CHASE, R.L. *The Involvement of Iron in Lipid-Peroxidation - Importance of Ferric to Ferrous Ratios in Initiation*. **J. Bio. Chem.**, v.261, p.282-289, 1986.
82. MINOTTI, G. ; AUST, S. D. *Redox Cycling of Iron and Lipid-Peroxidation*. **Lipids**, v.27, p.219-226, 1992.
- 83 . BARTOLI, G. M. et al. *Antioxidant effect of diethyldithiocarbamate on microsomal lipid peroxidation assessed by*

low-level chemiluminescence and alkane production. **FEBS Lett.** v.164, p.371-374, 1983.

84. MULLER, A. et al. *A Novel Biologically-Active Organoselenium Compound-I. Glutathione Peroxidase-Like Activity Invitro and Antioxidant Capacity of Pz-51 (Ebselen).* **Biochem. Pharm.**, v.33, p.3235-3239, 1984.

85. ROSSATO, J. I. et al. *Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain.* **Neurochem. Res.**, v.27, p.297-303, 2002.

86. MEOTTI, F.C. et al. *Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation.* **Environm. Res.**, v.94, p.276-282, 2004.

87. IBRAHIM, M. et al. *1-(2-(2-(2-(1-Aminoethyl)phenyl)diselanyl)phenyl)ethanamine: An amino organoselenium compound with interesting antioxidant profile.* **Toxicology in vitro**, v.28, p.524-530, 2014.

88. GERZSON, M. F. B. et al. *In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of alpha-(phenylselanyl) acetophenone in mice.* **Pharm. Biochem. Behav.**, v.102, p.21-29, 2012.

89 CASARIL, A. M. et al. *Selenopeptídeos: Avaliação da atividade antioxidante frente a peroxidação lipídica in vitro.* **IV Encontro sobre selênio e telúrio.** Torres-RS-Brasil 2012.

90. ARNER, E.S.J. *Focus on mammalian thioredoxin reductases - Important selenoproteins with versatile functions.* **BBA-General Subjects**, v.1790, p.495-526, 2009.

91. ARNER, E.S.J. ; HOLMGREN, A. *Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase.* **Euro. J. Biochem.**, v.267, p.6102-6109, 2000.

92. HOLMGREN, A. *Thioredoxin.* **Annual Review of Biochemistry**, v.54, p.237-271, 1985.

93. HOLMGREN, A. Thioredoxin and Glutaredoxin Systems. **J. *Biolog. Chem.***, v.264, p.13963-13966, 1989.
94. ARNER, E.S. ; ZHONG, L. ; HOLMGREN, A. *Preparation and assay of mammalian thioredoxin and thioredoxin reductase. Oxidants and Antioxidants, Pt B*, v.300, p.226-239, 1999.
95. CAPACHO, A. S. C. **Avaliação in silico da tioredoxina redutase como alvo para terapia anti-tumoral**. 2012. 100f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica Biomédica-Aplicações em Diagnóstico e Terapia)-Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2012.
96. NOGUEIRA, C.W. ; ZENI, G. ; ROCHA, J.B. *Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. Chem. Rev.*, v.104, p.6255-6285, 2004.
97. NOGUEIRA, C.W. ; ROCHA, J.B.T. *Toxicology and pharmacology of selenium: emphasis on synthetic organoselenium compounds. Archives of Toxicology*, v.85, p.1313-1359, 2011.
98. MUSTACICH, D. ; POWIS, G. *Thioredoxin reductase. Biochem. J.*, v.346, p.1-8, 2000
99. BJORNSTEDT, M. et al. *Human thioredoxin reductase directly reduces lipid hydroperoxides by NADPH and selenocystine strongly stimulates the reaction via catalytically generated selenols. J. Biol. Chem.* , v.270, p.11761-11764, 1995.
100. ALMONDES S.G.K. et al. *O papel das selenoproteínas no cancer. Rev Assoc Med Bras*, v.56, p.484-488, 2010.
101. LU, J. ; HOLMGREN, A. *Selenoproteins. J. Biol. Chem.*, v.284, p.723-727, 2009.
- 102 . RUBARTELLI, A. et al. *Secretion of thioredoxin by normal and neoplastic cells through a leaderless secretory pathway. J. Biol. Chem.* v. 267, p.24161-24164,1992.

103. NORDBERG, J. ; ARNER, E.S.J. *Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system*. **Free Rad. Biol. Med.**, v.31, p.1287-1312, 2001.
104. ZHAO, R. ; HOLMGREN, A. *A novel antioxidant mechanism of ebselen involving ebselen diselenide, a substrate of mammalian thioredoxin and thioredoxin reductase*. **Journal of Biological Chemistry**, v.277, p.39456-39462, 2002.
105. DE FREITAS, A. S., et al. *Reduction of Diphenyl Diselenide and Analogs by Mammalian Thioredoxin Reductase Is Independent of Their Glutathione Peroxidase-Like Activity: A Possible Novel Pathway for Their Antioxidant Activity*. **Molecules**, v.15, p.7699-7714, 2010.
106. PRESTES, A. S. et al. *Antioxidant activity of β -selenoamines and their capacity to mimic different enzymes*. **Mol. Cell. Biochem.**, v.365, p.85-92, 2012.
107. DE FREITAS, A. S.; ROCHA, J. B. T. *Diphenyl diselenide and analogs are substrates of cerebral rat thioredoxin reductase: A pathway for their neuroprotective effects*. **Neurosci. Lett.**, v.503, p.1-5, 2011.
108. VARGAS-BACA, I; CHIVERS, T. *Weakly bonding interactions in organochalcogen chemistry* **Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.** v.164, p.207-227, 2000.
109. MUGESH, G.; SINGH, H. B. *Heteroatom-directed Aromatic Lithiation: A Versatile Route to the Synthesis of Organochalcogen Compounds*. **Acc. Chem. Res.**, v.35, p.226-236, 2002.
110. ALCOCK, N. W. *Secondary Bonding to Nonmetallic Elements*. **Adv. Inorg. Chem. Radiochem.**, v.15, p.1-58, 1972.
111. LANDRUM, G. A.; HOFFMANN, R. *Secondary Bonding between Chalcogens or Pnicogens and Halogens*. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v.37, p.1887-1890, 1998.
112. IWAOKA, M.; TOMODA, S. *Nature of the Intramolecular Se...N Nonbonded Interaction of 2-Selenobenzylamine Derivatives. An Experimental Evaluation by ^1H , ^{77}Se , and ^{15}N NMR Spectroscopy*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.118, p.8070-8084, 1996.

- 113 MUKHERJEE, A. J. et al. *Organoselenium Chemistry: Role of Intramolecular Interactions*. **Chem. Rev.**, v.110, p.4357-4416, 2010.
114. SANTI, C. ; SANTORO, S. Electrophilic Selenium. In: **Organoselenium Chemistry**: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011. Electrophilic Selenium, p.1-51.
115. CHRISTIAENS, L. et al. *Synthesis of Alkylchalcogenobenzenes Ortho-Substituted by Ortho-Lithiation*. **Chemica Scripta**, v.24, p.178-184, 1984.
116. IWAOKA, M. ; TOMODA, S. *Direct Observation of Intramolecular Interaction between a Divalent Selenium and a Tertiary Amine by Means of Single-Crystal X-Ray-Analysis and NMR-Spectroscopy*. **Phosph. Sulfur and Silicon and the Relat. Elem.**, v.67, p.125-130, 1992.
117. IWAOKA, M. ; TOMODA, S. *Nature of the intramolecular Se...N nonbonded interaction of 2-selenobenzylamine derivatives. An experimental evaluation by H-1, Se-77, and N-15 NMR spectroscopy*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.118, p.8077-8084, 1996.
118. MUGESH, G. et al. *Intramolecular Se...N Nonbonding Interactions in Low-Valent Organoselenium Derivatives: A Detailed Study by ¹H and ⁷⁷Se NMR Spectroscopy and X-ray Crystallography*. **J. Chem. Eur. J.** v.5, p.1411-1421, 1999.
119. MUGESH, G.; SINGH, H. B. ; BUTCHER, R. J. *Novel chiral organoselenenyl halides stabilized by Se...N nonbonded interactions: synthesis and structural characterization*. **Tetrahedron:Asymmetry**, v.10, 237-242, 1999.
120. BOURLAND, T. C.; CARTER, R. G.; YOKOCHI, A. F. T. *Vanadium-catalyzed selenide oxidation with in situ [2,3] sigmatropic rearrangement (SOS reaction): scope and asymmetric applications*. **Org. Biomol. Chem.**, v.2, p.1315-, 2004.
121. KANDASAMY, K. et al. *Synthesis, Structural Characterization and Fluorescence Properties of Organoselenium Compounds Bearing a Ligand Containing Both Bulky and Nonbonding Groups – The First*

Observation of Both Intramolecular Se...N and Se...O Interactions in a Diselenide Structure. **Eur. J. Inorg. Chem.**, p.1014-1023, 2004.

122. BAIWIR, M. et al. *Structure cristalline et moléculaire du bromure d'o-formyl phénylsélényle (C₇H₅OSeBr).* **Acta Crystallogr.**, v.B31, n.9, p.2188-2191, 1975.

123. DUPONT, L. et al. *Structure de la nitro-7 phényl-2 2H-benzisoselénazole-1,2 one-3.* **Acta Crystallogr.**,v.C44, p.2159-2161, 1988.

124. FRAGALE, G.; NEUBERGER, M.; WIRTH, T. *New and efficient selenium reagents for stereoselective selenenylation reactions.* **Chem. Commun.**, p.1867-1868, 1998.

125. WIRTH, T.; FRAGALE, G. ; SPICHTY, M. *Mechanistic Course of the Asymmetric Methoxyselenenylation Reaction.* **J. Am. Chem. Soc.** v.120, p.3376-3381, 1998.

126. KOMATSU, H.; IWAOKA, M.; TOMODA, S. *Intramolecular non-bonded interaction between selenium and oxygen as revealed by O-17 and Se-77 NMR spectroscopy and natural bond orbital analysis.* **Chem. Comm.**, p.205-206, 1999.

127. IWAOKA, M., et al. *Nature of nonbonded Se center dot center dot center dot O interactions characterized by O-17 NMR spectroscopy and NBO and AIM analyses.* **J. Am. Chem. Soc.**, v.126, p.5309-5317, 2004.

128. SEHNEM, J. A. Sehnem et al. *Synthesis of new fluorous modular chiral ligand derivatives from amino alcohols and application in enantioselective carbon-carbon bond-forming alkylation reactions.* **Tetrahedron: Asymmetry**, v.21, p.997-1003, 2010.

129. SCIANOWSKI, J.; RAFINSKI, Z. *Electrophilic Selenium Reagents: Addition to Double Bonds and Selenocyclizations*, in **Organoselenium Chemistry: Between Synthesis and Biochemistry**, Bentham Science Publishers: Claudio Santi, 2014, p. 8-60.

130. SANTI, C.; TIDEI, C. *Addition Reactions with Formation of Carbon-Sulfur and Carbon Selenium Bonds*, in **Comprehensive**

Organic Synthesis, Oxford: G. Molander and P. Knochel, 2th ed, 2014. vol. 7, p. 605.

131. NINOMIYA, M.; GARUD, D.; KOKETSU, M. *Biologically significant selenium-containing heterocycles*. **Coord. Chem. Rev.**, v.255, p.2968.

132. BALKRISHNA, S. J. et al. *Isoselenazolones as Catalysts for the Activation of Bromine: Bromolactonization of Alkenoic Acids and Oxidation of Alcohols*. **J. Org. Chem.**, v.77, p.9541-9552, 2012.

133. WELTER, A.; CHRISTIAENS, L.; FERDINAND, W-P. Eur. Pat. Appl. EP 44453, 1982, Chem. Abstr., 1982, 96, 199699v.

134. BALKRISHNA, S. J. et al. *Cu-Catalyzed Efficient Synthetic Methodology for Ebselen and Related Se-N Heterocycles*. **Org. Lett.**, v.12, p.5394-5397, 2010.

135. BALKRISHNA, S. J.; BHAKUNI, B. S.; KUMAR, S. *Copper catalyzed/mediated synthetic methodology for ebselen and related isoselenazolones*. **Tetrahedron**, v.67, p.9565-9575, 2011.

136. BALKRISHNA, S. J. et al. *An ebselen like catalyst with enhanced GPx activity via a selenol intermediate*. **Org. Biomol. Chem.**, v.12, p.1215-1219, 2014.

137. SULZER, D. et al. *Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: A review*. **Progress in Neurobiology**, v.75, p.406-433. 2005.

138. STEPHEN, S. H. **General, Organic, and Biological Chemistry**. 6th ed. Cengage Learning, 2012. 1056 p.

139. MUNOZ, L. et al. *Enzymatic enantiomeric resolution of phenylethylamines structurally related to amphetamine*. **Org. Biomol. Chem.**, v.9, p.8171-8177. 2011.

140. NAKAJIMA, T. et al. *Formation of Beta-Phenylethylamine in Mammalian Tissue + Its Effect on Motor Activity in Mouse*. **J. Pharm. Exp. Therap.**, v.143, p.319-325, 1964.

141. INWANG, E. E. et al. *Isolation and Characterization of Phenylethylamine and Phenylethanolamine from Human Brain*. **J. Neurochem.**, v.20, p.1469-1473. 1973.
142. SABELLI, H. C.; MOSNAIM, A. D. *Phenylethylamine Hypothesis of Affective Behavior*. **Am. J. Psychiatry**, v.131, p.695-699. 1974.
143. TAKEI, T. et al. *Model study using designed selenopeptides on the importance of the catalytic triad for the antioxidative functions of glutathione peroxidase*. **J. Phys. Chem. B.**, v.118, p.492-500, 2014.
144. IWAOKA, M.; TOMODA, S. *A Model Study on the Effect of an Amino Group on the Antioxidant Activity of Glutathione-Peroxidase*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.116, p.2557-2561. 1994.
145. BRAGA, A. L. et al. *Straightforward Synthesis of Non-Natural Selenium Containing Amino Acid Derivatives and Peptides*. **Euro. J. Org. Chem.**, p.4260-4264, 2005.
146. SCCULACIO, S. A. et al. *Selenocysteine incorporation in Kinetoplastid: Selenophosphate synthetase (SELD) from Leishmania major and Trypanosoma brucei*. **Mol. Biochem. Paras.**, v.162, p.165-171, 2008.
147. HASSAN, W. et al. *Enhancement of iron-catalyzed lipid peroxidation by acidosis in brain homogenate: Comparative effect of diphenyl diselenide and ebselen*. **Brain Research**, v.1258, p.71-77.
148. ALBERTO, E. E. et al. *Imidazolium ionic liquids containing selenium: synthesis and antimicrobial activity*. **Org. Bio. Chem.**, v.9, p.1001-1003, 2011.
149. ALBERTO, E. E.; BRAGA, A. L.; DETTY, M. R. *Imidazolium-containing diselenides for catalytic oxidations with hydrogen peroxide and sodium bromide in aqueous solutions*. **Tetrahedron**, v.68, p. 10476-10481, 2012.
150. YANG, X. et al. *A modified method to prepare diselenides by the reaction of selenium with sodium borohydride*, **J. Chem. Res., Synopses**, v.4, p.160-161, 2002.

151. OMURA, K.; SWERN, D. *Oxidation of Alcohols by Activated Dimethyl-Sulfoxide - Preparative, Steric and Mechanistic Study*. **Tetrahedron**, v.34, p.1651-1660, 1978.
152. COLLINS, M. et al. *Delta C-13 and Delta H-2 isotope ratios in amphetamine synthesized from benzaldehyde and nitroethane*, **Rapid Commun. Mass Sp.**, v.24, p.1653-1658, 2010.
153. SALGUEIRO, W. G. et al. *Direct synthesis of 4-Organylsulfenyl-7-Chloro Quinolines and their toxicological and pharmacological activities in Caenorhabditis elegans*. **Eur. J. Med. Chem.**, v.75, p.448-459, 2014.
154. HADJIPAVLOU-LITINA, A. S. D.; UNZETA, MARCO-CONTELLES, J. *Analysis of the antioxidant properties of differently substituted 2- and 3-indolyl carbohydrazides and related derivatives*. **Eur. J. Med. Chem.**, v.63, p.670-674, 2013.
155. TRIPPIER, P. C. et al. *Target- and Mechanism-Based Therapeutics for Neurodegenerative Diseases: Strength in Numbers*. **J. Med. Chem.**, v.56, p.3121-3147, 2013.
156. MUGESH, G. et al. *Glutathione peroxidase-like antioxidant activity of diaryl diselenides: A mechanistic study*. **J. Am. Chem. Soc.**, v.123, p.839-850, 2001.
157. BAYSE, C. A.; BAKER, R. A.; ORTWINE, K. N. *Relative strengths of Se...N,O interactions: Implications for glutathione peroxidase activity*, **Inorg. Chim. Acta**, v.358, p.3849-3854, 2005.
158. HASSAN, W. et al. *Modulation of diorganoyl dichalcogenides reactivity by non-bonded nitrogen interactions*. **Chem-Biol. Interact.**, v.199, p.96-105, 2012.
159. WIRTH, T. et al. *Glutathione peroxidase-like activities of oxygen-containing diselenides*, **Molecules**, v.3, p.164-166, 1998.
160. HODAGE, A. S. et al. *Synthesis, characterization and structures of 2-(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)ethylseleno derivatives and their probable glutathione peroxidase (GPx) like activity*, **Org. Biomol. Chem.**, v.9, p.2992-2998, 2011.

161. KUMAR, S. et al. *Synthesis, reactivity, electrochemical and crystallographic studies of diferrocenoyl diselenide and ferrocenoyl selenides*. **J. Organomet. Chem.**, v.689, p.3046-3055, 2004.
162. TIMBREL, J. A. **Principles of Biochemical Toxicology**, 4th ed., Publisher Informa Healthcare, USA, 2009.
163. HALLIWELL, B. *Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence*. **Lancet**, v.344, p.721-724, 1994.
164. PONG, K. *Oxidative stress in neurodegenerative diseases: therapeutic implications for superoxido dismutase mimetics*. **Exp. Open. Biol. Ther.**, v.3, p.127-139, 2003.
165. GROTTO, D. et al. *Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification*. **Quimica Nova**, v.32, p.169-174, 2009.
167. NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T. *Diphenyl diselenide a janus-faced molecule*. **J. Brazil. Chem. Soc.**, v.21, p.2055-2071, 2010.
167. SAIO, I. et al. *Neuroprotective effect of an antioxidant, ebselen, in patients with delayed neurological deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage*. **Neurosurgery**, v.42, p.269-277, 1998.
168. KADE, I. J.; ROCHA, J. B. T. *Gallic acid modulates cerebral oxidative stress conditions and activities of enzyme-dependent signaling systems in streptozotocin-treated rats*. **Neurochemical Research**, v.38, p.761-771, 2013.
169. MCFARLANE, W.; WOOD, R. J. *Nuclear magnetic double-resonance studies of organo-selenium compounds*. **J. Chem. Soc., Dalton Trans.**, p.1397-1402, 1972.
170. SANTI, C. *et. al.* Dados ainda não publicados.
- 171 BRUSCIOTTI, F.; DUBY, P. *Cyclic voltammetry study of arsenic in acidic solutions*. **Electrochim. Acta**, v.52, p.6644-6649, 2007.

172 SILVA, J. S. **Biossensor amperométrico à base de peroxidase em matriz de bastão de grafite comercial: estudos preliminares.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

173. ZAPP, E. **Sensor bioinspirado modificado com nanopartículas metálicas estabilizadas em surfactante aplica à determinação de polifenóis.** 2012.79f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

174. ANTONY, S.; BAISE, C. *Modeling the Mechanism of the Glutathione Peroxidase Mimic Ebselen.* **Inorg. Chem.**, v.50, p.12075-12084, 2011.

175 KADE, I. J.; BALOGUN, B. D.; ROCHA, J. B. T. *In vitro glutathione peroxidase mimicry of ebselen is linked to its oxidation of critical thiols on key cerebral suphydryl proteins – A novel component of its GPx-mimic antioxidant mechanism emerging from its thiol-modulated toxicology and pharmacology.* **Chemico-Biological Interactions**, v.206, p.27-36, 2013.

176. ARAKI, T.; KITAOKA, H. *The Mechanism of Reaction of Ebselen with Superoxide in Aprotic Solvents as Examined by Cyclic Voltammetry and ESR.* **Chem. Pharm. Bull.**, v.49, p.541-545, 2001.

177. INEL, G. A. et al. *Electrochemical characterization of some azulene selenium compounds.* **U.P.B. Sci. Bull., Series B**, vol.76, 2014.

178.MISHRA, B. et al. *Horseradish peroxidase inhibition and antioxidant activity of ebselen and related organoselenium compounds.* **Bio. Med. Chem. Lett.**, v.16, p.5334-5338, 2006.

179. AZEREDO, J. B. et al. *A Solvent- and Metal-Free Synthesis of 3-Chacogenyl-indoles Employing DMSO/I₂ as an Eco-friendly Catalytic Oxidation System.* **J.Org. Chem.** v. 79, p.4125-4130, 2014.

180. ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. *Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura atividade.* **Quim. Nova**, v. 33, p.694-699, 2010.

- 181 SANTI, C.; TIDEI, C. **Patai's Chemistry of Functional Groups: Electrophilic selenium/tellurium reagents: Reactivity and their contribution to Green Chemistry.** John Wiley & Sons, Ltd. 2013.
182. MUGESH, G.; DU MONT, W. W.; SIES, H. *The Chemistry of Biologically Important Synthetic Organoselenium Compounds.* **Chem. Rev.**, v.101, p.2125-2179, 2001.
183. OTTLIK, M. P. et al. *New Organoselenium Compounds Active against Pathogenic Bacteria, Fungi and Viruses.* **Chem. Pharm. Bull.**, v.56, p.1423-1427, 2008.
184. MŁOCHOWSKI, J. et al. *Synthesis and Properties of 2-Carboxyalkyl-1,2-benziselenazol-3(2H)-ones and Related Organoselenium Compounds as Nitric Oxide Synthase Inhibitors and Cytokine Inducers.* **Liebigs Ann.**, p.1751-1755, 1996.
185. LIU, X. et al. **Chin. Chem. Lett.** v.3, p.161-162, 1992.
186. XIAO, Y. et al. **Yingyong Huaxue** v.3, p.66-69, 1997.
187. WELTER, A. et al. CA. Nattermann und Cie. GmbH, DE-B 3515 274, 1985.
188. NASCIMENTO, V. et al. *Synthesis and biological evaluation of new nitrogen-containing diselenides.* **Euro. J. Med. Chem.**, v.87, p.131-139, 2014.
189. NASCIMENTO, V. et al. *Disselenetos derivados de anfetaminas, compostos obtidos, composição farmacêutica, e, uso dos compostos como miméticos da enzima glutationa peroxidase (GPx).* Solicitação de depósito de Patente, protocolada sob o número 23080.009021/2014-57.
190. WILLIAMS, D. B. G.; LAWTON, M. *Drying of Organic Solvents: Quantitative Evaluation of the Efficiency of Several Desiccants.* **J. Org. Chem.**, v. 75, p. 8351-8354, 2010.
191. PERRIN, D.; ARMAREGO, W. **Purification Of Laboratory Chemicals.** 4th ed. Oxford. 1996.

192. SINGH, D. et al. *Metal-Free Air Oxidation of Thiols in Recyclable Ionic Liquid: A Simple and Efficient Method for the Synthesis of Disulfides*. **Eur. J. Org. Chem.**, p.2661-2665, 2010.

193. SINGH, D. et al. *An Efficient One-Pot Synthesis of Symmetrical Diselenides or Ditellurides from Halides with CuO Nanopowder/Se0 or Te0/Base*. **Org. Lett.**, v.12, p.3288-3291, 2010.

194. RUWET, A.; RENSON, M. *Mise au point d'une synthese du chlorure d'ortho methyleselenobenzoyl. Etude de son comportement vis-a-vis des derives -organocadmiques*, **B. Soc. Chim. Belg.**, v.75, p.157, 1966.

195. MOLLER, N. L. et al. *Novel 5-aminosalicylic acid NSAID Conjugates - synthesis - Pharmacological and toxicological properties*. **Eur. J. Med. Chem.**, v.24 p.463-469, 1989.

196. PUNTEL, R. et al. *Antioxidant properties of Krebs cycle intermediates against malonate pro-oxidant activity in vitro: a comparative study using the colorimetric method and HPLC analysis to determine malondialdehyde in rat brain homogenates*, **Life Sci.**, v.81, p.51-62, 2001.

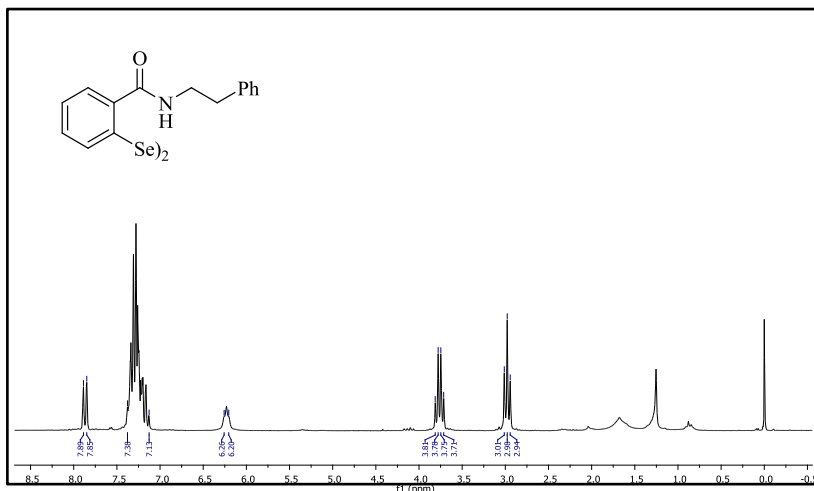
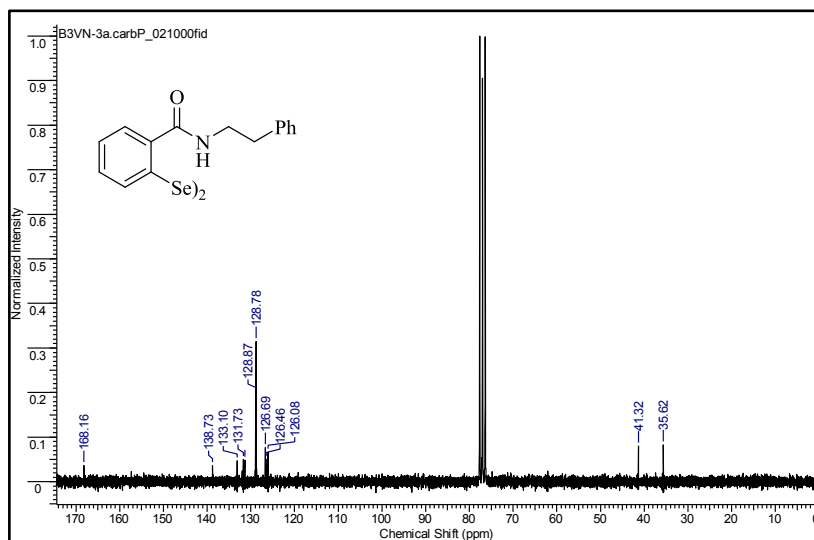
197. HILL, K. E. et al. *Thioredoxin reductase activity is decreased by selenium deficiency*. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.234, p.293-295, 1997.

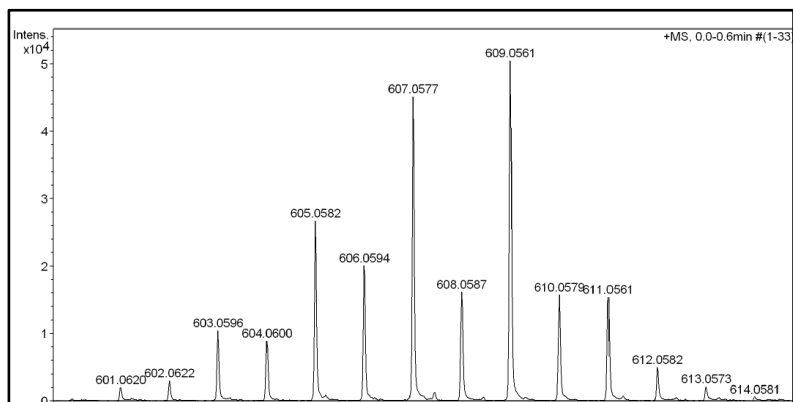
“You might never fail on the scale I did, but some failure in life is inevitable. It is impossible to live without failing at something, unless you live so cautiously that you might as well not have lived at all – in which case, you fail by default.”

(J. K. Rowling)

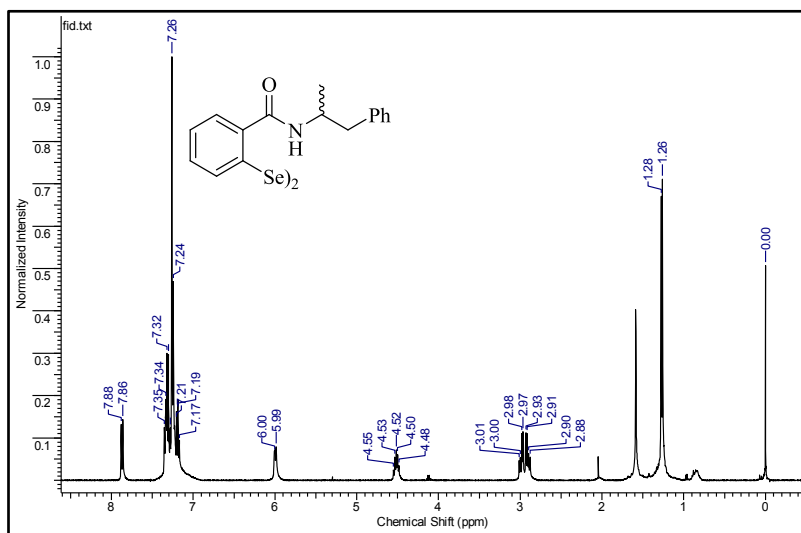
SEÇÃO DE ANEXOS

Espectros selecionados

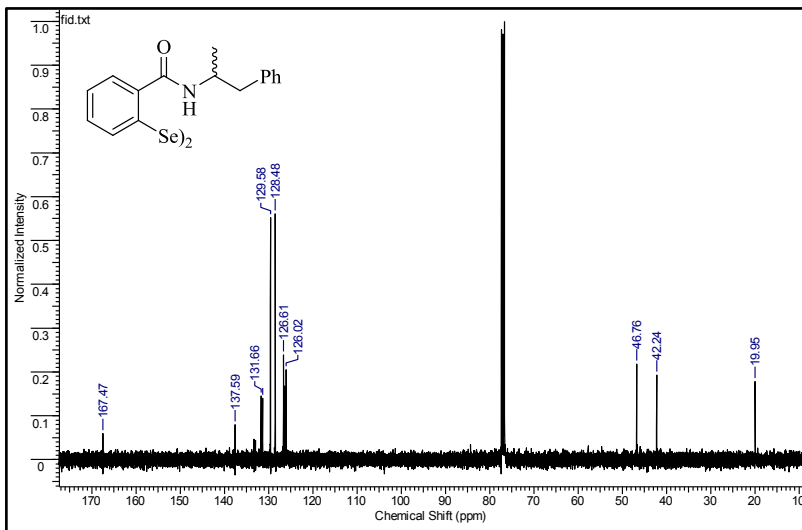
Anexo 1: ^1H NMR de **100a** (200 MHz, CDCl_3)Anexo 2: ^{13}C NMR de **100a** (50 MHz, CDCl_3)



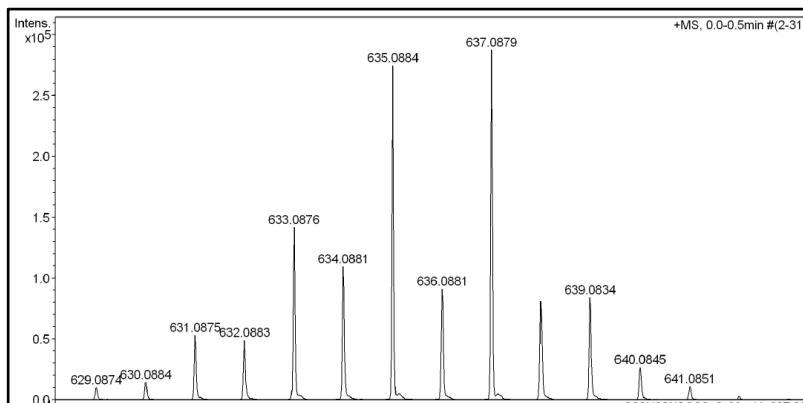
Anexo 3: HRMS (ESI-injeção direta) de **100a**



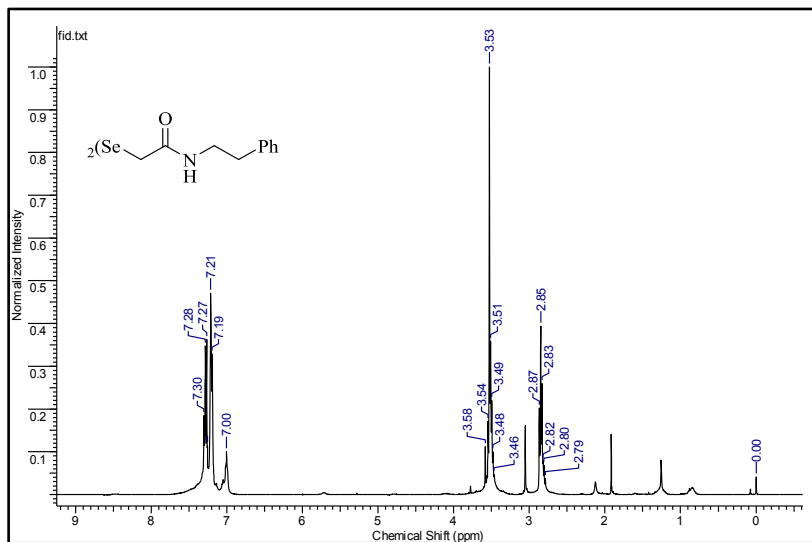
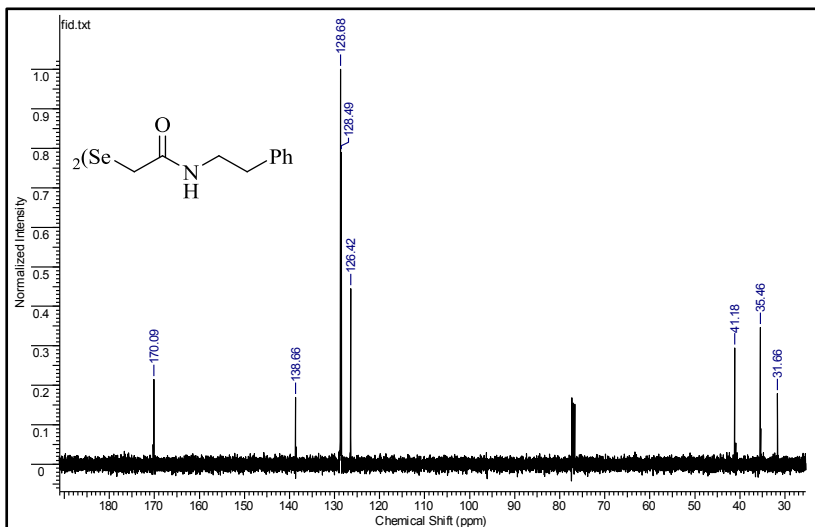
Anexo 4: ¹H NMR de **100b** (400 MHz, CDCl₃)

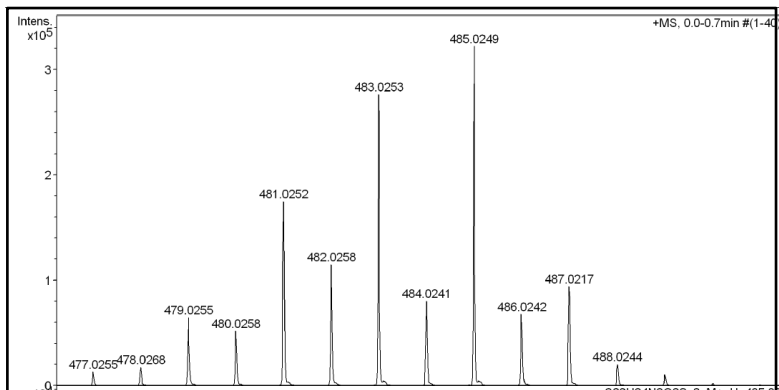
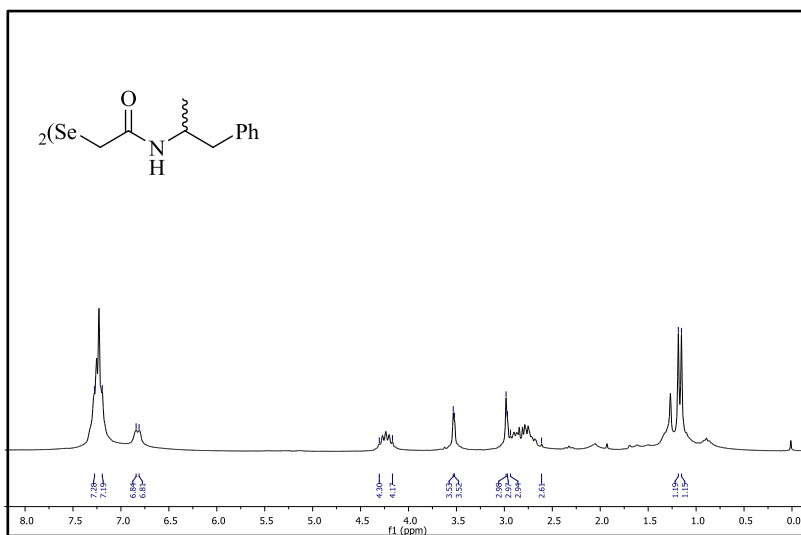


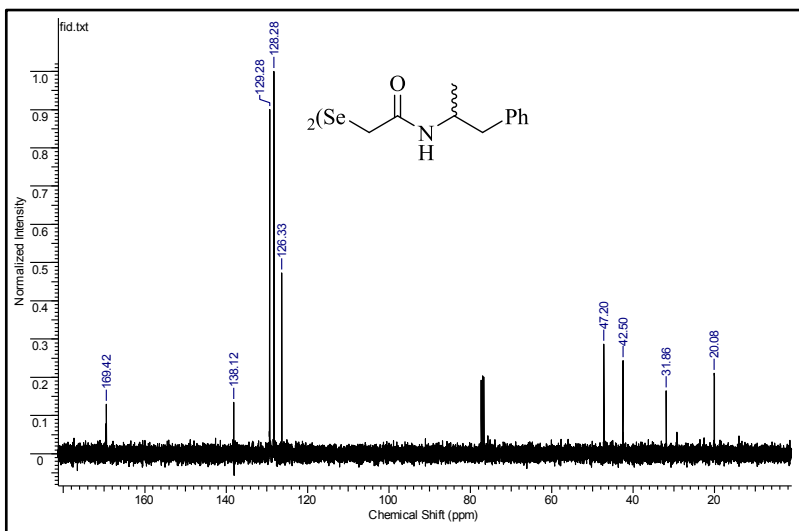
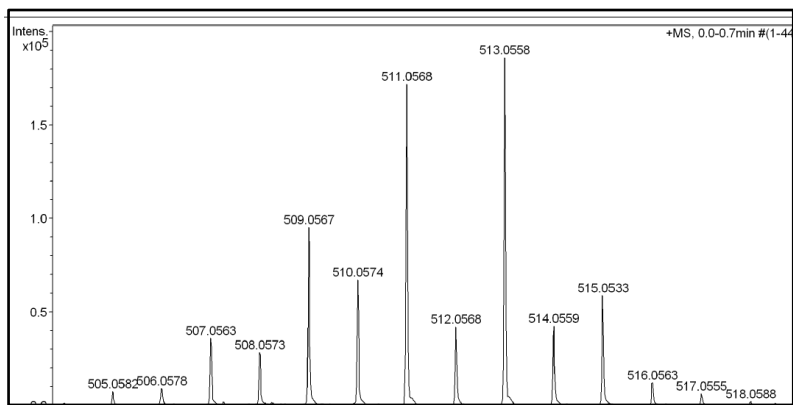
Anexo 5: ^{13}C NMR de **100b** (100 MHz, CDCl_3)

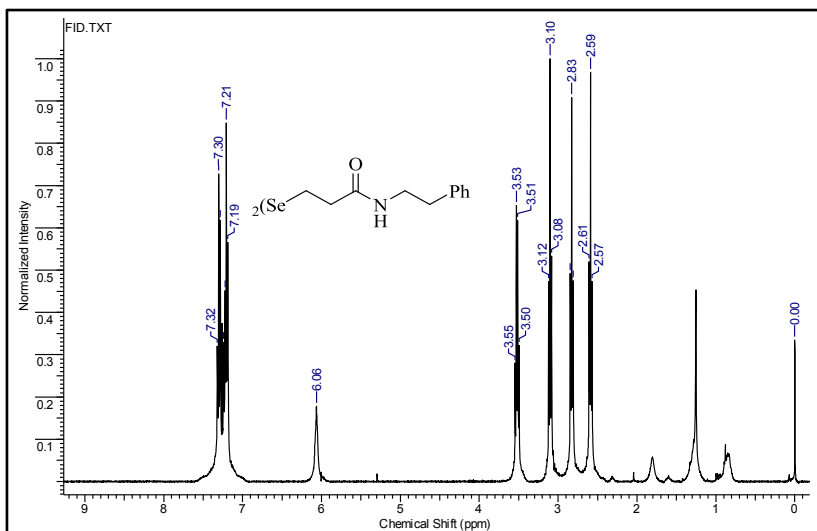


Anexo 6: HRMS (ESI-injeção direta) de **100b**

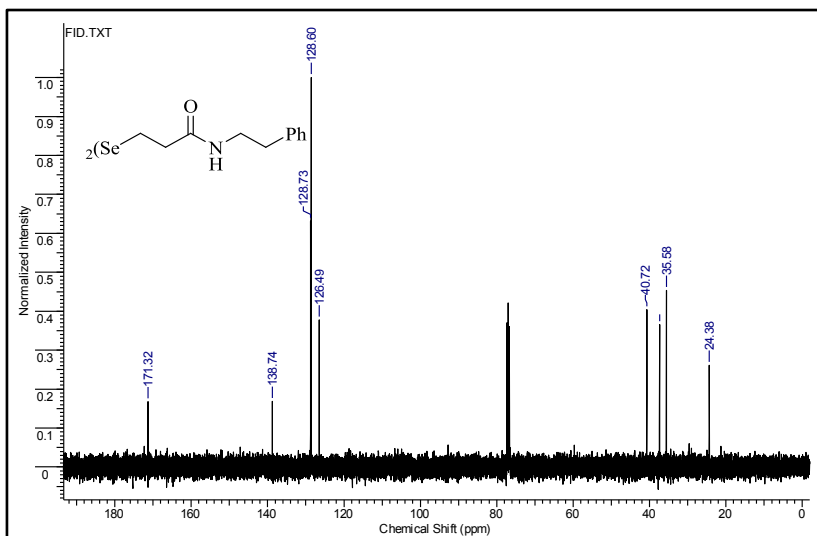
Anexo 7: ^1H NMR de **101a** (400 MHz, CDCl_3)Anexo 8: ^{13}C NMR de **101a** (100 MHz, CDCl_3)

Anexo 9: HRMS (ESI-injeção direta) de **101a**Anexo 10: ¹H NMR de **101b** (200 MHz, CDCl₃)

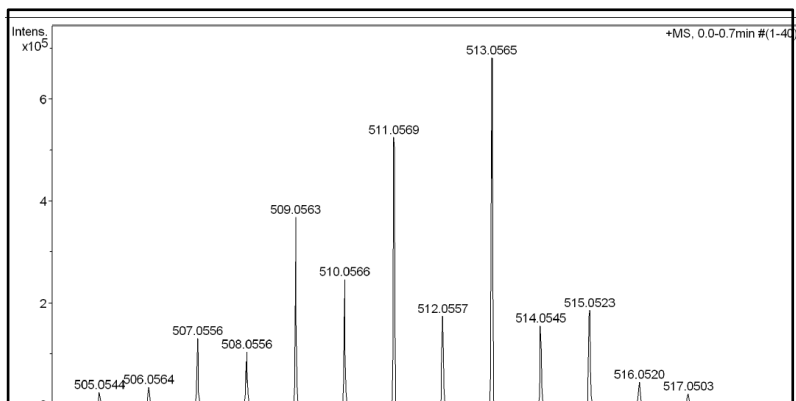
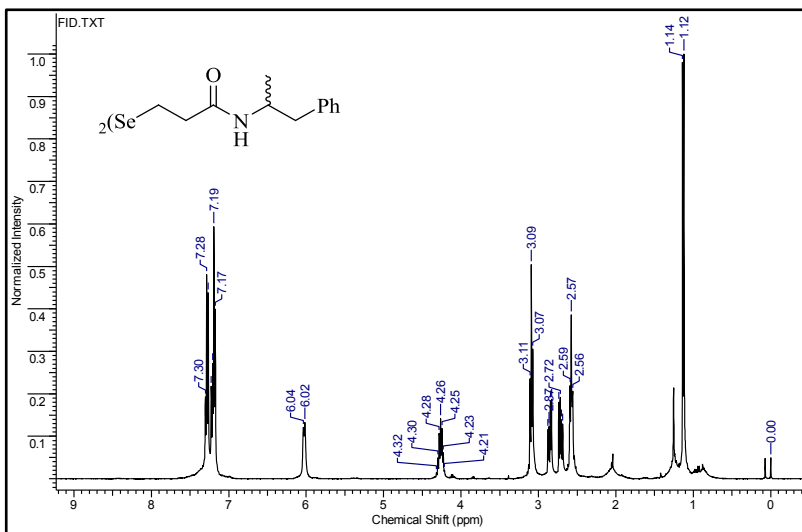
Anexo 11: ^{13}C NMR de **101b** (100 MHz, CDCl_3)Anexo 12: HRMS (ESI-injeção direta) de **101b**

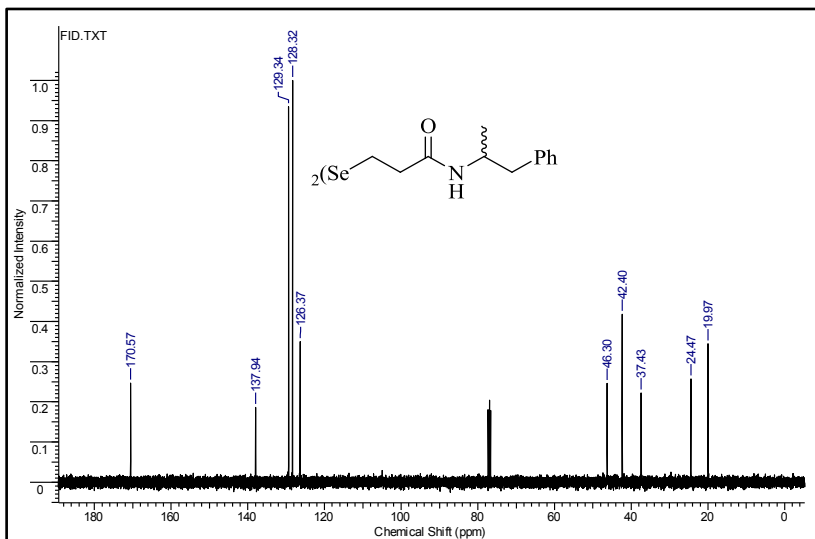


Anexo 13: ^1H NMR de **101c** (400 MHz, CDCl_3)

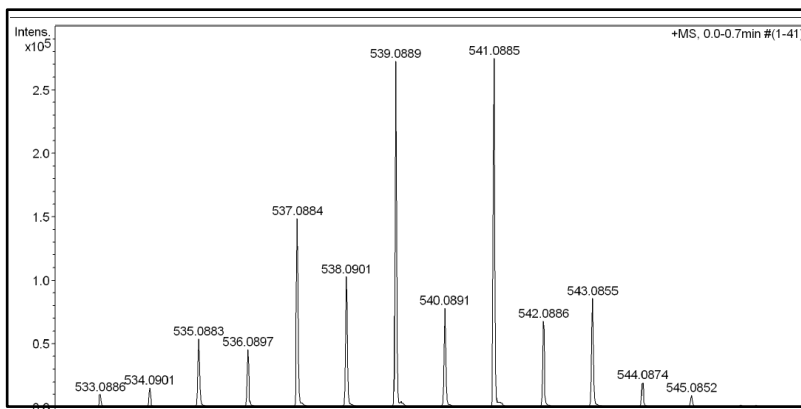


Anexo 14: ^{13}C NMR de **101c** (100 MHz, CDCl_3)

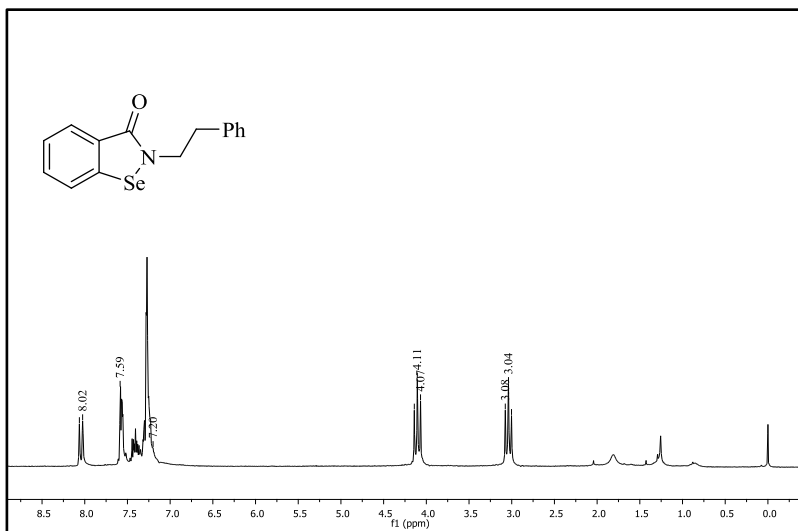
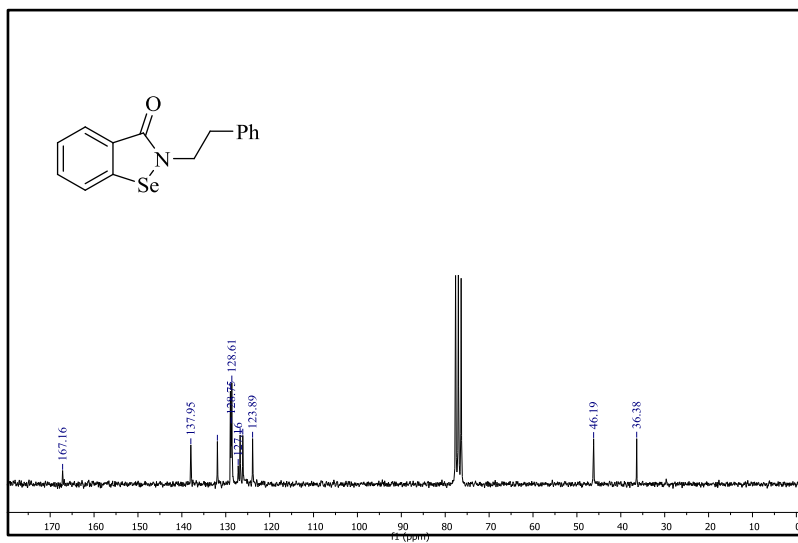
Anexo 15: HRMS (ESI-injeção direta) de **101c**Anexo 16: ¹H NMR de **101d** (400 MHz, CDCl₃)

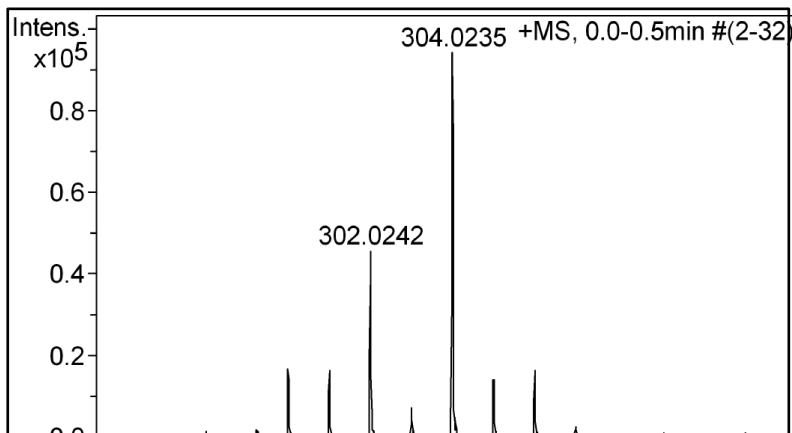
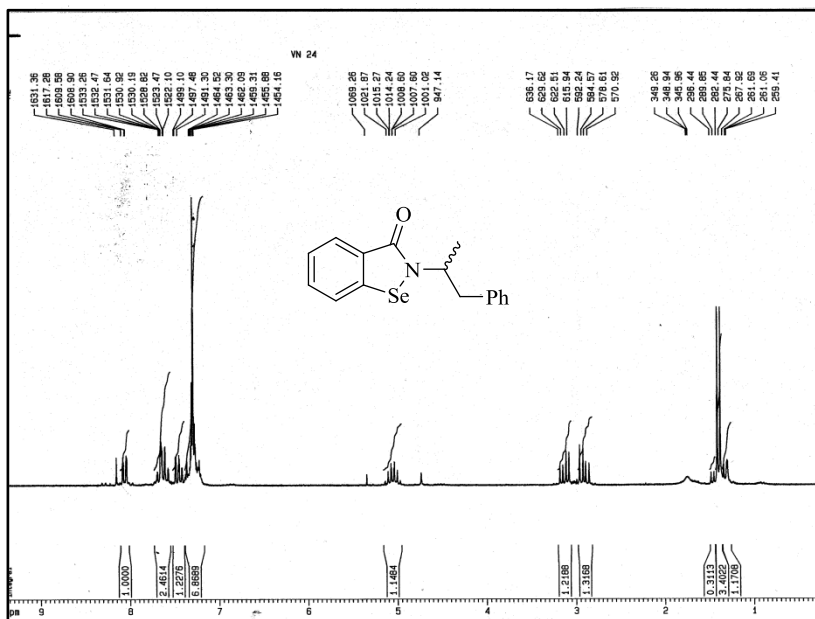


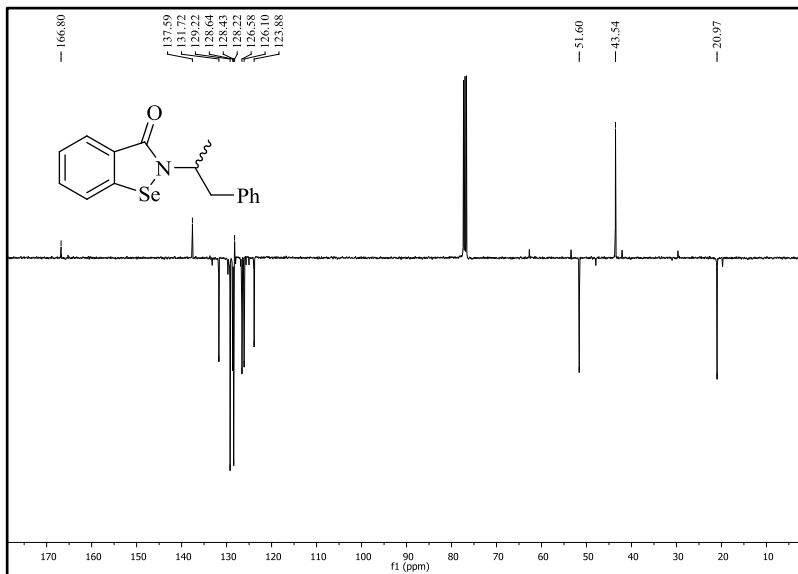
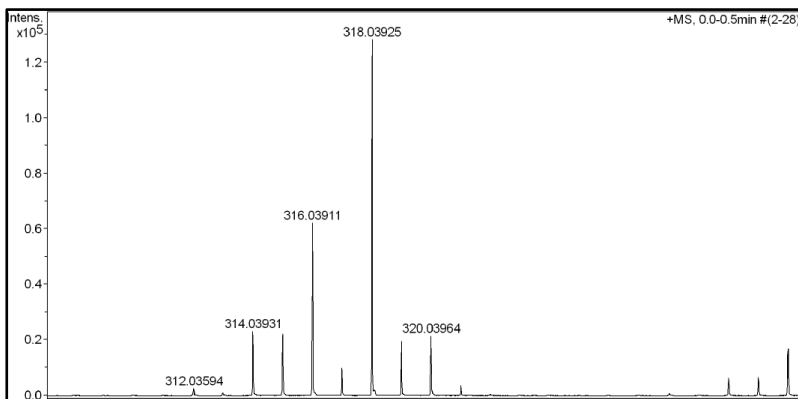
Anexo 17: ^{13}C NMR de **101d** (100 MHz, CDCl_3)

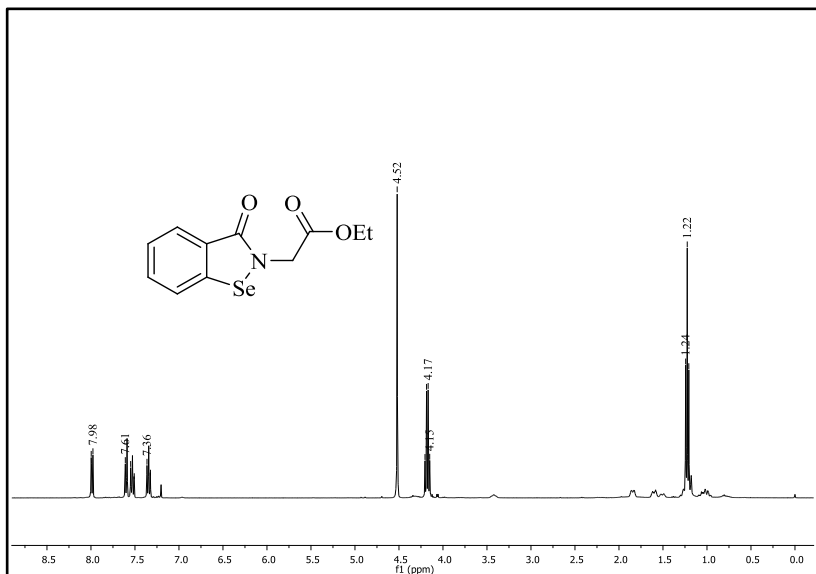
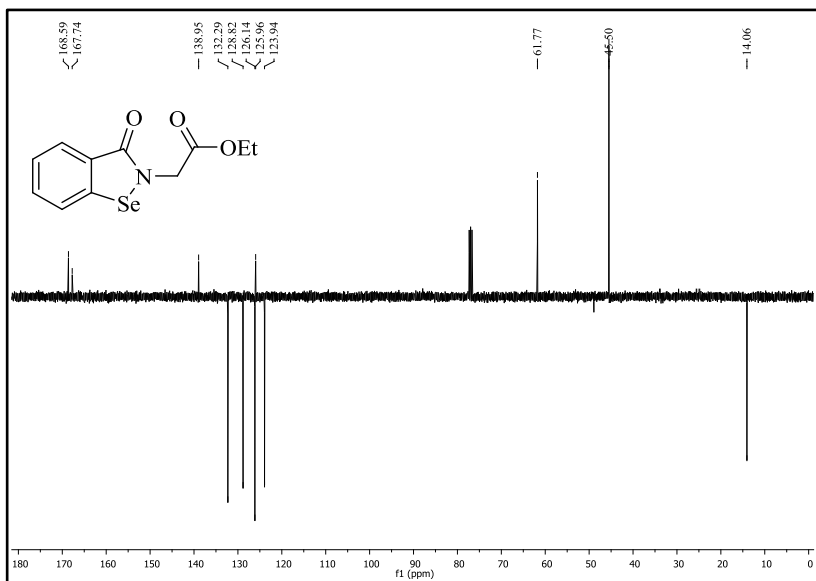


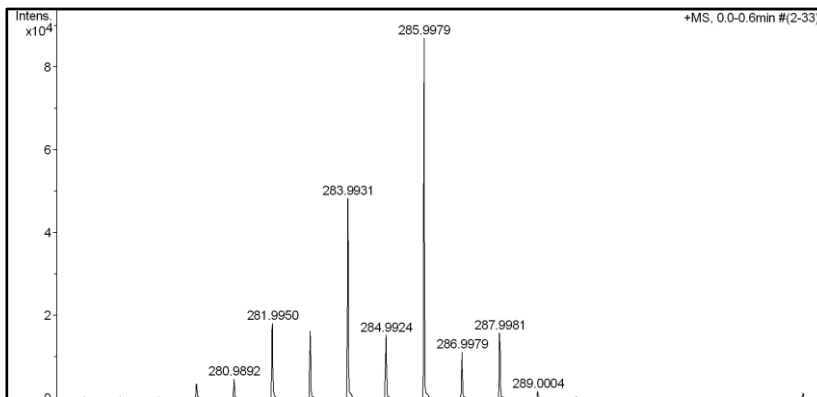
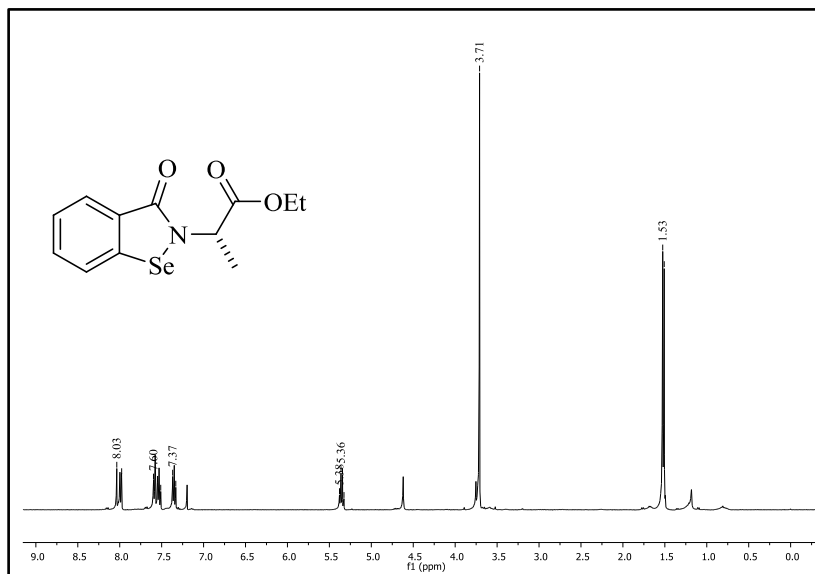
Anexo 18: HRMS (ESI-injeção direta) de **101d**

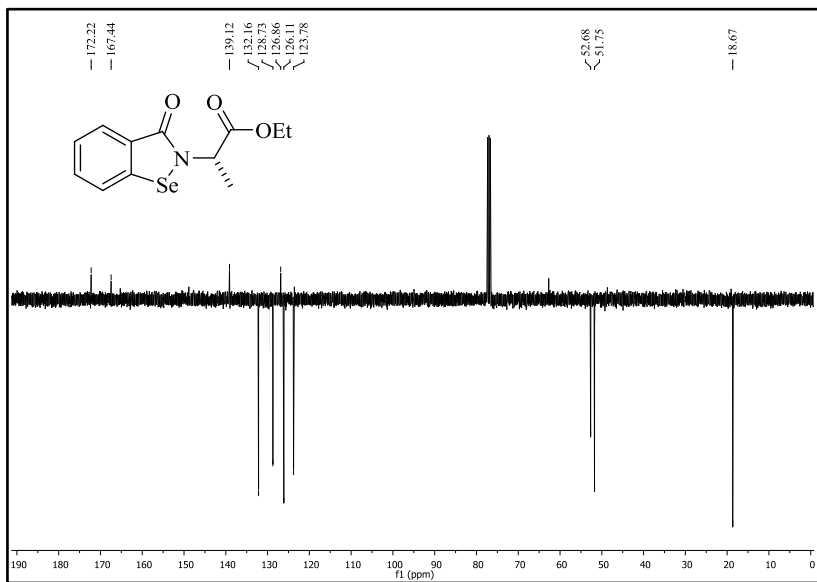
Anexo 19: ^1H NMR de **114a** (200 MHz, CDCl_3)Anexo 20: ^{13}C NMR de **114a** (50 MHz, CDCl_3)

Anexo 21: HRMS de **114a**Anexo 22: ¹H NMR de **114b** (200 MHz, CDCl₃)

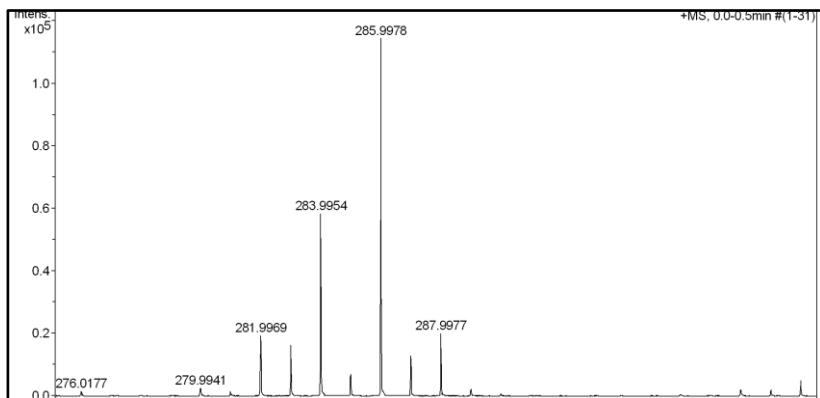
Anexo 23: ^{13}C APT NMR de **114a** (100 MHz, CDCl₃)Anexo 24: HRMS (APPI-injeção direta) de **114a**

Anexo 25: ^1H NMR de **114c** (400 MHz, CDCl_3)Anexo 26: ^{13}C APT NMR de **114c** (100 MHz, CDCl_3)

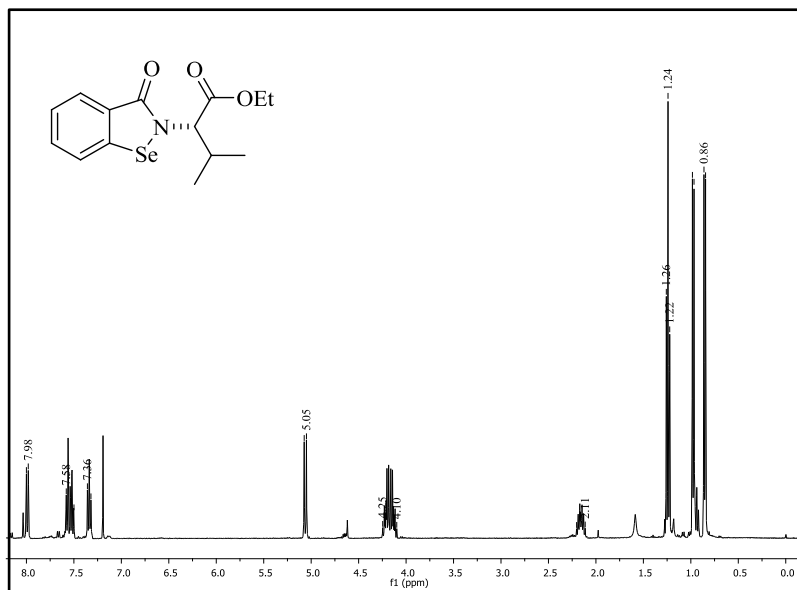
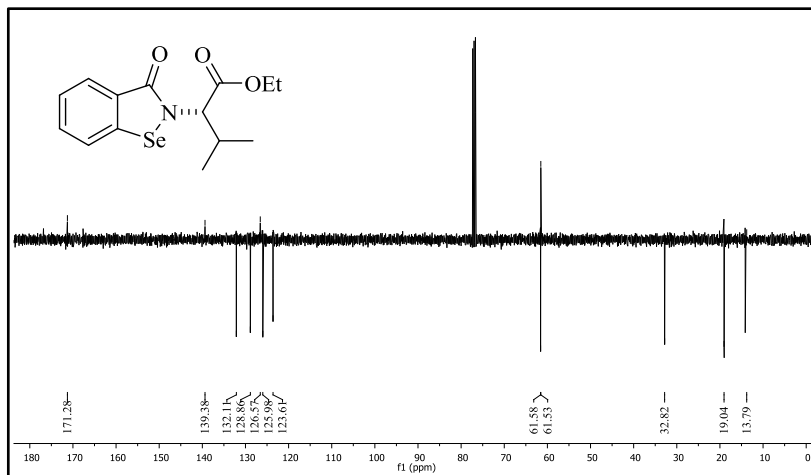
Anexo 27: HRMS (APPI-injeção direta) de **114c**Anexo 28: ¹H NMR de **114d** (400 MHz, CDCl₃)

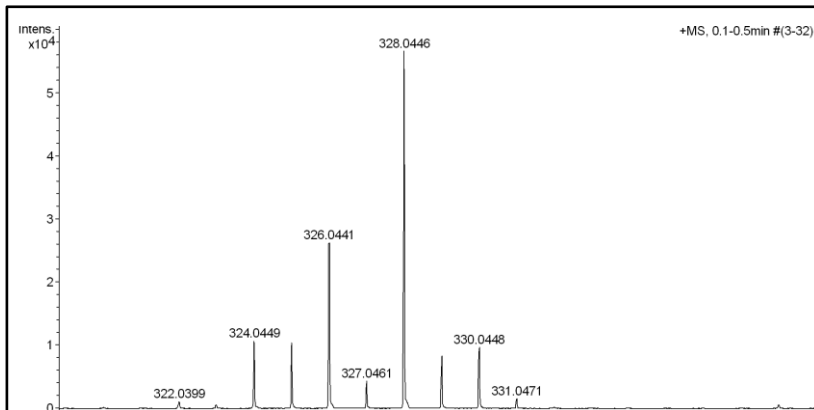
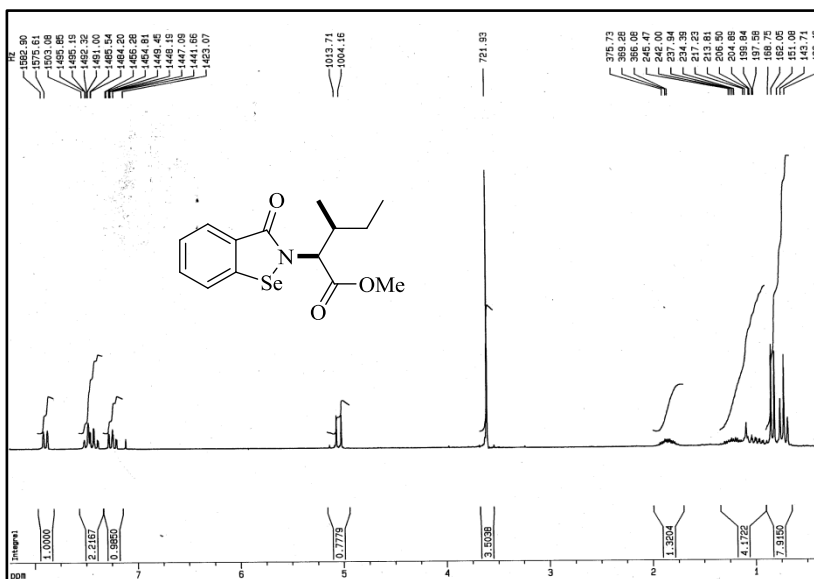


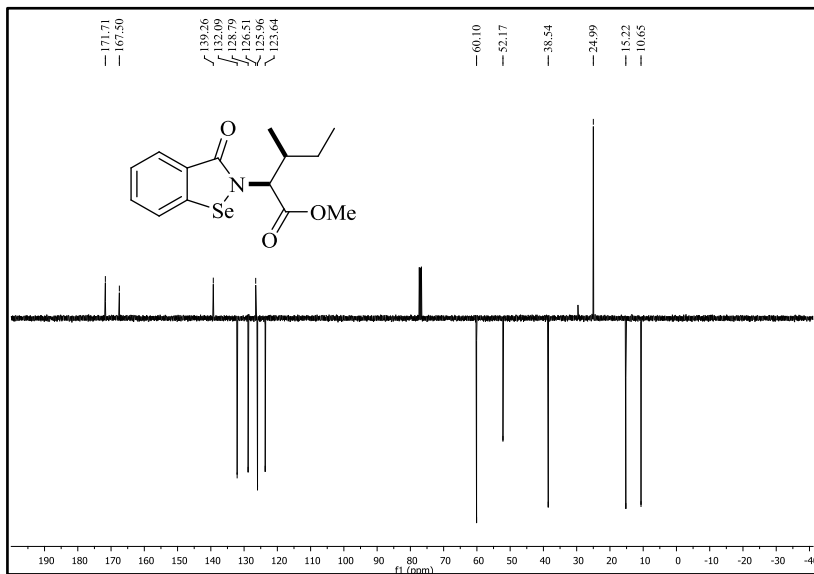
Anexo 29: ^{13}C APT NMR de **114d** (100 MHz, CDCl_3)



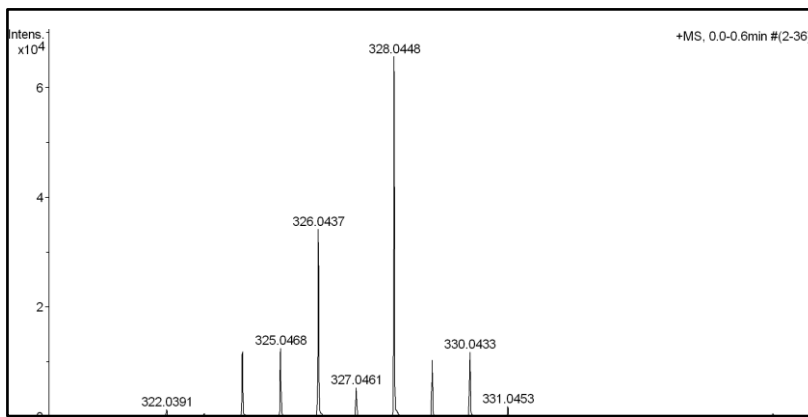
Anexo 30: HRMS (APPI-injeção direta) de **114d**

Anexo 31: $^1\text{H NMR}$ de **114e** (400 MHz, CDCl_3)Anexo 32: $^{13}\text{C APT NMR}$ de **114e** (100 MHz, CDCl_3)

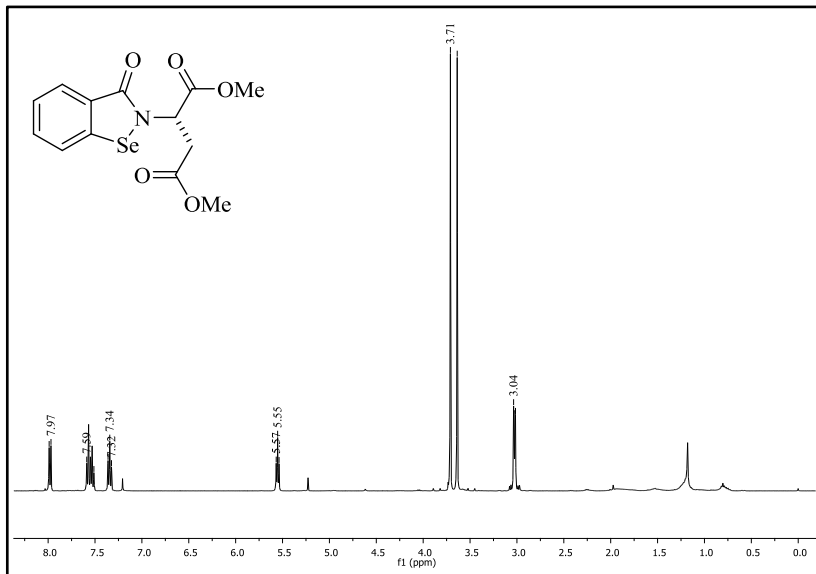
Anexo 33: HRMS (APPI-injeção direta) de **114e**Anexo 34: ¹H NMR de **114f** (200 MHz, CDCl₃)



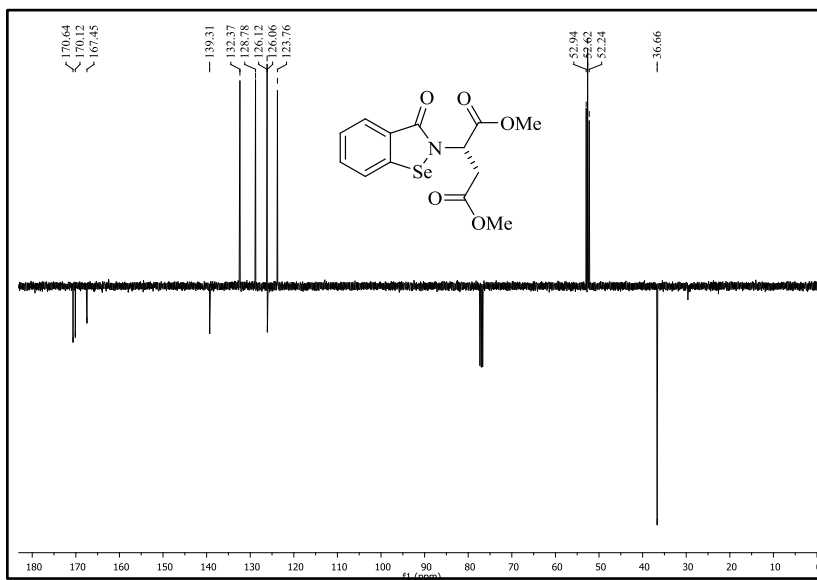
Anexo 35: ^{13}C APT NMR de **114f** (100 MHz, CDCl_3)



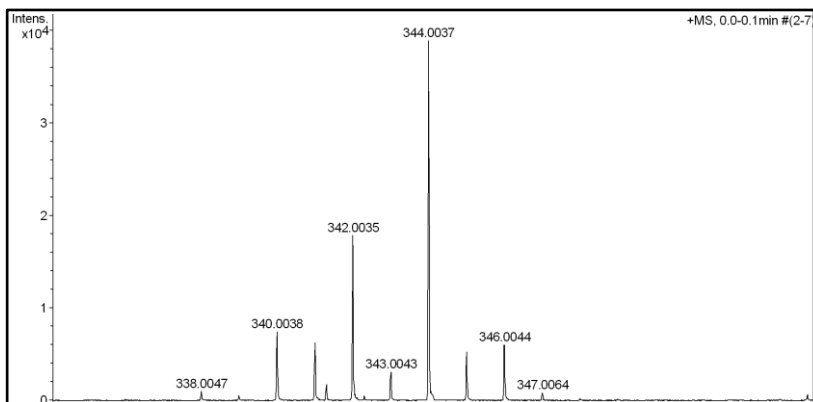
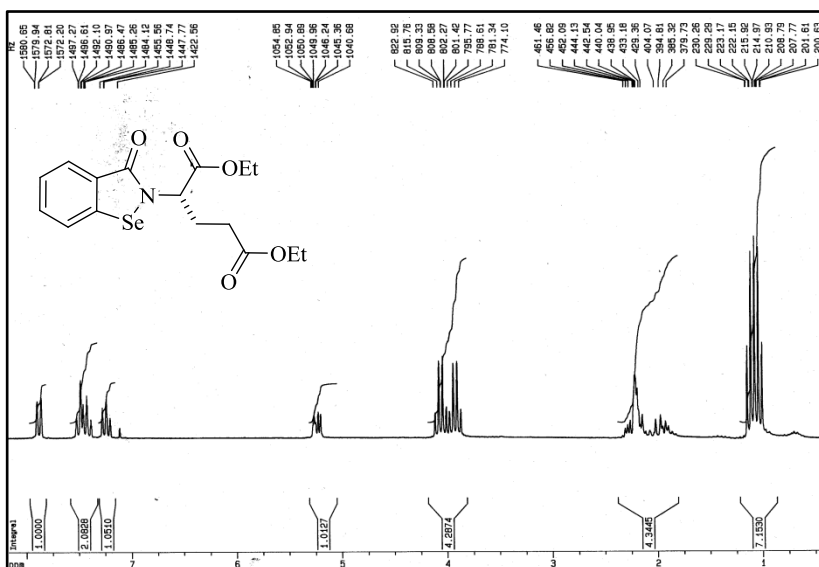
Anexo 36: HRMS (APPI-injeção direta) de **114f**

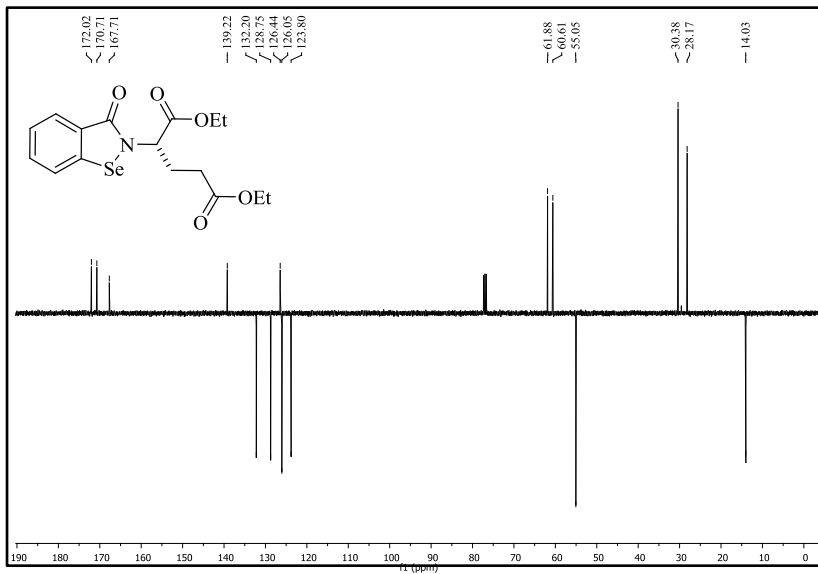


Anexo 37: ^1H NMR de **114g** (400 MHz, CDCl_3)

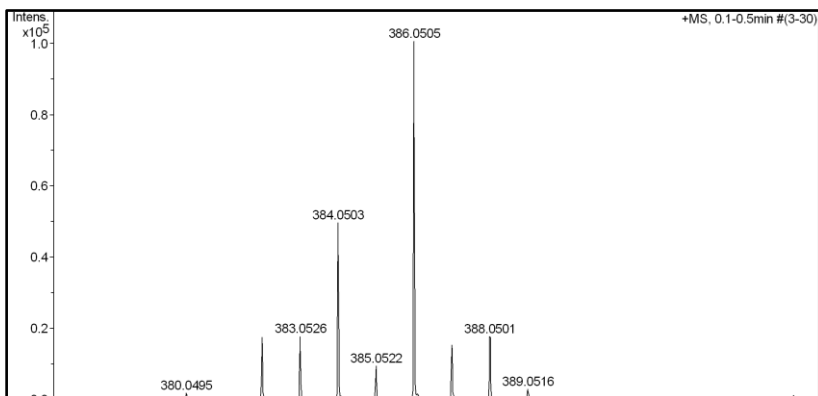


Anexo 38: ^{13}C APT NMR de **114g** (100 MHz, CDCl_3)

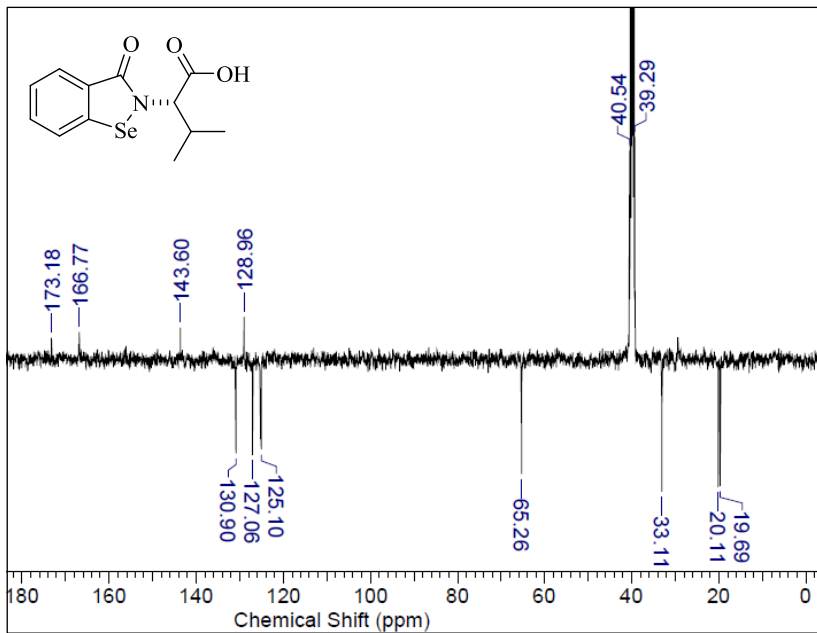
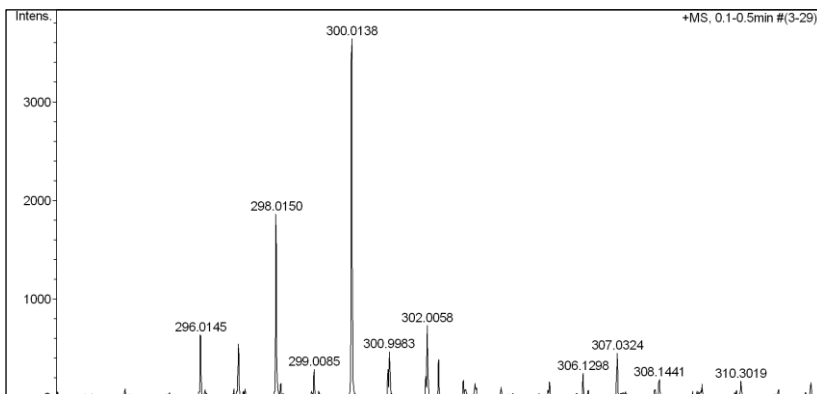
Anexo 39: HRMS (APPI-injeção direta) de **114g**Anexo 40: ¹H NMR de **114h** (200 MHz, CDCl₃)

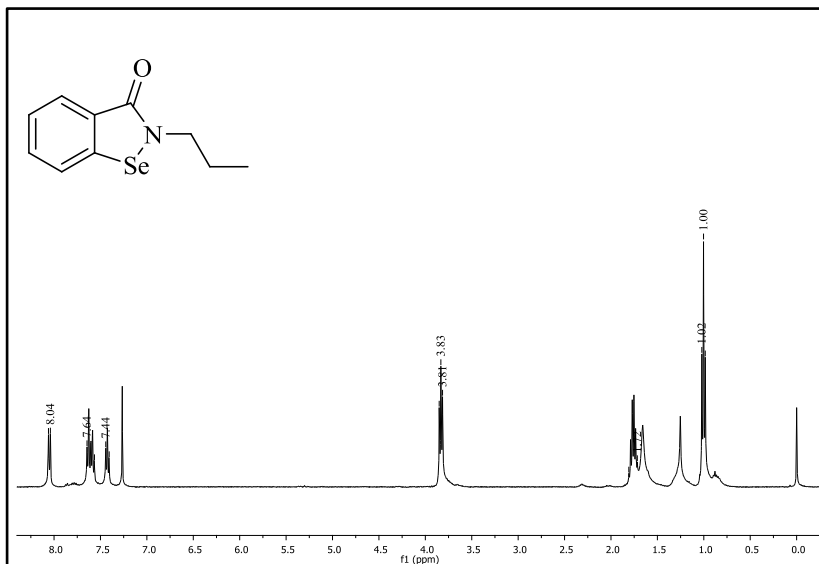
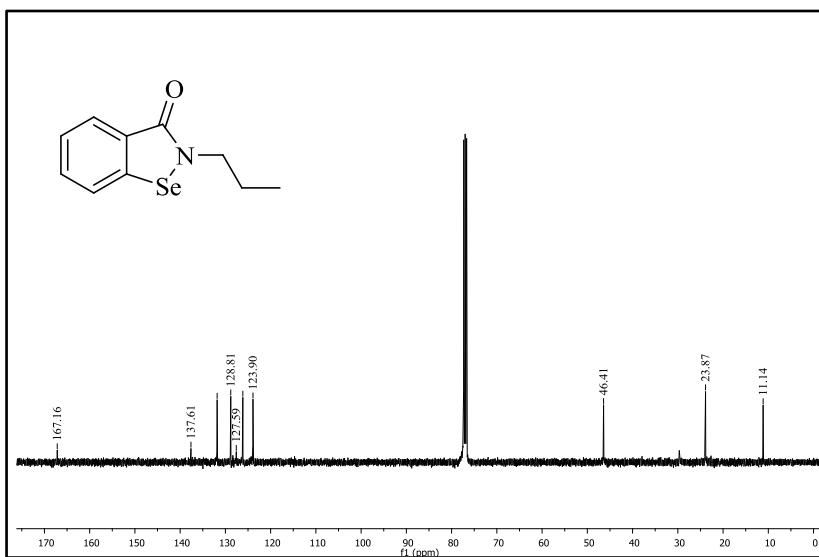


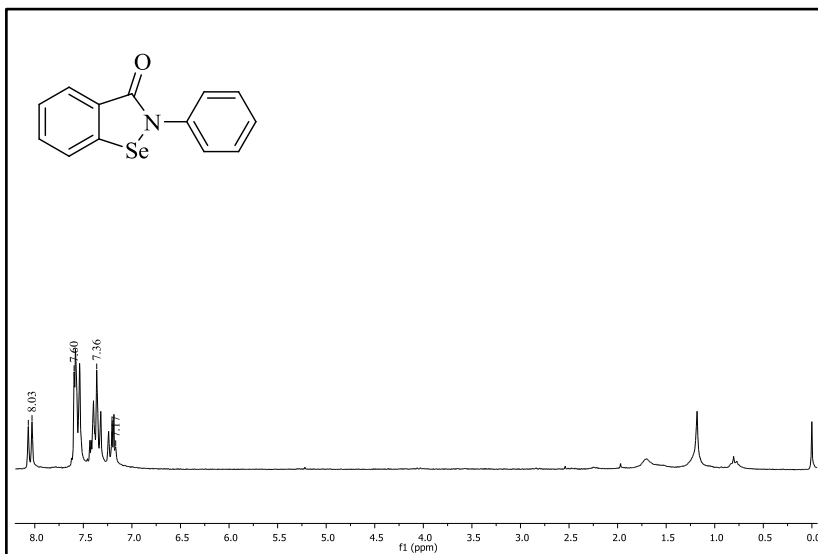
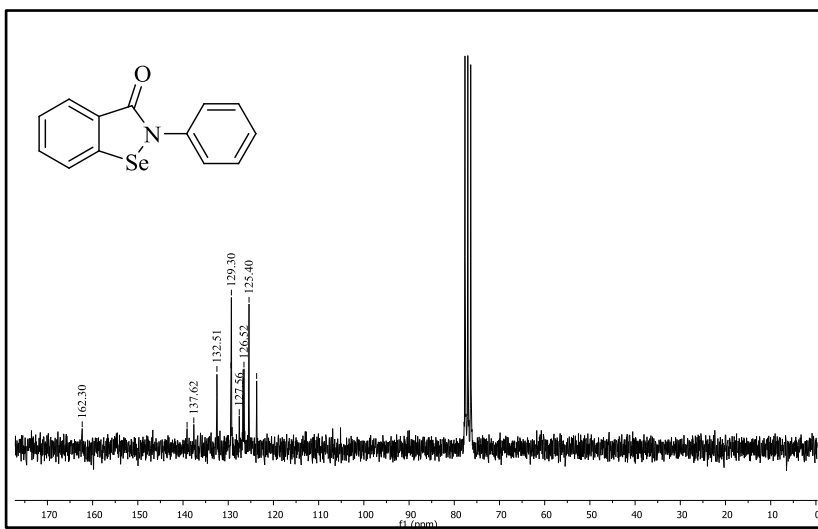
Anexo 41: ^{13}C APT NMR de **114h** (100 MHz, CDCl_3)

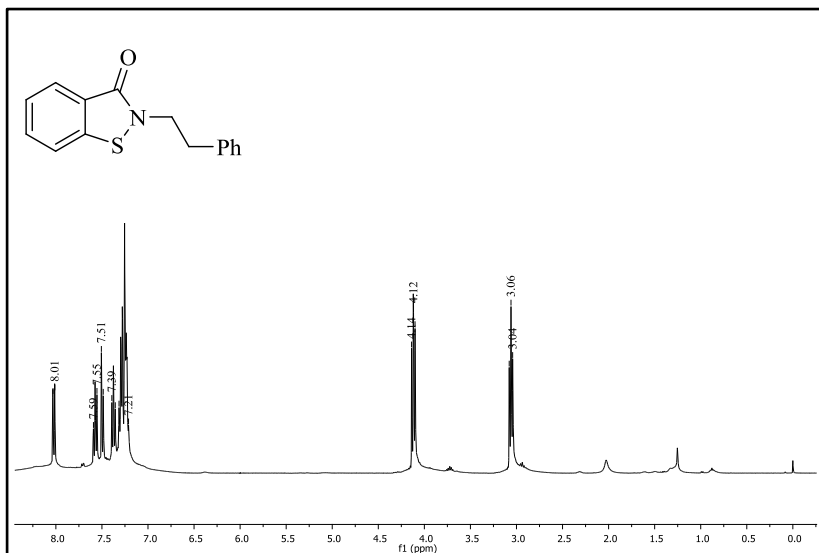
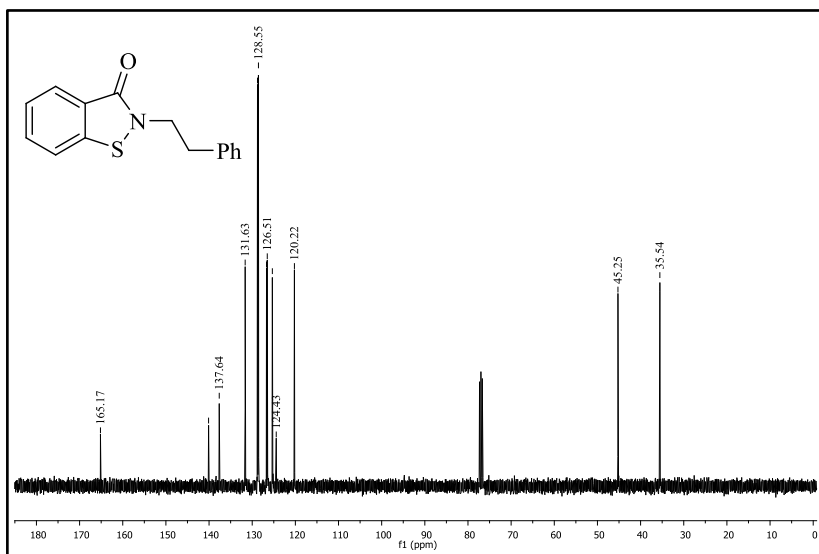


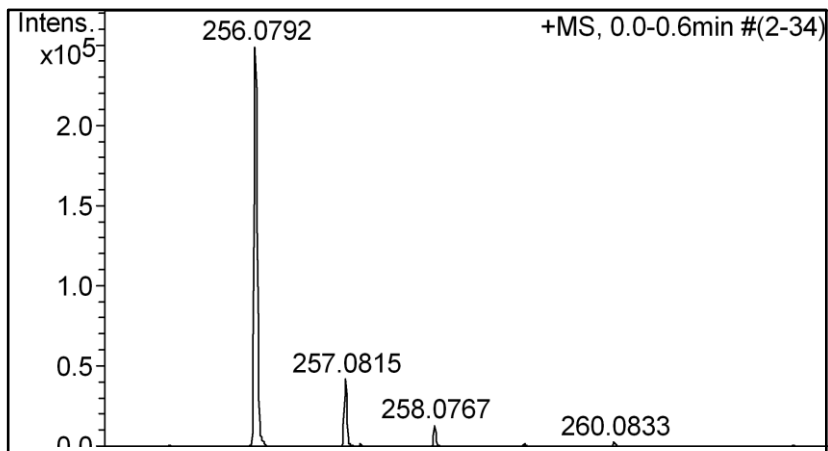
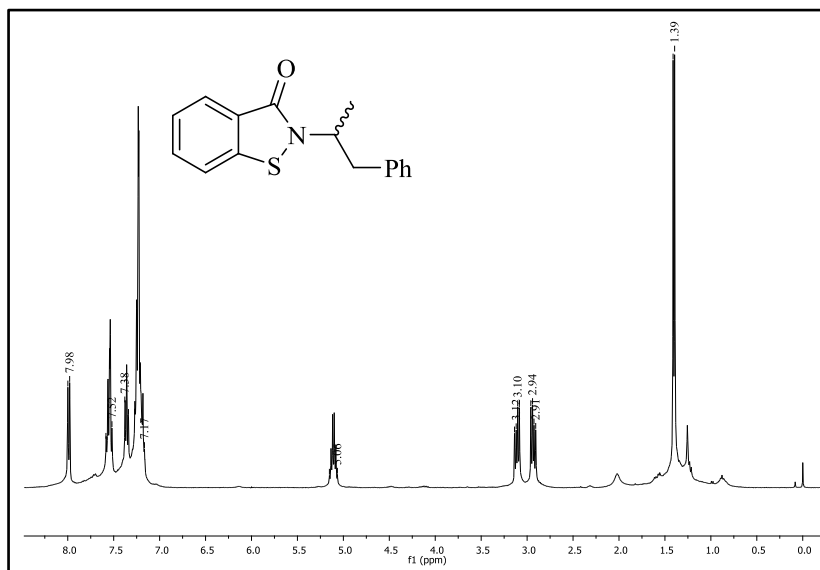
Anexo 42: HRMS (APPI-injeção direta) de **114h**

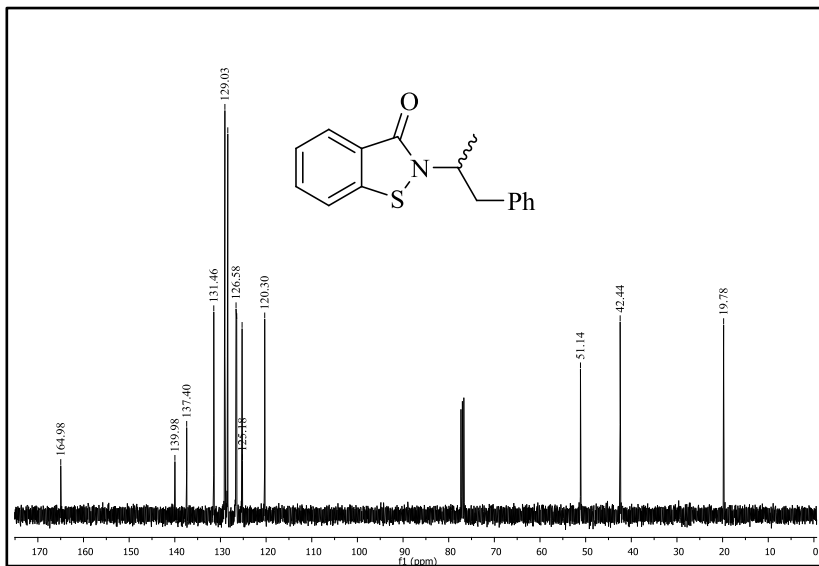
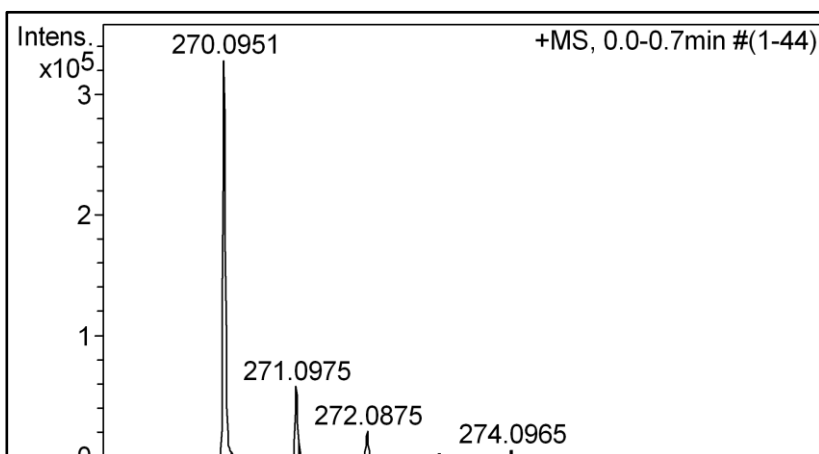
Anexo 43: ¹³C APT NMR de **114i** (100 MHz, DMSO-d₆)Anexo 44: HRMS (APPI-injeção direta) de **114i**

Anexo 45: ^1H NMR de **114j** (200 MHz, CDCl_3)Anexo 46: ^{13}C NMR de **114j** (100 MHz, CDCl_3)

Anexo 47: ^1H NMR de **eselen** (200 MHz, CDCl_3)Anexo 48: ^{13}C NMR de **eselen** (50 MHz, CDCl_3)

Anexo 49: ^1H NMR de **115a** (400 MHz, CDCl_3)Anexo 50: ^{13}C NMR de **115a** (100 MHz, CDCl_3)

Anexo 51: HRMS (APPI-injeção direta) de **115a**Anexo 52: ¹H NMR de **115b** (400 MHz, CDCl₃)

Anexo 53: ^{13}C NMR de **115b** (100 MHz, CDCl_3)Anexo 54: HRMS (APPI-injeção direta) de **115b**

