



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Brenda Gabriele Trindade dos Santos

**Síntese de inibidores da M^{pro} do SARS-CoV-2: Híbridos moleculares de
diidropirimidinonas e compostos organosselênio**

Florianópolis

2022

Brenda Gabriele Trindade dos Santos

Síntese de inibidores da M^{pro} do SARS-CoV-2: Híbridos moleculares de diidropirimidinonas e compostos organosselênio

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica
Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Braga

Florianópolis

2022

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

Trindade dos Santos, Brenda Gabriele
Síntese de inibidores da Mpro do SARS-CoV-2: Híbridos
moleculares de diidropirimidinonas e compostos
organoselênio / Brenda Gabriele Trindade dos Santos ;
orientador, Antonio Luiz Braga, 2022.
100 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Química. 2. BHT. 3. Diidropirimidinona. 4. Selenetos.
5. SARS-CoV-2. I. Braga, Antonio Luiz. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Química. III. Título.

Brenda Gabriele Trindade dos Santos

Síntese de inibidores da M^{pro} do SARS-CoV-2: Híbridos moleculares de diidropirimidinonas e compostos organosselênio

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Aldo Sena de Oliveira

Universidade Federal de Santa Catarina (campus Blumenau)

Prof. Dr. Tiago Elias Allievi Frizon

Universidade Federal de Santa Catarina (campus Araranguá)

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Química.

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química

Prof. Dr. Antonio Luiz Braga

Orientador

Florianópolis, 2022.

Este trabalho é dedicado aos que permaneceram comigo durante
esta jornada, principalmente minha família e minha gata

Fosfina.

AGRADECIMENTOS

À minha gata Fosfina por ser minha companhia diária e estar ao meu lado durante todos esses anos, me dando forças para continuar.

Aos colegas que contribuíram para a realização deste trabalho por todo o apoio e pela ajuda.

Aos meus pais e irmãos, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Ao meu orientador, prof. Braga, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiou o meu aprendizado.

Aos professores da banca por participarem deste importante momento da minha formação.

Ao Tiago Tizziani e ao prof. Sandjo pelos ensaios de inibição da M^{pro} do SARS-CoV-2.

À central de análises do Departamento de Química pelas análises realizadas.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

À Universidade Federal de Santa Catarina, essencial no meu processo de formação profissional, por tudo o que aprendi nesses anos.

Ao CNPQ pelos 24 meses de bolsa de mestrado.

À CAPES, FAPESC, INCT-Catálise e aos demais órgãos de fomento pelo auxílio financeiro.

“Há um prazer intenso em observar um campo de conhecimento e prática se desenvolver do quase nada em uma área importante.” (BROWN, H. C., 1979)

RESUMO

Nesta dissertação estão descritos o planejamento, síntese e atividade biológica de duas séries de híbridos moleculares entre compostos biologicamente ativos. A primeira contém os grupamentos BHT e diidropirimidinonas (DHPM), e na segunda série, foram formados compostos inéditos, a partir da hibridização conjugada de compostos organoselênio com os compostos preparados na primeira série, utilizando para tal, um linker de 1,2,3-triazol. Os híbridos sintetizados foram discutidos, avaliados e caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C , e os inéditos ainda por infravermelho e ponto de fusão. As duas séries de híbridos foram submetidas a ensaios de inibição da protease M^{pro} do SARS-CoV-2, e foi observado que na série de BHT-DHPM, somente o derivado contendo selênio alcançou inibição da enzima. Da segunda série, em que há a inserção de compostos organoselênio através de um linker, todos exibiram atividades aceitáveis, chegando em até 73% de inibição.

Palavras-chave: BHT, diidropirimidinonas, híbridos moleculares, selenetos, SARS CoV-2.

ABSTRACT

This dissertation describes the design, synthesis and biological activity of two series of molecular hybrids between biologically active compounds. The first contains BHT and dihydropyrimidinones (DHPM), and in the second series, hybrids of organoselenium compounds were formed with the compounds prepared in the first series, using a 1,2,3-triazole linker. The synthesized hybrids were discussed and characterized by ^1H and ^{13}C NMR, and the unpublished ones also by infrared and melting point. Both series of hybrids were submitted to SARS-CoV-2 protease Mpro inhibition assays, and it was observed that in the BHT-DHPM series, only the selenium-containing derivative achieved enzyme inhibition. From the second series, in which organoselenium compounds were inserted through a linker, all exhibited acceptable activities, reaching up to 73% inhibition.

Keywords: BHT. Dihydropyrimidinones. Molecular hybrids. Selenides. SARS-CoV-2.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Formas de tratamento por terapia multialvo. | 15 |
| Figura 2. Exemplo 1 de hibridização conjugada. | 17 |
| Figura 3. Exemplo 2 de hibridização conjugada. | 18 |
| Figura 4. Planejamento estrutural de Cai (2018) para inibidores bilaterais da AChE. | 20 |
| Figura 5. Estruturas propostas por Biginelli em 1891. | 22 |
| Figura 6. Estrutura resolvida por Biginelli em 1893. | 23 |
| Figura 7. Fusos equatoriais em que ocorre a mitose normalmente (a esquerda) e fusos monoastrais (a direita). | 24 |
| Figura 8. Casos diários confirmados de COVID-19 no Brasil (linha verde) e mundo (linha azul). | 28 |
| Figura 9 Medicamentos testados nos estudos da <i>Solidarity</i> e <i>Solidarity PLUS</i> da OMS | 29 |
| Figura 10. Estrutura do Ebselen. | 35 |
| Figura 11. Exemplos de compostos organosselênio antivirais. | 36 |
| Figura 12. Estrutura do seleneto propargilado 5a | 40 |
| Figura 13. Estrutura do seleneto propargilado 5b | 41 |
| Figura 14. Estrutura do seleneto propargilado 5c | 41 |
| Figura 15. Estrutura da diidropirimidinona 2a | 43 |
| Figura 16. Estrutura da diidropirimidinona 2b | 43 |
| Figura 17. Estrutura do composto 6a | 47 |
| Figura 18. Estrutura do composto 6b | 48 |
| Figura 19. Estrutura do composto 6c | 49 |
| Figura 20. Comparação entre os RMN de ^1H de 2a e 2b | 55 |
| Figura 21. Comparação entre os RMN de ^1H de 2ba e 2c | 56 |
| Figura 22. Comparação dos RMN de ^1H de 2a e 4 | 58 |
| Figura 23. Espectros de infravermelho de 2a (linha verde) e 4 (linha azul). | 59 |
| Figura 24. Espectro de RMN de ^1H simplificado de 6b | 61 |

Figura 25. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H de **6a**, **6b** e **6c**..... 61

Figura 26. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H de **4** e **6a**..... 62

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|---|----|
| Esquema 1. Exemplos de híbridos mesclados..... | 16 |
| Esquema 2. Exemplos de hibridização fundida..... | 17 |
| Esquema 3. Acoplamento do BHT em indóis e imidazopiridinas. | 19 |
| Esquema 4. Exemplos de compostos sintetizados por Ahmad (2019) e Shatokhin (2022). ... | 20 |
| Esquema 5. Reações de Behrend e Schiff que inspiraram Biginelli. | 21 |
| Esquema 6. Síntese de análogos do Monastrol com a função de inibição da Eg5..... | 25 |
| Esquema 7. Exemplos de reações com disselenetos. | 32 |
| Esquema 8. Metodologias para síntese de Seleno-Quinonas | 33 |
| Esquema 9. Exemplos de formações de organosselênio com ação de inibição da AChE. | 34 |
| Esquema 10. Síntese dos selenetos propargilado (5a-c). | 40 |
| Esquema 11. Síntese do composto 3 | 41 |
| Esquema 12. Síntese do composto 1 | 42 |
| Esquema 13. Síntese das diidropirimidinonas 2a e 2b | 42 |
| Esquema 14. Síntese da diidropirimidinona 2c a partir da 2b | 44 |
| Esquema 15. Síntese do intermediário 4 | 45 |
| Esquema 16. Síntese dos derivados 6a-c através da reação <i>Click</i> | 46 |
| Esquema 17. Análise retrossintética das diidropirimidinonas 2a-c | 51 |
| Esquema 18. Análise retrossintética dos compostos 3 , 4 e 6a-c | 53 |
| Esquema 19. Síntese do composto 1 | 54 |
| Esquema 20. Reação de Biginelli para formação dos compostos 2a e 2b | 54 |
| Esquema 21. Síntese de 2c a partir de 2b | 56 |
| Esquema 22. Síntese do composto 3 | 57 |
| Esquema 23. Síntese da diidropirimidinona 4 | 57 |
| Esquema 24. Reação Click utilizada para a síntese dos compostos 6a-c | 60 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------------------------|--|
| ACh | Acetilcolina |
| AChE | Acetilcolinesterase |
| APPI | Fotoionização à pressão atmosférica |
| BHT | Hidroxitolueno butilado |
| DHPM | Diidropirimidinona |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| EROs | Espécies reativas de oxigênio |
| ESI | Ionização por eletrospray |
| EtOAc | Acetato de etila |
| EtOH | Etanol |
| GPx | Glutathione peroxidase |
| HCl | Ácido clorídrico |
| HRMS | Espectrometria de massas de alta resolução |
| IC ₅₀ | Concentração que induz metade do efeito máximo |
| IV | Espectroscopia de Infravermelho |
| <i>J</i> | Constante de acoplamento |
| MERS | Síndrome Respiratória do Oriente Médio |
| MHz | Mega Hertz |
| M ^{pro} | Proteína principal |
| NaBH ₄ | Tetrahidridoborato de sódio |
| NBS | N-bromosuccinimida |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| P.F. | Ponto de fusão |
| ppm | Partes por milhão |
| RMN de ¹³ C | Ressonância Magnética Nuclear de carbono |
| RMN de ¹ H | Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio |
| SARS | Síndrome Respiratória Aguda Grave |
| THF | Tetrahidrofurano |

SUMÁRIO

| | | |
|----------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 15 |
| 1.1 | HIBRIDIZAÇÃO MOLECULAR..... | 15 |
| 1.1.1 | Hibridização mesclada | 16 |
| 1.1.2 | Hibridização fundida..... | 16 |
| 1.1.3 | Hibridização conjugada | 17 |
| 1.2 | HIDROXITOLUENO BUTILADO (BHT): muito além de um aditivo alimentar | 18 |
| 1.3 | DIIDROPIRIMIDINONAS (DHPM): do erro ao êxito | 21 |
| 1.4 | CORONAVÍRUS: os avanços do combate a essa ameaça..... | 27 |
| 1.5 | A Química do Selênio no Brasil: Uma Tendência que veio pra ficar | 29 |
| 1.6 | Como será o futuro dos selenocompostos pós COVID-19? | 34 |
| 2 | OBJETIVOS | 37 |
| 2.1.1 | Objetivo Geral..... | 37 |
| 2.1.2 | Objetivos Específicos | 37 |
| 3 | Materiais e métodos | 39 |
| 3.1 | Procedimentos gerais | 39 |
| 3.2 | Síntese dos materias de partida..... | 40 |
| 3.2.1 | Síntese dos disselenetos de diarila | 40 |
| 3.2.2 | Síntese dos selenetos propargilados (5a-c)..... | 40 |
| 3.2.3 | Síntese do 4-azido-3-oxo-butanoato de etila (3) | 41 |
| 3.2.4 | Síntese do 3,5 di-<i>tert</i>-butil-4-hidroxibenzaldeído (1) | 42 |
| 3.2.5 | Procedimentos Gerais na Síntese das DHPM-BHT..... | 42 |
| <i>3.2.5.1</i> | <i>Síntese das Oxo-, Tio-DHPM-BHT</i> | <i>42</i> |
| <i>3.2.5.2</i> | <i>Síntese dos híbridos Seleno-DHPM-BHT</i> | <i>44</i> |
| 3.2.6 | Procedimento da Síntese do intermediário azido 4 | 45 |
| 3.2.7 | Procedimento Geral na Síntese das Seleno-Triazóis-DHPM..... | 46 |
| 3.2.8 | Ensaio de Inibição da Protease M^{pro} de SARS-CoV-2 | 49 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4 | Resultados e discussão..... | 51 |
| 4.1 | Síntese dos híbridos BHT-DHPM | 53 |
| 4.2 | Síntese dos derivados BHT-DHPM-SELÊNIO (6a-c)..... | 57 |
| 4.3 | ENSAIO DE INIBIÇÃO DA PROTEASE M ^{PRO} DE SARS-COV-2 | 63 |
| 5 | Considerações finais e conclusão..... | 65 |
| | REFERÊNCIAS..... | 66 |
| 6 | ANEXO A – Espectros de RMN de ¹H e ¹³C e infravermelho..... | 77 |

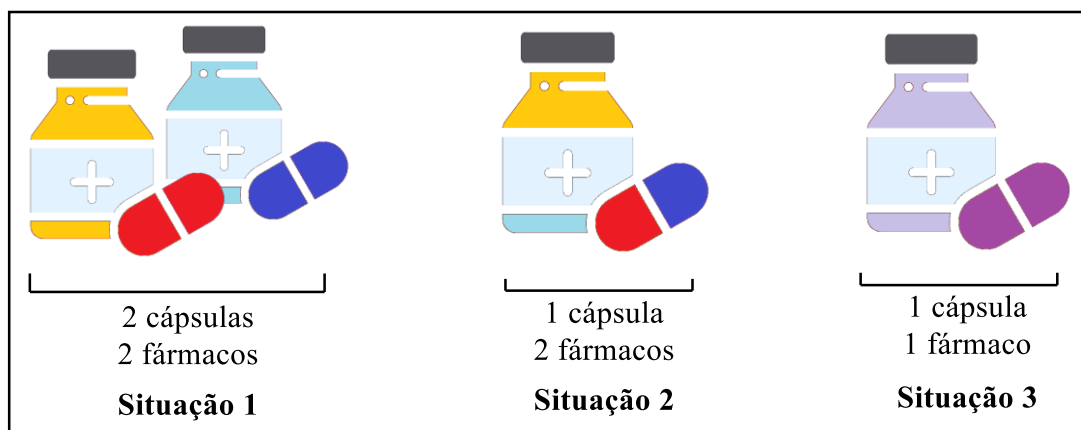
1 INTRODUÇÃO

1.1 HIBRIDIZAÇÃO MOLECULAR

A química medicinal está em constante evolução. A obtenção de novos fármacos é um desafio diário e a hibridização molecular é uma das ferramentas mais utilizadas para a prospecção de novas drogas. A hibridização molecular é, basicamente, uma forma de fazer a junção entre dois compostos bioativos, e faz-se isto por algumas razões, sendo uma delas a diminuição de medicamentos ingeridos pelo paciente.

Isso pode ser alcançado com a utilização de drogas multicomponentes – em que em um comprimido ou cápsula tenha os dois compostos – ou através da formação de uma droga que contenha em seu esqueleto a estrutura de fármacos ou grupos farmacofóricos para as duas funções. A segunda opção tem algumas vantagens como a diminuição de interações droga-droga que possam acontecer nas situações 1 e 2 (**Figura 1**) (MORPHY; RANKOVIC, 2005). A hibridização molecular é uma forma de tornar a situação 3 possível, mas também serve para simplificação estrutural de drogas comerciais, para potencializar a ação do fármaco ou diminuir seus efeitos colaterais.

Figura 1. Formas de tratamento por terapia multialvo.

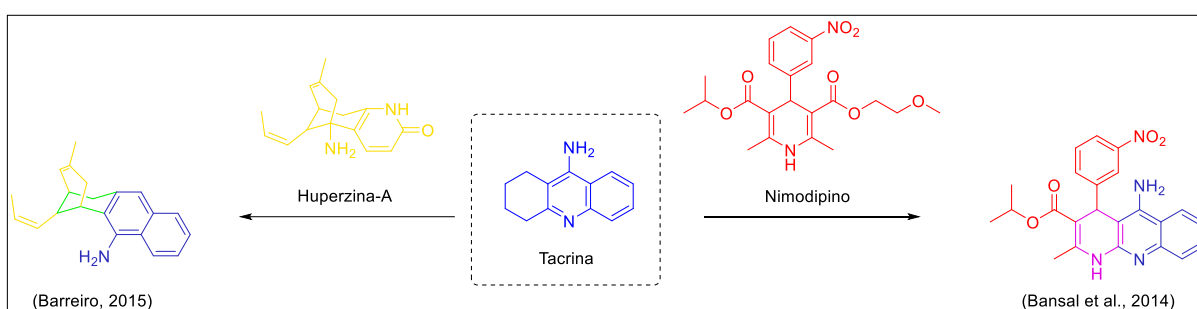


Dentre as estratégias empregadas na formação de híbridos moleculares serão abordados, a seguir, algumas técnicas de maior relevância no cenário sintético de formulação de *design* inteligente.

1.1.1 Hibridização mesclada

A hibridização mesclada nada mais é que a “condensação” de compostos bioativos a fim de formar um híbrido com maior simplificação estrutural. Alguns autores consideram a mesclada como uma hibridização fundida. Um exemplo está ilustrado no **Esquema 1**, que demonstra a mesclagem entre a huperzina-A – um alcaloide natural, oriundo da planta *Huperzia serrata*, com ação potente e reversível na inibição da AChE (Acetilcolinesterase) – e a Tacrina – o primeiro fármaco aprovado no tratamento do Alzheimer (BARREIRO; FRAGA, 2015). A Tacrina também foi mesclada com Nimodipino – um bloqueador de canais de Ca^{2+} – e resultou em um inibidor da AChE que, além de ser potente e seletivo até em escala nanomolar, exibiu atividade neuroprotetiva devido ao bloqueio dos canais de Ca^{2+} provindo do Nimodipino (BANSAL; SILAKARI, 2014).

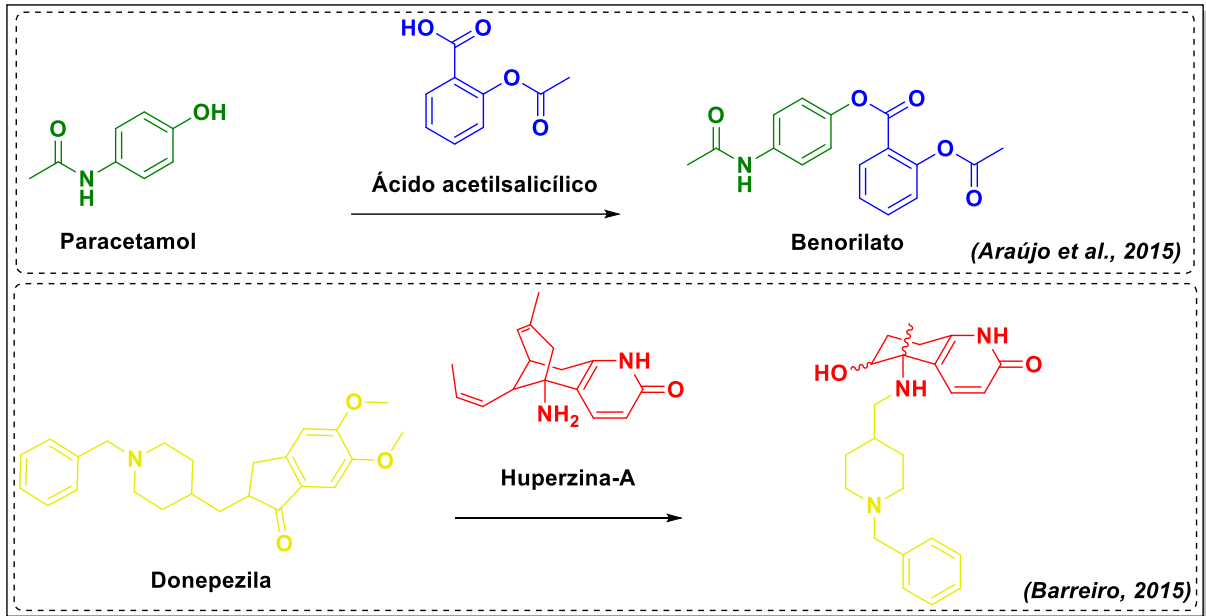
Esquema 1. Exemplos de híbridos mesclados.



1.1.2 Hibridização fundida

Na hibridização fundida (**Esquema 2**), os grupamentos bioativos estão unidos lateralmente, como na representação do fármaco Benorilato – gerado a partir da junção do paracetamol e do ácido acetilsalicílico (ARAÚJO et al., 2015). Outro híbrido é a junção entre a huperzina e a donepezila (BARREIRO; FRAGA, 2015), em que o farmacóforo da huperzina permanece ligado ao seu receptor, enquanto que a estrutura provinda da donepezila interage em seu sítio periférico, promovendo, neste híbrido, uma dupla interação com a AChE, e, assim, uma maior atividade inibitória.

Esquema 2. Exemplos de hibridização fundida.



1.1.3 Hibridização conjugada

Neste último modelo de hibridização, utiliza-se *linkers* para juntar dois compostos diferentes. Desta forma, é possível aumentar a aplicação sintética no *design* de moléculas e, diferentemente das estratégias apresentadas, a utilização do *linker* tende a manter os grupamentos farmacofóricos sem mudança funcional em outras partes da molécula. Um grupamento bastante utilizado como *linker* é o 1,2,3-triazol, devido à sua alta estabilidade *in vivo* (KAUR; SAXENA; RISHI, 2021). SAVATEEV et al., 2021 planejaram a síntese de compostos híbridos para explorar a atividade biológica da molécula contendo porções ativas contra vírus e bactérias (Figura 2). Já ÇAPCI et al., 2020 reportaram a formação de híbridos com atividade antiviral para a prospecção de agentes anti-citomegalovírus humano (Figura 3).

Figura 2. Exemplo 1 de hibridização conjugada.

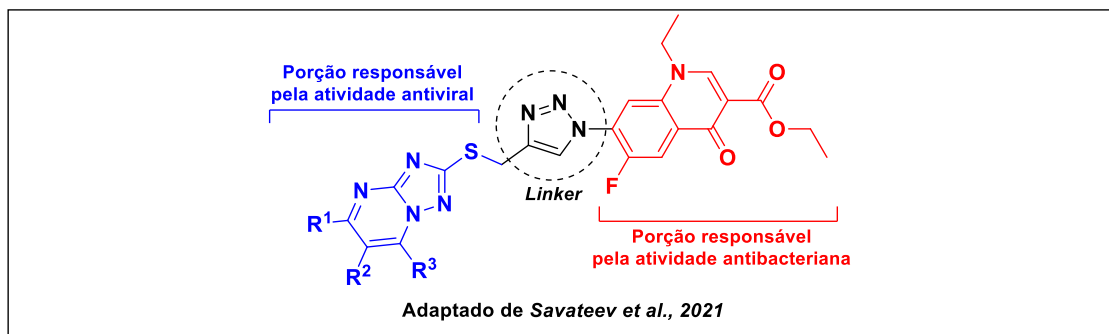
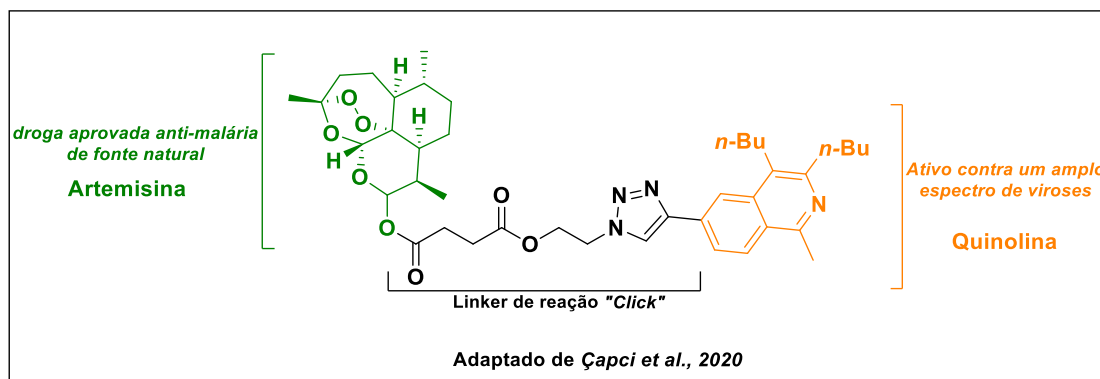


Figura 3. Exemplo 2 de hibridização conjugada.



Para ambos os casos, os autores utilizaram a reação *click*, que é uma variação via catálise de cobre da cicloadição 1,3 – dipolar de Huisgen (HUISGEN, 1961) e aprimorada por Meldal (MELDAL; TOMØE, 2008) e Sharpless (KOLB; FINN; SHARPLESS, 2001). Após a consolidação desse termo por Sharpless, a reação ganhou uma grande notoriedade por ser uma reação de fácil execução, bons rendimentos, simples purificação e grande tolerância para grupos funcionais (FREITAS et al., 2011; HIMO et al., 2005; TIWARI et al., 2016), além de diversas aplicações, como no descobrimento de fármacos (THIRUMURUGAN; MATOSIUK; JOZWIAK, 2013). Por possuir grandes vantagens sintéticas é muito explorada na hibridização molecular, ampliando, assim, a quimioteca de compostos a serem sintetizados (ALMEIDA et al., 2020; LIMA et al., 2021).

É importante salientar novamente que as conexões dentre compostos bioativos são cruciais para potencializar ações de seus híbridos, além de fornecer compostos com porções multifunções. Um composto bastante notável por suas propriedades antioxidantes é explorado até hoje nas suas derivatizações e hibridizações com demais compostos orgânicos é o hidroxitolueno butilado, mais usualmente conhecido como BHT.

1.2 HIDROXITOLUENO BUTILADO (BHT): MUITO ALÉM DE UM ADITIVO ALIMENTAR

O processo de oxidação é muitas vezes natural. A oxidação de alimentos – por exemplo – é tão rápida que, para a maior durabilidade do produto, é necessária a adição de antioxidantes. As espécies reativas de oxigênio (EROs) são produtos comuns associados à oxidação e decomposição, e neles têm a presença de radicais livres no seu átomo de oxigênio. Os antioxidantes da família do BHT (hidroxitolueno butilado) possuem a capacidade de capturar esses radicais livres de forma mais rápida que o substrato, impedindo que o mesmo seja

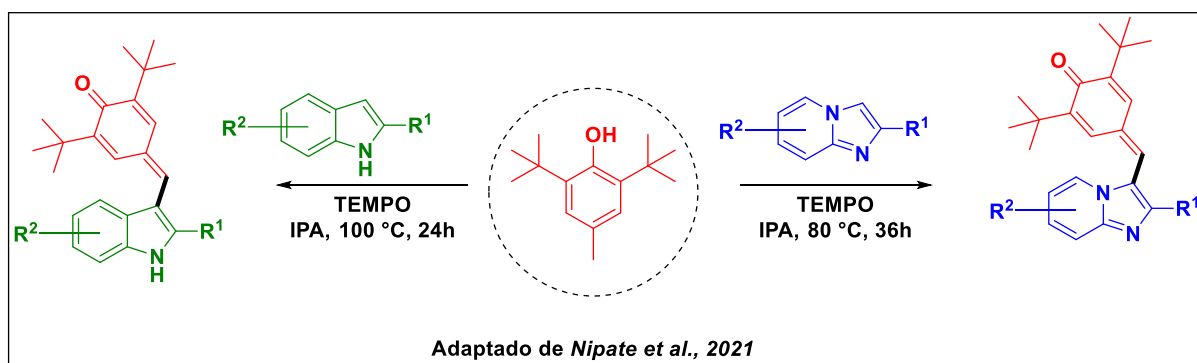
oxidado, resultando em um radical estável. A estrutura fenólica destes antioxidantes, com os grupamentos *tert*-butil em *orto* à hidroxila, impede a interação dos radicais livres com o substrato e, portanto, cessam a reação em cadeia de formação de EROs (YEHYE et al., 2015).

As propriedades antioxidantes do BHT são bastante exploradas, porém algumas aplicações em síntese também vêm sendo estudadas. SHARIF et al., 2019 reportaram que o sal de Na-BHT tem a função de reduzir haletos de arila frente a complexos de paládio, ainda conseguindo recuperar e reutilizar cerca de 80% do Na-BHT, enfatizando a alta atratividade para a indústria pelo baixo custo e reutilização deste material. Este produto ainda foi utilizado por SEMENIUCHENKO; BRAJE; ORGAN, 2021 como base em aminação *solvent-free* catalisada por paládio. Os autores enfatizam que a utilização da base padrão *t*BuOK obteve baixos rendimentos e alta concentração de misturas complexas.

O BHT também é utilizado em testes controle, como ferramenta para elucidação de mecanismos reacionais. XU et al., 2020 reportaram a inserção eletroquímica do grupo trifluormetil (-CF₃) em quinolinonas e, ao utilizar o sequestrante de radicais BHT, conseguiram comprovar que o mecanismo da reação se processa de forma radicalar, com a formação do BHT-CF₃.

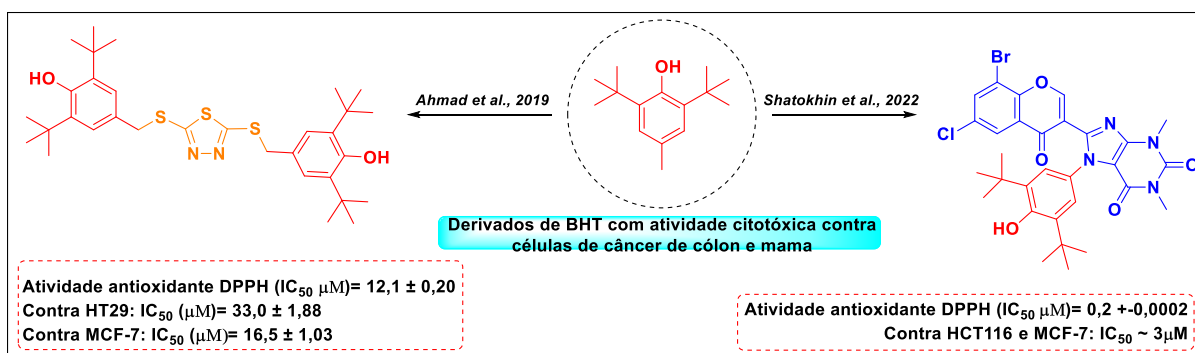
Além disso, o BHT também possui a estrutura que pode estar em sua forma quinoidal, com a oxidação do fenol estericamente impedido. Na reação de NIPATE et al., 2021 é realizado o acoplamento do BHT em indóis e imidazopiridinas através da desidrogenação mediada por TEMPO. O método é considerado suave quando comparado a metodologias reportadas anteriormente, e foi também ampliado para reações em outros compostos heterocíclicos, obtendo bons rendimentos mesmo em ensaios *scale-up* (**Esquema 3**).

Esquema 3. Acoplamento do BHT em indóis e imidazopiridinas.



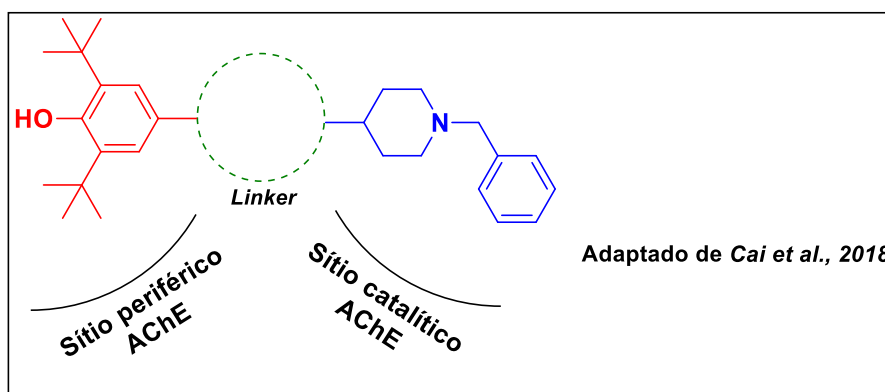
Híbridos moleculares contendo BHT e sulfocompostos são reportados por AHMAD et al., 2019 que demonstraram, além da atividade antioxidante comumente associada por compostos derivados de BHT, atividade citotóxica promissora contra células de câncer de cólon e mama. Os autores ressaltam a similaridade que os resultados das duas aplicações possuem: ambas obtiveram melhores resultados com os derivados que contêm duas porções de BHT frente aos que contêm somente uma (**Esquema 4**). SHATOKHIN et al., 2022 também exploraram ambas as aplicações: hibridização de cromonas, xantinas e BHT foi realizada em uma reação simples de condensação em metanol e utilizando H_2SO_4 como catalisador.

Esquema 4. Exemplos de compostos sintetizados por Ahmad (2019) e Shatokhin (2022).



Outro alvo de derivados de BHT é a atividade anti-Alzheimer. CAI et al., 2018 reportaram a formação de híbridos moleculares entre Donepezila e BHT através de diferentes *linkers* (**Figura 4**). Estes *linkers* permitem que o grupamento farmacóforo da Donepezila permanecesse atuando diretamente no sítio ativo catalítico da AChE, enquanto que o BHT pudesse interagir no seu sítio aniônico periférico – impedindo que este interaja com os peptídeos β -amiloides, impossibilitando a formação de placas e a progressão da doença. A inserção de BHT em ensaios anti-Alzheimer continua sendo um alvo de cientistas que buscam alternativas terapêuticas para esta doença (MAKHAEVA et al., 2020; PASHIROVA et al., 2019).

Figura 4. Planejamento estrutural de Cai (2018) para inibidores bilaterais da AChE.



Além da Donepezila, a hibridização do BHT também foi avaliada com o aminoácido serina e anti-inflamatórios não esteroidais como ibuprofeno e cetoprofeno (THEODOSIS-NOBELOS et al., 2021). Estes híbridos foram promissores não só como antioxidantes, mas também obtiveram potenciais atividades anti-inflamatória e hipolipidêmica, demonstrando que a conjugação de compostos com diferentes funções pode exibir ações farmacológicas múltiplas, podendo ser utilizada para doenças multifatoriais.

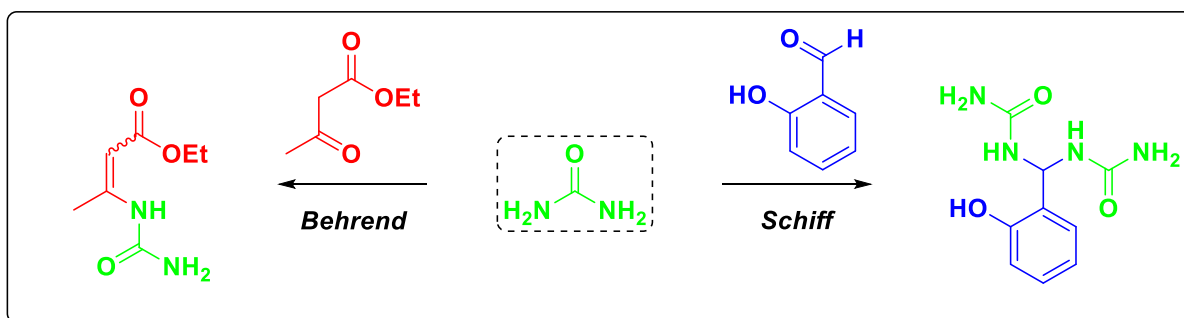
A inserção de BHT não acontece somente na química medicinal. A quitosana é um polissacarídeo que é estudado na preparação de filmes para a formação de embalagens biodegradáveis para alimentos. No estudo de (SUGITA et al., 2020) é demonstrado que a adição de BHT nestes filmes promoveu uma maior atividade antioxidante, o que é crucial para a conservação de alimentos. Apesar dessa adição ter diminuído a labilidade do filme, este é um progresso para a substituição de sacolas plásticas por alternativas sustentáveis.

Além do BHT, temos demais compostos interessantes por suas propriedades farmacológicas e que são importantes salientar como peças valiosas na hibridização molecular, como as diidropirimidinonas, vulgo DHPM.

1.3 DIIDROPIRIMIDINONAS (DHPM): DO ERRO AO ÊXITO

Pietro Biginelli era um químico fascinado pela química de condensação carbonílica. Em seus anos trabalhando em Florença, na Itália, foi influenciado por Behrend - que descobriu a formação de produtos entre ureia e acetoacetatos - e Schiff - que reportou através da reação entre aldeídos e derivados nitrogenados, que a ureia pode reagir duplamente com aldeídos aromáticos e alifáticos para fornecer bisureias simétricas (TRON; MINASSI; APPENDINO, 2011) (**Esquema 5**).

Esquema 5. Reações de Behrend e Schiff que inspiraram Biginelli.



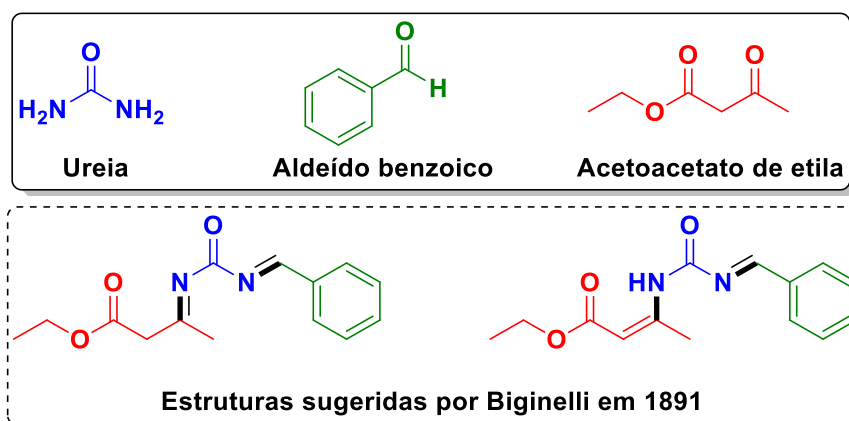
Sua primeira publicação sobre suas famosas ciclizações foi realizada em 1891, porém sua conclusão foi a formação de um produto de condensação linear entre a ureia, aldeído benzoico e o acetoacetato de etila (**Figura 5**). Mesmo após reportar esta reação, Biginelli não se acomodou, algo estava inconsistente. Pietro planejou diversas reações binárias para comprovar a formação do produto em questão. Após esta análise, Biginelli, enfim, descobriu que seu produto era a formação de um heterociclo, e não uma condensação linear, como reportado em 1891 (**Figura 6**) (BIGINELLI, 1893).

“Al composto potrebbe essere attribuita una delle costituzioni seguenti:”

(BIGINELLI, 1891)

Tradução: “Ao composto pode ser atribuída uma das constituições a seguir:”

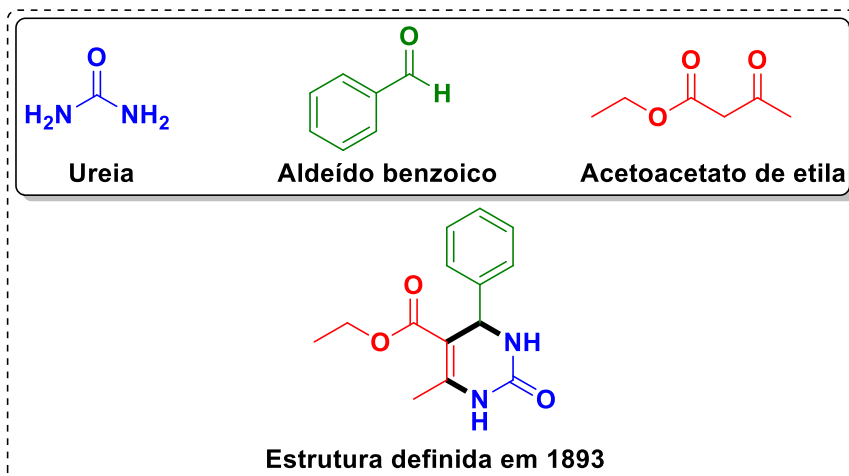
Figura 5. Estruturas propostas por Biginelli em 1891.



“[...] si dovrà ammettere che sempre con uno dei costituenti si può congiungere gli altri due, cioè nel composto formato i tre costituenti sono collegati in catena chiusa. Delle formole di struttura che si potrebbe date, a tale quesito soddisfa meglio la seguente:” (BIGINELLI, 1893)

Tradução: “[...] deve-se admitir que sempre com um dos constituintes pode juntar-se aos outros dois, ou seja, no composto formado os três constituintes estão ligados numa cadeia fechada. Das fórmulas estruturais que poderiam ser dadas, a que satisfaz melhor esta questão é a seguinte:”

Figura 6. Estrutura resolvida por Biginelli em 1893.



O que mais aumentou o interesse da comunidade científica acerca das criações de Biginelli, foi a descoberta do Monastrol em 1999 (MAYER et al., 1999). Este feito é tão grande que houve um salto na quantidade de publicações com o tópico “Biginelli”, de acordo com o *Web of Science* (**Gráfico 2**). Quando a busca foi feita com o tópico Monastrol, foram encontrados mais de 300 artigos publicados desde sua descoberta, há 23 anos atrás, até então. Destes, os países que mais publicam com esse termo são EUA, Índia, China, Brasil, Alemanha e França (**Gráfico 1**).

Gráfico 1. Porcentagem de publicações por país com o termo “*Monastrol*” de acordo com o *Web of Science*.

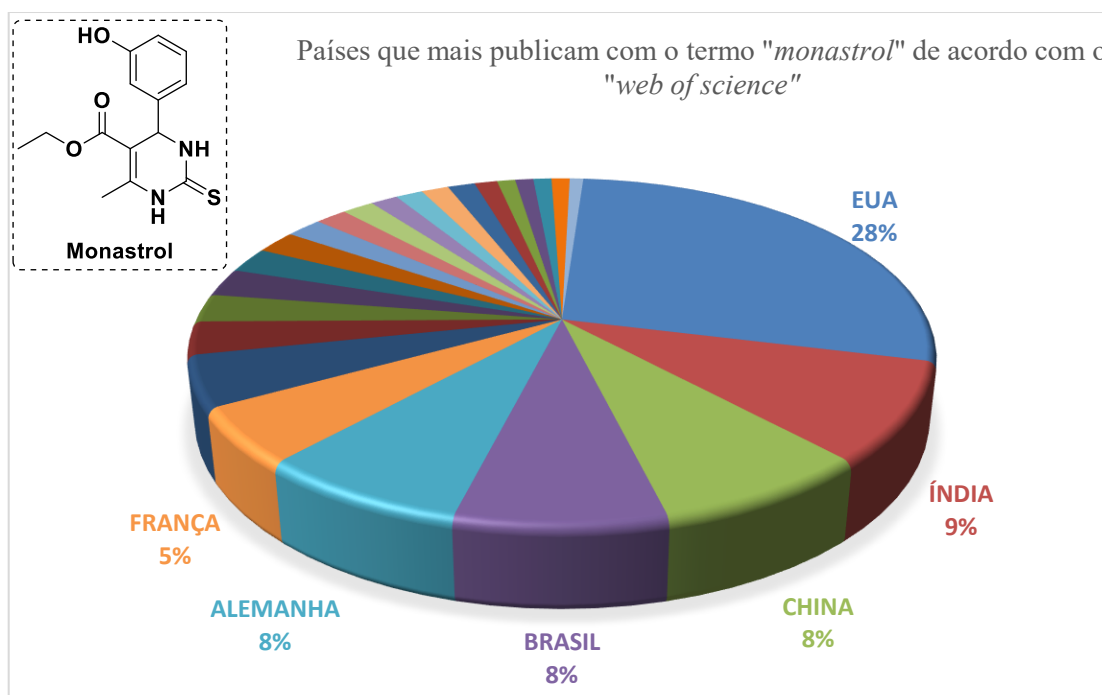
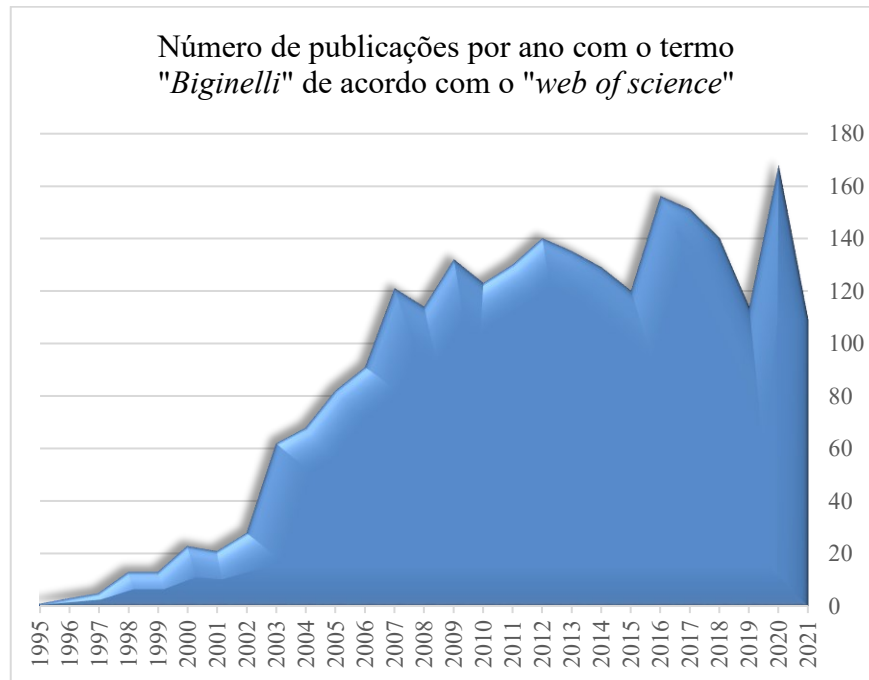
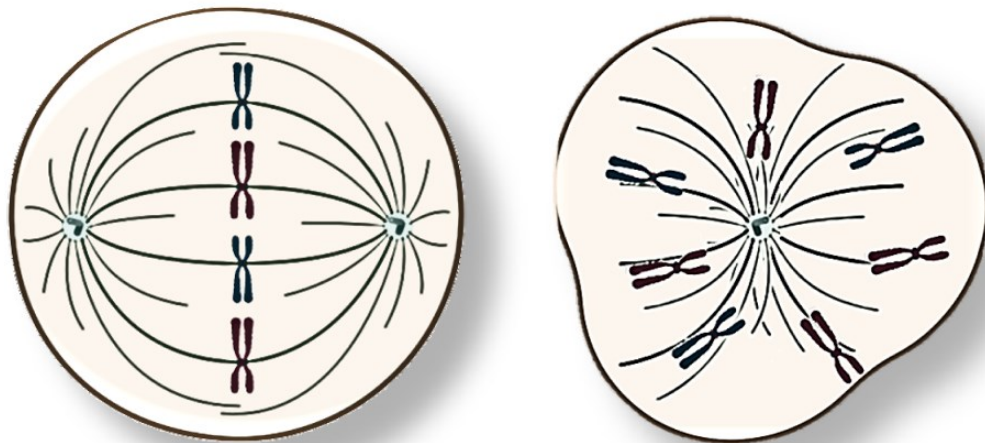


Gráfico 2. Número de publicações por ano com o termo “*Biginelli*” de acordo com o *Web of Science*.



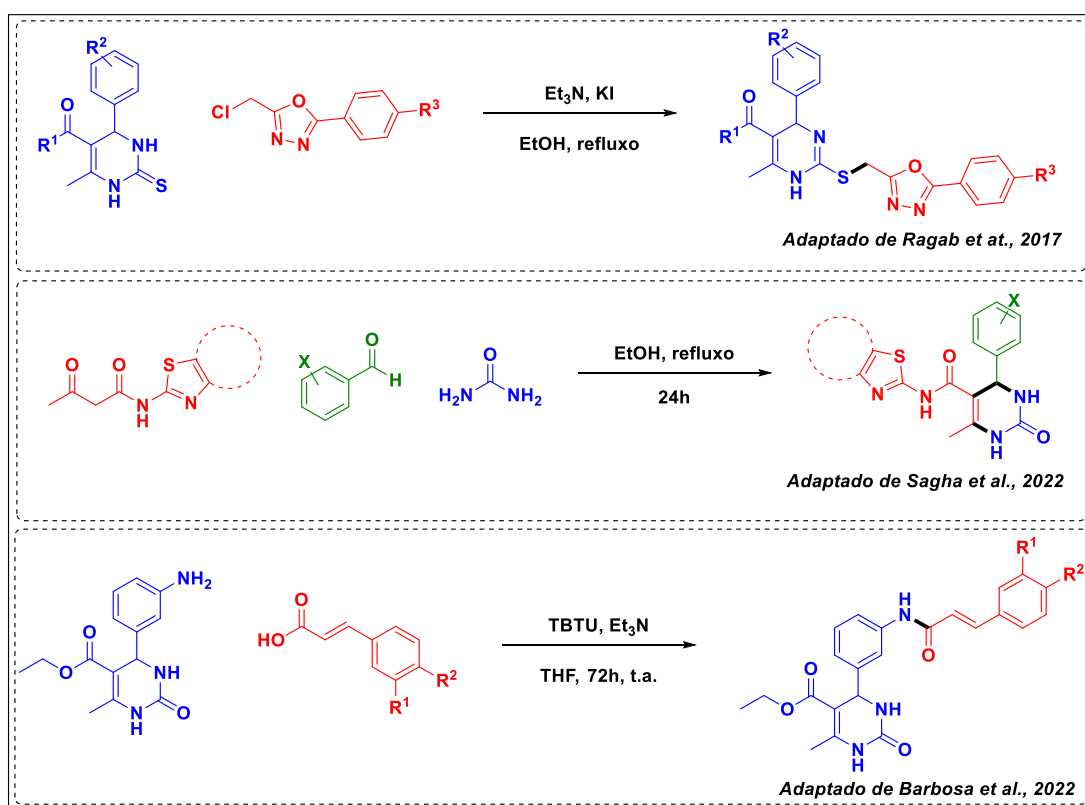
O Monastrol é a primeira molécula inibitória da enzima Eg5. Esta enzima é responsável pela formação do eixo bipolar com fusos equatoriais e separação dos centrossomos (SAWIN et al., 1992). Sem essa separação, a mitose não ocorre, sendo assim interrompida a divisão celular. Desta forma, a ação do Monastrol na enzima Eg5 impede a separação dos centrossomos, acarretando na formação de fusos monoastrais, o que não permite a multiplicação celular. Uma vez que as células cancerosas se multiplicam em uma frequência muito maior que as saudáveis, cessar a mitose possibilita o não alastramento do câncer (**Figura 7**) (MAYER et al., 1999).

Figura 7. Fusos equatoriais em que ocorre a mitose normalmente (a esquerda) e fusos monoastrais (a direita).



O Monastrol então inspirou diversos pesquisadores a investigarem análogos que potencializassem a inibição da Eg5. RAGAB et al., 2017 sintetizaram uma série de híbridos moleculares de diidropirimidinonas e 1,3,4-oxadiazóis que demonstraram elevada citotoxicidade contra leucemia (**Esquema 6a**). SAGHA et al., 2022 reportaram a síntese de DHPM com altos efeitos contra células gástricas de adenocarcinoma humano, além de simulações computacionais da ação destes compostos no sítio alostérico da Eg5 (**Esquema 6b**). A publicação mais recente encontrada sobre o assunto foi de BARBOSA et al., 2022 em que foi reportada a síntese de híbridos moleculares entre DHPM e ácido cinâmico que exibiram efeito antiproliferativo de células de câncer de próstata, além de reportarem propriedades farmacocinéticas ótimas para protótipos de drogas (**Esquema 6c**).

Esquema 6. Síntese de análogos do Monastrol com a função de inibição da Eg5.



Além disso, (BARBOSA et al., 2018) reportaram a síntese de DHPM derivadas da selenoureia, que foram capazes de causar apoptose de células de câncer cervical e de mama. Este composto, além de ser anticarcinogênico, obteve maior seletividade para células tumorais que o fármaco comercial 5-fluorouracil (Utoral ®), o qual é um dos mais empregados no tratamento de tumores sólidos. A incorporação de selênio em DHPM também foi reportada por BENASSI et al., 2020, desta vez na forma de selenoésteres, que demonstraram toxicidade frente

a células de carcinoma hepático e elevada seletividade frente a células cancerosas, tendo este efeito mediante interações com o DNA.

As atribuições das DHPM não se resumem à atividade anticâncer. ARUNKHAMKAEW et al., 2013 reportaram a síntese de híbridos entre DHPM e curcuminoides que apresentaram potente inibição da enzima acetilcolinesterase, inclusive um dos compostos sintetizados se manifestou mais ativo que a galantamina, fármaco utilizado no tratamento da doença de Alzheimer. BARBOSA et al., 2016 relataram a síntese de híbridos de DHPM e selenoésteres como compostos multidirecionados contra o Alzheimer, em que há, além da inibição da AChE, a avaliação de desempenho antioxidante e a aplicabilidade na quelação de ferro.

A grande exploração de atividade para este heterociclo nos abriu muitas opções de direcionamento para a aplicação de novos derivados. Já foram investigadas as atividades anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana, anti-hipertensiva, ação analgésica, anticonvulsante e muitas outras (KAUR et al., 2017; KHASIMBI et al., 2020). No ano de 2022, o foco foi avaliar a ação antiviral.

MANOS-TURVEY et al., 2016 reportaram a síntese de diidropirimidinonas com habilidade de inibir a replicação de poliomavírus humano de forma mais potente que o medicamento Cidofovir. KAOUKABI et al., 2018 sintetizaram híbridos de DHPM com 1,2,3-triazóis que mostraram atividade antiviral contra o vírus da Varicela-Zóster, e enfatizaram que não houve inibição do crescimento celular, ou seja, inibiram o vírus sem que prejudicasse a célula hospedeira.

KIM et al., 2012 reportaram a síntese de DHPM que agem contra a replicação do HIV, e enfatizaram a importância do tiazol na estabilidade metabólica do composto. SARI et al., 2015 publicaram acerca de diidropirimidinas que demonstraram eficiência na inibição do HIV via interação no sítio catalítico da HIV integrase, porém relataram a citotoxicidade que os compostos sintetizados obtiveram nos estudos *in vitro*. Uma razão para esta citotoxicidade pode ser a grande afinidade que estas DHPM oxidadas possuem com o DNA.

SCHMOELLER et al., 2022 estudaram as diferenças entre as DHPM reduzidas e oxidadas. Um grande feito foi a percepção da conformação *pseudo-boat* que as DHPM reduzidas possuem, o que é algo interessante para interação com enzimas. Por outro lado, as DHPM oxidadas possuíam uma maior planaridade no anel pirimidínico e este, por sua vez, acarreta em grandes diferenciações nas atividades destas duas estruturas. As oxidadas

obtiveram uma maior – e mais profunda – interação com o DNA de espermatozoides de salmão, o que pode ser um dos motivos da citotoxicidade encontrada nos produtos de Sari.

Como demonstrado acima, as DHPM são encontradas nas mais diversas funções e estão sempre em ascensão, na atual conjuntura, é relevante adentrar em uma possível futura empregabilidade desta classe de compostos: o atual coronavírus.

1.4 CORONAVÍRUS: OS AVANÇOS DO COMBATE A ESSA AMEAÇA

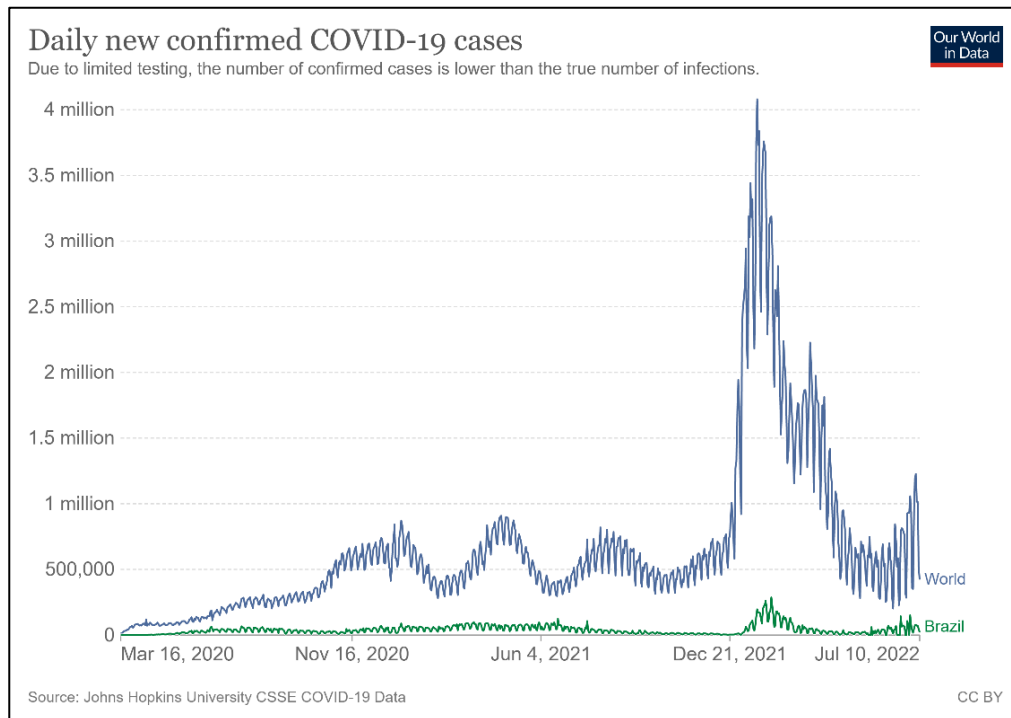
Os coronavírus são vírus envelopados, com uma fita simples de RNA, de polaridade positiva. Possuem aproximadamente 30.000 nucleotídeos, sendo assim considerado o genoma mais longo encontrado em vírus RNA, e também uma das maiores razões de sua alta capacidade de mutação (WOO et al., 2009). Esses vírus são bastante comuns no reino animal, no entanto somente 7 atingem os seres humanos e dentre estes, somente 3 causaram grandes surtos de pneumonia (SU et al., 2016).

A primeira epidemia relacionada ao coronavírus foi em 2002-2003, começou na China e em três meses o surto de síndrome respiratória aguda grave (SARS) foi espalhada mundialmente. Em um semestre, estava reportada a presença do vírus em 26 países, onde causou cerca de 8096 casos de infecção e 774 mortes (MULLER; MCGEER, 2007).

A segunda foi iniciada no oriente médio, em 2012, e devido à geografia foi denominada MERS (síndrome respiratória do oriente médio). Até maio/2015, cerca de 1180 casos foram reportados, e 483 mortes. No oriente médio ainda existem novos casos da doença até hoje (ZUMLA; HUI; PERLMAN, 2015).

A terceira foi a recente pandemia do SARS-CoV-2, iniciada em dezembro de 2019, na China, e que de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) contabilizou mais de meio bilhão de casos positivos e mais de 6 milhões de mortes ao redor do mundo. Dentre estes números, 30.000.000 de casos e mais de 600.000 mortes foram somente no Brasil até junho/2022 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

Figura 8. Casos diários confirmados de COVID-19 no Brasil (linha verde) e mundo (linha azul).



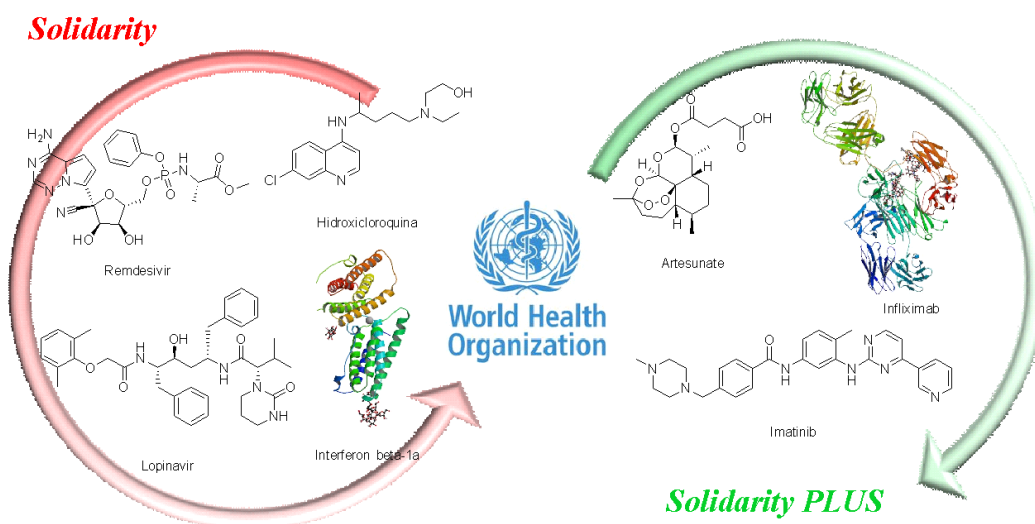
Fonte: Our World in Data. (Dados extraídos em 12/07/2022).

Essa ameaça global mobilizou grupos científicos do mundo todo na procura de medicamentos a prevenção e tratamento contra o vírus. Um dos focos foi a busca por medicamentos que inibissem a replicação do vírus. Com a gravidade da situação, várias conclusões precipitadas foram tomadas, como por exemplo, a utilização de hidroxiquina (HCQ) para tratamento de COVID-19 (GOVERNO FEDERAL DO BRASIL, 2020). Diversos estudos com este (e outros) fármacos foram realizados *in vitro*, porém, somente com HCQ tiveram estudos *in vivo* dentre os agentes antiparasitários estudados contra o atual coronavírus (RAKEDZON et al., 2021). Apesar disso, estudos clínicos indicaram resultados conflitantes acerca da eficácia da HCQ (BOULWARE et al., 2020; LYNGBAKKEN et al., 2020; PACCOUD et al., 2021; YU et al., 2020).

A OMS criou, então, a *Solidarity*, uma colaboração internacional para identificar tratamentos para o COVID-19 em larga escala, com controle randomizado. Neste estudo, foram analisados mais de 11000 adultos, em 405 hospitais, de 30 países, e concluiu-se que os medicamentos avaliados (Remdesivir, HCQ, Lopinavir e Interferon beta-1a) não reduziram a mortalidade e nem o agravamento da infecção pelo SARS-CoV-2 (PAN et al., 2021). Após este resultado frustrado, a OMS começou o projeto *Solidarity PLUS*, com os fármacos Artesunato,

Imatinibe e Infiximabe, na tentativa de sucesso no combate ao novo coronavírus(WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

Figura 9 Medicamentos testados nos estudos da *Solidarity* e *Solidarity PLUS* da OMS



Além do *Solidarity PLUS*, são publicados, diariamente, novos estudos acerca de drogas com potencial anti-COVID-19. Uma das formas mais citadas de combate a esse vírus é a inibição de sua proteína principal (M^{pro}) (ALI et al., 2022; HUFF et al., 2022; JIN et al., 2020). A utilização de estudos computacionais e *in vitro* são cruciais para a descoberta de novos inibidores da M^{pro} , que podem, então, prosseguir para estudos clínicos precisos para a concretização de fármacos seguros e eficazes contra o SARS-CoV-2 (ZHAO; LI; ZHONG, 2022).

Um elemento que ganhou destaque na busca por potenciais inibidores deste vírus é o selênio, porém, antes de seguir diretamente para a utilidade de seus derivados no combate ao novo coronavírus, é importante salientar sua descoberta e principalmente o papel dos pesquisadores brasileiros que exploram este elemento há décadas em nosso país.

1.5 A QUÍMICA DO SELÊNIO NO BRASIL: UMA TENDÊNCIA QUE VEIO PRA FICAR

No ano de 1817, o professor de química Jöns Jacob Berzelius ficou curioso em relação a sedimentos marrom-avermelhados que encontrou no fundo das câmaras que produziam ácido sulfúrico na fábrica em que o mesmo tinha ações. Ele coletou uma parte e levou a Estocolmo

para estudar mais a fundo. Berzelius reparou na similaridade do cheiro forte com o de telúrio, e ao perceber que se tratava de um novo elemento, nomeou o mesmo como selênio (do grego *selene*, que significa Lua), para dar um contraste com o nome telúrio (do latim *tellus*, que significa Terra) (EMSLEY, 2001).

Quase 20 anos depois, o dietilseleneto, primeiro selenocomposto, foi sintetizado com suas características brevemente descritas por LÖWIG, em 1836. Logo após, em 1847, foram sintetizados o etilselenol e também o produto da reação do mesmo com Hg(II) formando um complexo de coordenação (ROCHA; PICCOLI; OLIVEIRA, 2016).

O desenvolvimento tardio da química de selênio foi devido, principalmente, às publicações acerca da toxicidade deste elemento. Somente em 1949 foi reportado que o selênio era um dos fatores para a proteção contra necrose fatal no fígado de ratos. Após, vários estudos relataram que a deficiência deste calcogênio estava relacionada com diversas doenças como hepatose dietética em porcos e degeneração pancreática em aves (ZANE DAVIS; HALL, 2011).

A história do selênio no Brasil iniciou-se em 1934, juntamente com a primeira universidade brasileira, a Universidade de São Paulo (USP). O professor alemão, Heinrich Rheinboldt desenvolveu sua linha de pesquisa na USP na química de selênio e telúrio, e até seu leito de morte defendeu ferrenhamente este tema, publicando estudos e avançando na ciência destes calcogênios, e com a formação de profissionais qualificados, como, por exemplo, os professores Moura Campos e Nicola Petragani.

Entre as décadas de 60-80, o professor Nicola Petragani e seu ex-doutorando, professor João Valdir Comasseto, levaram adiante seus conhecimentos em química sintética envolvendo compostos de selênio e telúrio, com a formação de vários doutorandos (COMASSETO, 2010). No entanto, a química destes compostos ganhou um grande impulso somente a partir do final dos anos 80, na UFSM, através da publicação dos resultados de vários estudos bioquímicos realizados nos laboratórios dos professores João Batista Rocha e Antonio Luiz Braga, ex-doutorando do professor Comasseto (BARBOSA et al., 1998).

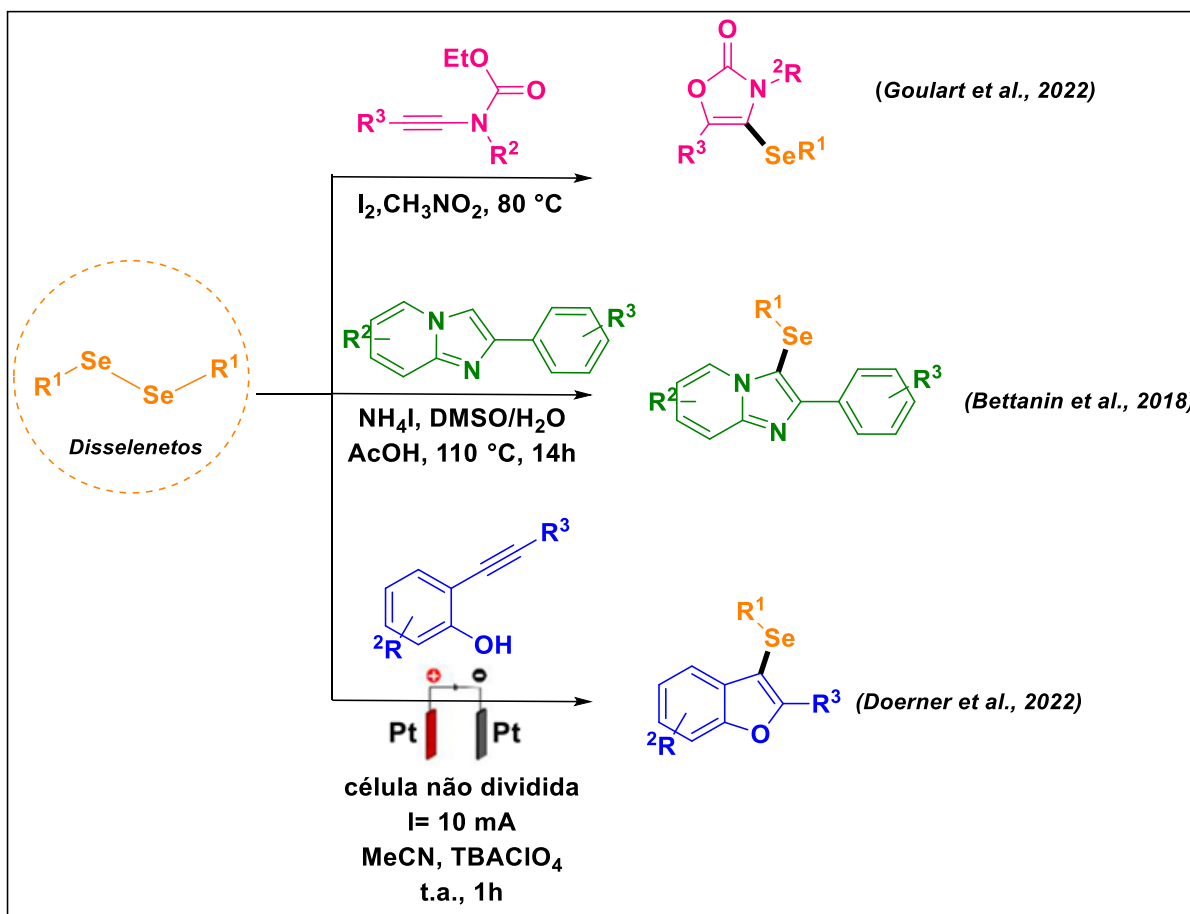
Essa tradição nos estudos dos compostos orgânicos de selênio e derivados estão permeados em diversos grupos de pesquisa produtivos no Brasil, principalmente na região Sul-Sudeste, ainda com grande ênfase na UFSM, envolvendo os laboratórios dos professores João Batista Rocha, Gilson Zeni, Cristina Nogueira, Ernesto Lang, Claudio Silveira, dentre outros. É importante salientar que hoje o Brasil é um dos principais centros mundiais de estudos

envolvendo essa classe de compostos, tanto do ponto de vista sintético, com de estudos bioquímicos.

A título de exemplo, recentemente, GOULART et al., 2022 publicaram a síntese de oxazolonas contendo compostos organoselênio, a partir de uma ciclização nucleofílica intramolecular regioseletiva com rendimentos de até 93% (**Esquema 7**). BETTANIN et al., 2018 reportaram uma metodologia geral para a calcogenação *metal-free* de ligação C_{(sp²)-H} de N-heteroarilas de 5 membros, catalisada por NH₄I com rendimentos de até 87% (**Esquema 7**). Outros trabalhos *metal-free* de selenilação de heteroarenos estão reportados no *review* de SCHUMACHER et al., 2021.

A crescente onda de sustentabilidade ambiental *green chemistry* tem trazido inovações e reinvenções na tentativa de encontrar metodologias consistentes com a química atual, incluindo técnicas de *flow chemistry*, eletrossíntese, fotoquímica, sonoquímica, irradiação microondas, entre outros (AZEREDO et al., 2022). Um recente trabalho publicado no nosso grupo de pesquisa, LabSelen (Laboratório de síntese de derivados de selênio e telúrio), utilizou a eletrocatalise para a realização de ciclização intramolecular de 2-alquinil-fenois empregando e anexando em sua estrutura grupamentos organoselênio, com rendimentos de até 98% (**Esquema 7**) (DOERNER et al., 2022).

Esquema 7. Exemplos de reações com disselenetos.

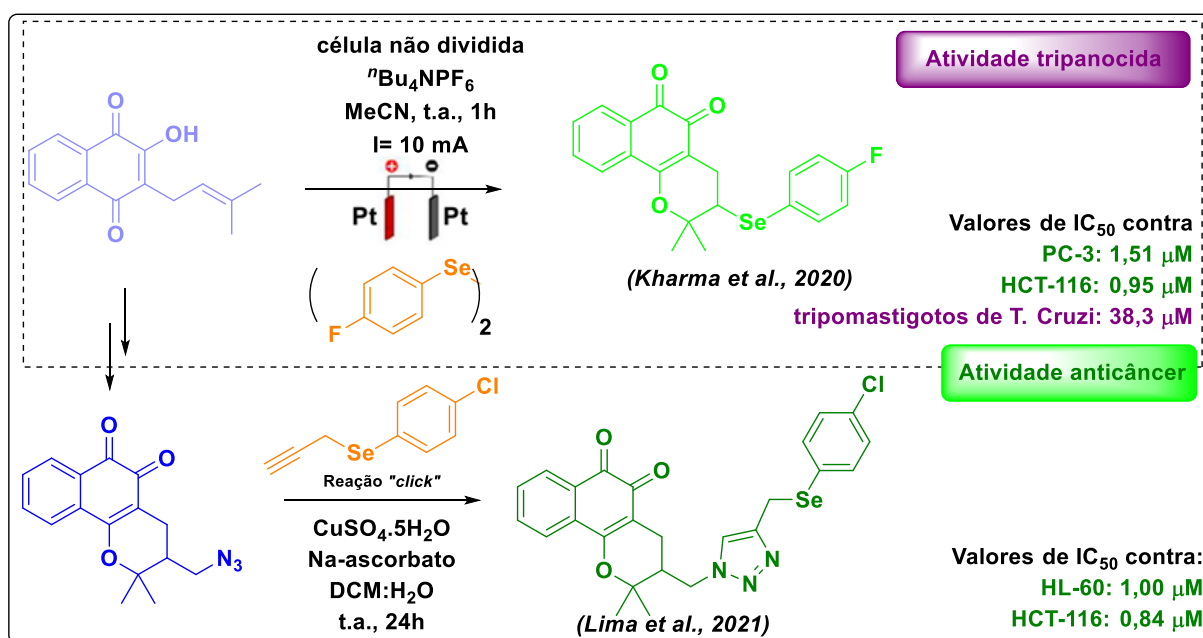


Uma das aplicações mais estudadas em relação a derivados de selênio é a mimetização da glutathiona peroxidase (GPx) – uma selenoenzima responsável pela redução de peróxidos, imprescindível para a proteção contra estresse oxidativo. O mecanismo catalítico da GPx foi revisado em estudos de nosso grupo de pesquisa em 2012, e foi demonstrado, então, a oxidação de tióis a dissulfetos através de intermediários hidroxiperidroxiselenanas, e não diretamente por selenóxidos, como aceito anteriormente pela comunidade científica (NASCIMENTO et al., 2011). Após esta revisão, nosso grupo também reportou a síntese de outros miméticos da GPx, sendo inclusive o melhor deles várias vezes mais efetivo que os padrões ebselen e disseleneto de difenila (BOTTESELLE et al., 2021).

Por outro lado, também é conhecido que as células cancerosas são identificadas pelo elevado e desordenado crescimento, além da alta concentração de EROs. Além de atuarem na redução de EROs, como antioxidante, os compostos organosselênio, também possuem citotoxicidade frente a estas células.

LIMA et al., 2021 reportaram a síntese de 47 novos compostos derivados de quinona via reação *click*, salientando a inserção de um segundo centro ativo redox na estrutura – um grupamento organoselênio. Os compostos sintetizados foram reportados com rendimentos de até 99%, e 22 deles apresentaram citotoxicidade contra células cancerosas e uma alta seletividade, com baixa toxicidade em células saudáveis (**Esquema 8**). A eletrossíntese também tem sido utilizada com o propósito de sintetizar compostos organoselênio. KHARMA et al., 2020 reportaram que a selenação/ciclização eletroquímica de quinonas fornecendo compostos selenilados com ação contra cinco linhagens de células cancerosas, e ainda com ação contra o parasita *Trypanosoma Cruzi*, causador da doença de Chagas (**Esquema 8**).

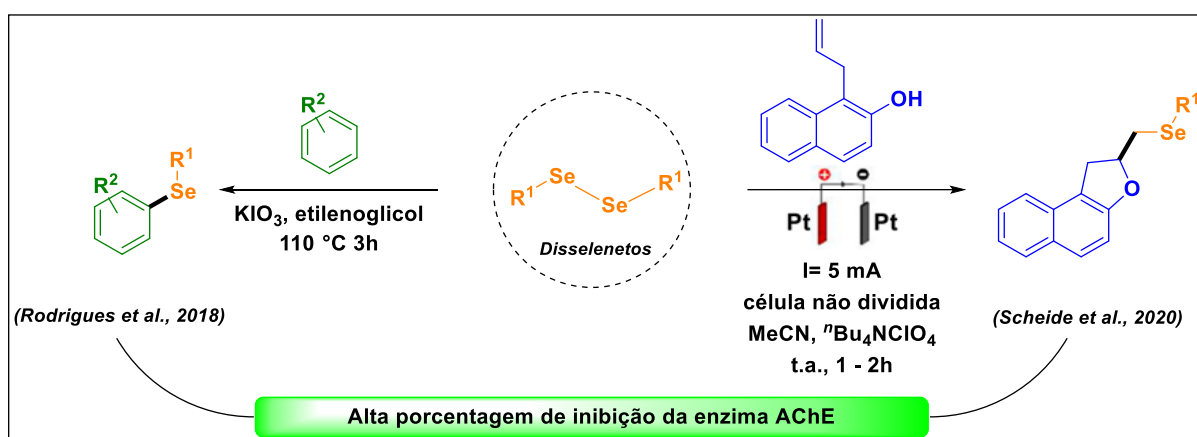
Esquema 8. Metodologias para síntese de Seleno-Quinonas



Outro alvo importante de compostos organoselênio é a enzima acetilcolinesterase (AChE) (BARBOSA et al., 2016; CANTO et al., 2014; HERTZOG DA SILVA LEME; CARDOSO, 2020; WILHELM et al., 2020). A AChE é responsável pela inativação do neurotransmissor acetilcolina (ACh) cessando o impulso nervoso, e assim promovendo o equilíbrio do cérebro saudável. Porém, em pacientes com Alzheimer, o aumento de sinapses colinérgicas é crucial para o retardamento da morte de células neuronais, ou seja, a inibição da AChE torna-se um meio terapêutico contra a doença de Alzheimer. Esse efeito cognitivo é alcançado hoje em dia com um inibidor comercial vastamente aplicado: a Donepezila (ALVES et al., 2012).

Devido a interação que o selênio possui na inibição da AChE, a síntese de selenocompostos tem uma grande tendência a ser seguida por ensaios anti-Alzheimer. RODRIGUES et al., 2018 reportaram uma nova metodologia de calcogenação de hetero(arenos) catalisada por KIO_3 . Os produtos foram obtidos de forma regioseletiva com rendimentos de até 99% (**Esquema 9**). SCHEIDE et al., 2020 reportaram a selenofuncionalização de derivados alil-naftóis/fenóis via eletrossíntese, uma abordagem *eco-friendly* com rendimentos de até 99%. Ambos os trabalhos obtiveram compostos derivados de selênio com altas porcentagens de inibição da AChE, enfatizando suas potenciais atividades Anti-Alzheimer (**Esquema 9**).

Esquema 9. Exemplos de formações de organosselênio com ação de inibição da AChE.



1.6 COMO SERÁ O FUTURO DOS SELENOCOMPOSTOS PÓS COVID-19?

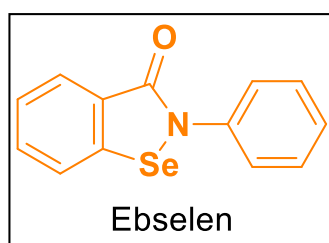
Além das inúmeras aplicações já conhecidas, os compostos selenados estão se mostrando promissores, também, em relação ao SARS-CoV-2. WANG et al., 2020 reportaram a síntese de uma nanopartícula de selênio que se mostrou eficiente na detecção de antígenos e anticorpos anti-SARS-CoV-2 em soro e sangue humanos. Além disso, pacientes com o novo coronavírus tiveram suas concentrações de selênio analisados em dois estudos, o primeiro no soro e o segundo nos fios de cabelo, e a conclusão em ambos foi que pacientes que possuíam maiores concentrações de selênio tiveram a tendência de maiores chances de cura (MOGHADDAM et al., 2020; ZHANG et al., 2020).

HIFFLER; RAKOTOAMBININA, 2020 deduziram que o motivo desta correlação estivesse interligado com a propriedade de inibição de NF-kb que o selênio possui. NF-kb é um complexo proteico que tem como função a resposta celular ao estresse oxidativo, ROS, citosinas, antígenos virais, entre outros. Em contato com coronavírus, as proteínas deste

intensificam a ação da NF-kb, provocando uma resposta imune desregulada. O estudo de DEDIEGO et al., 2014 reportou o estudo *in vivo* relacionando a inibição da NF-kb em ratos contaminados com SARS-CoV-1, e demonstrou um menor agravamento da doença em relação aos grupos que não continham inibidores desta proteína.

Aliado a estes fatores, temos o conhecimento da presença de um resíduo de cisteína no sítio ativo da M^{pro} do SARS-CoV-2. A presença deste aminoácido abre portas para a introdução de inibidores contendo selênio devido à alta afinidade que o mesmo tem com estes resíduos de aminoácido. Alguns estudos foram reportados acerca da capacidade de inibição altamente eficiente da M^{pro} pelo Ebselen (Figura 10) (MENÉNDEZ et al., 2020; SIES; PARNHAM, 2020).

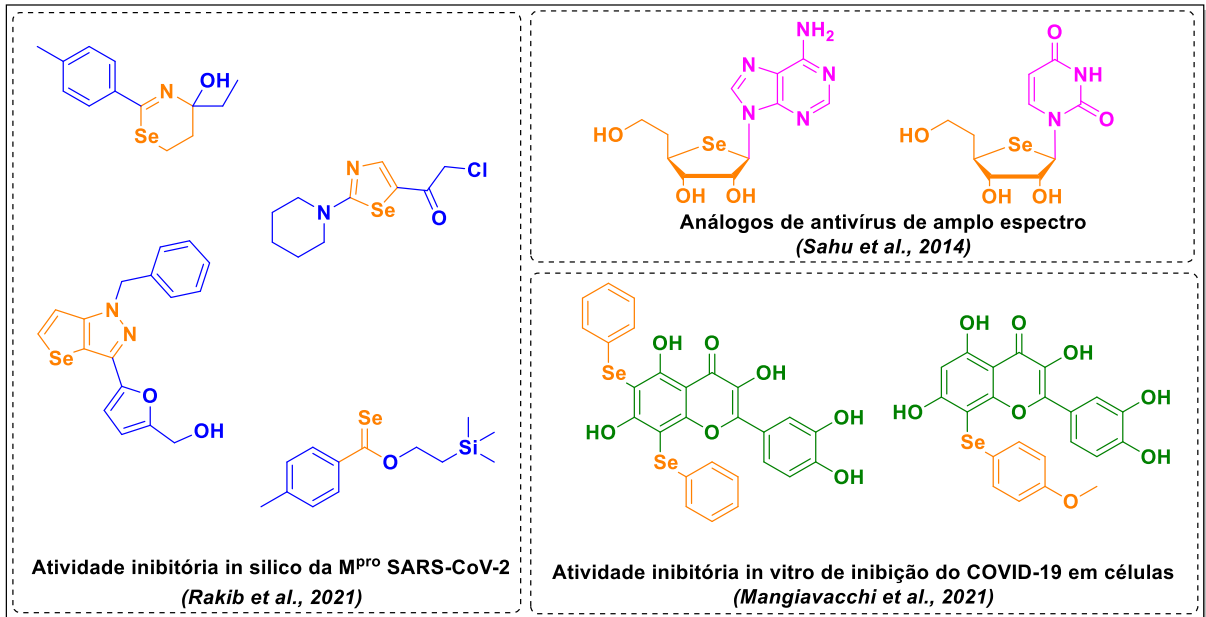
Figura 10. Estrutura do Ebselen.



Este resultado abriu espaço para o estudo das relações de estrutura/atividade na síntese de novas estruturas derivadas do Ebselen a serem avaliadas como inibidoras da M^{pro}, a fim de aprimorar a seletividade e a inibição em relação ao mesmo (SANTI; SCIMMI; SANCINETO, 2021; SUN et al., 2021; THUN-HOHENSTEIN et al., 2022). O mecanismo químico da ação do Ebselen na cisteína da M^{pro} comprova a grande afinidade entre esses calcogênios (AMPORNDANAI et al., 2021).

Outras alternativas de inibidores da M^{pro} contendo selênio foram reportadas por MANGIAVACCHI et al., 2021. Os autores indicaram que a funcionalização da quercetina contendo um grupamento organoselênio foi crucial para o aumento da atividade inibitória *in silico* e em células, além da demonstração de não citotoxicidade. Este feito abre alas para a inserção de grupamentos organoselênio em uma vasta gama de outras substâncias que, inclusive, já demonstraram atividade inibitória frente a esta enzima (POTSHANGBAM et al., 2021; ZHANG et al., 2022) ou demais estruturas com atividade antiviral e, principalmente, anti SARS-CoV-2 (Figura 11).

Figura 11. Exemplos de compostos organoselênio antivirais.



2 OBJETIVOS

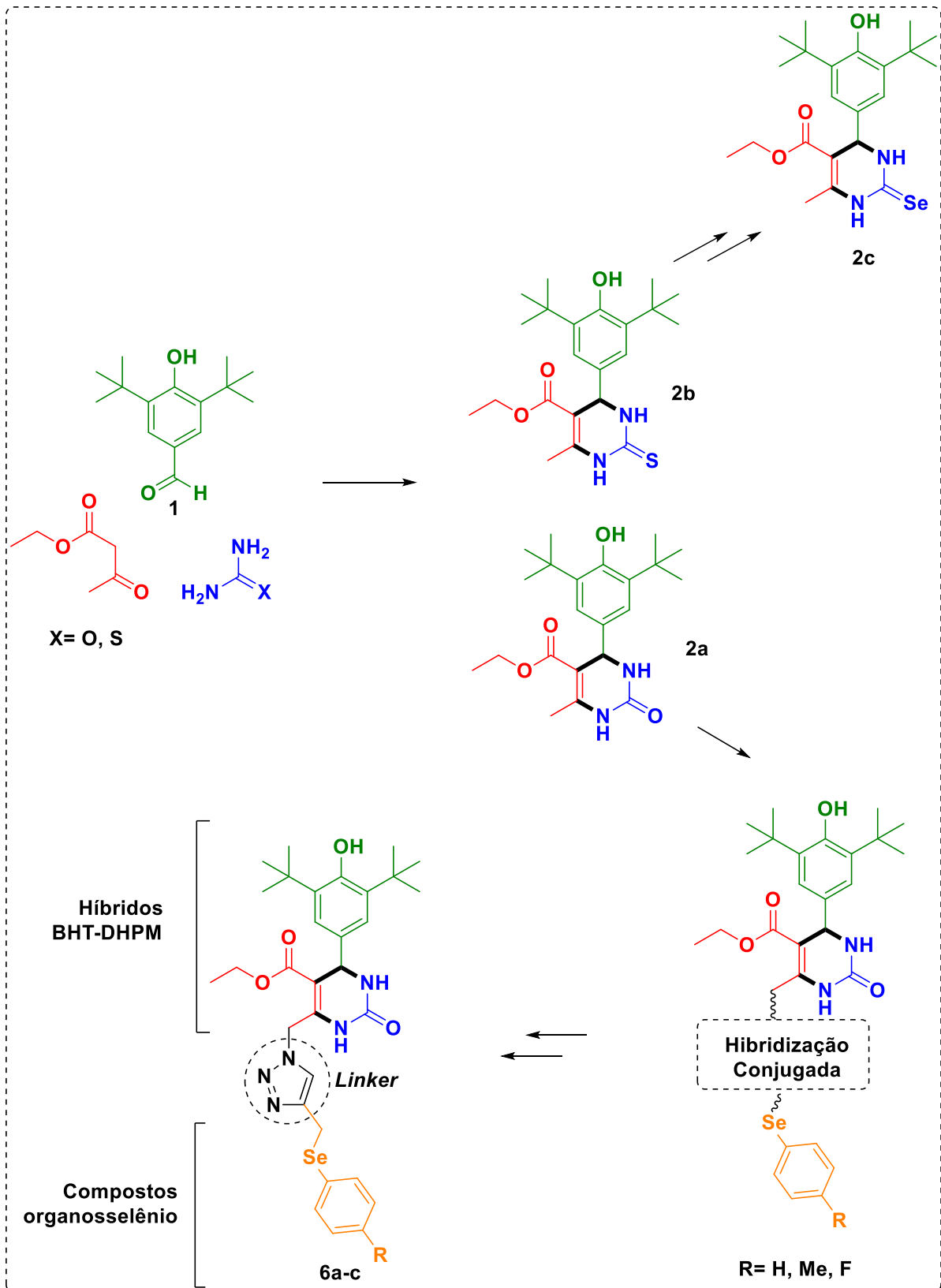
2.1.1 Objetivo Geral

O principal objetivo desta dissertação envolve a síntese, caracterização e avaliação de inibidores do SARS-CoV-2 empregando híbridos moleculares entre compostos com propriedades antioxidante (BHT), esqueletos heterocíclicos com ampla aplicação (DHPM) e os compostos derivados organosselênio, na síntese de moléculas potencialmente bioativas.

2.1.2 Objetivos Específicos

- Preparação dos adutos de Oxo-, Tio- e Seleno-diidropirimidinonas com BHT;
- Síntese dos adutos Azido- Oxo-diidropirimidinonas com BHT;
- Síntese dos selenetos propargilados;
- Execução de reações do tipo “*Click*” com os derivados Azido e selenetos propargilados;
- Caracterização por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C ;
- Avaliação da atividade inibitória da M^{pro} do SARS-CoV-2 e sua relação estrutura atividade em colaboração com laboratórios parceiros;

Esquema geral da rota sintética do escopo deste projeto



3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 PROCEDIMENTOS GERAIS

Os reagentes utilizados foram oriundos de fontes comerciais como Acros e Sigma Aldrich, e foram aplicados sem demais purificações.

Os solventes orgânicos, provenientes das empresas Quimidrol, Vetec e Synth, foram inicialmente purificados por destilação simples para serem empregados nos meios reacionais, nas purificações por coluna cromatográfica e nas extrações líquido-líquido.

As especificações técnicas dos evaporadores rotativos à vácuo utilizados são: marca M Büchi (modelo HB-140) e marca IKA (modelo RV10).

A linha de vácuo empregada na secagem dos solventes residuais nos produtos purificados, está munida de uma bomba de alto-vácuo da marca Vacuumbrand (modelo RD 4, 4,3 m³/h).

As análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono (RMN de ¹H e ¹³C) foram executadas em um espectrômetro da marca Bruker.

As análises de espectroscopia de infravermelho (IV) foram efetuadas com o espectrofotômetro de infravermelho da marca ABB (modelo FTLA 200), oriundo da Central de Análises do Departamento de Química da UFSC.

As análises de espectrometria de massas de alta resolução foram executadas nos modos ESI+, ESI- e APPI em um espectrômetro da marca Xevo G2-S QTOF (Waters).

As análises de ponto de fusão foram sucedidas através do equipamento da marca MicroQuímica (modelo MQAPF-301) sem prévia calibração.

A purificação dos compostos foi realizada por técnicas de recristalização – quando possível – e cromatografia em coluna, utilizando como fase estacionária gel de sílica 60, 0,05-0,1 mm – 130-270 *mesh*.

Para o monitoramento das reações, foram realizadas análises de cromatografia em camada delgada (CCD) com revelações sob luz-ultravioleta, câmara de iodo e aquecimento em vanilina.

As vidrarias empregadas nas reações em atmosfera inerte foram antecipadamente secas em forno à 150 °C e utilizou-se técnica de lâmina de argônio.

3.2 SÍNTESE DOS MATERIAS DE PARTIDA

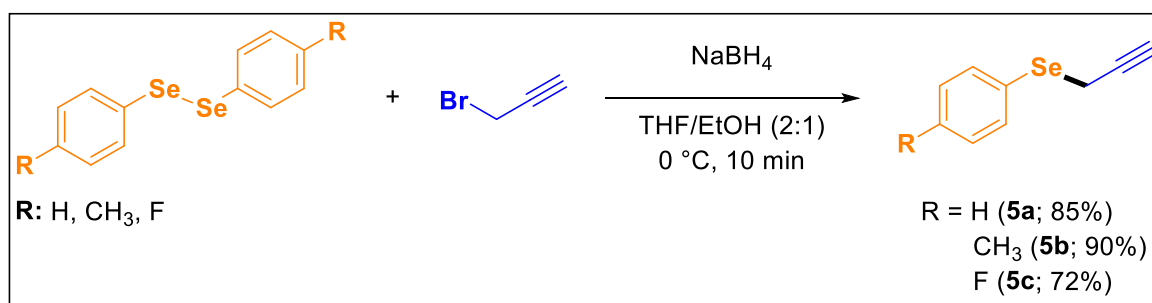
Os materiais de partida foram sintetizados de acordo com os protocolos descritos a seguir, seguindo a literatura.

3.2.1 Síntese dos disselenetos de diarila

Disselenetos foram sintetizados via reação de Grignard seguida por reação com selênio em pó (200 mesh) (REICH; RENGA; REICH, 1975).

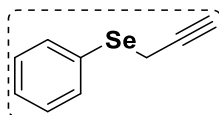
3.2.2 Síntese dos selenetos propargilados (5a-c)

Esquema 10. Síntese dos selenetos propargilado (5a-c).



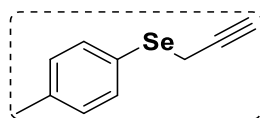
Os selenetos propargil-substituídos **5a-c** foram sintetizados de acordo com a literatura (REICH et al., 1981). Em um balão de duas bocas acoplado a linha de argônio, foi adicionado o disseleneto correspondente (5 mmol) e NaBH₄ (10 mmol) em 60 mL da solução de THF/EtOH (2:1), seguido pela adição lenta de brometo de propargila (10 mmol). Após reagir por 10 minutos, a reação foi extraída 3 vezes com EtOAc e salmoura, a fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e evaporada. O produto bruto foi purificado por coluna cromatográfica utilizando *n*-hexano como eluente.

Figura 12. Estrutura do seleneto propargilado **5a**.



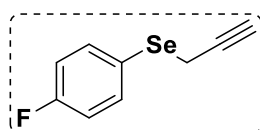
Fenil(prop-2-in-1-il)selano (5a): RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 7,67 – 7,59 (m, 2H); 7,37 – 7,29 (m, 3H); 3,51 (d, *J* = 2,7 Hz, 2H); 2,27 (t, *J* = 2,7 Hz, 1H). RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ 133,39; 129,25; 129,64; 127,84; 80,97; 71,88; 12,45.

Figura 13. Estrutura do seleneto propargilado **5b**.



Prop-2-in-1-il(*p*-toluil)selano (5b**):** RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ 7,54 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H); 7,15 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H); 3,47 (d, $J = 2,6$ Hz, 2H); 2,37 (s, 3H); 2,27 (t, $J = 2,7$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ 138,02; 133,96; 130,03; 125,77; 81,13; 71,77; 21,25; 12,72.

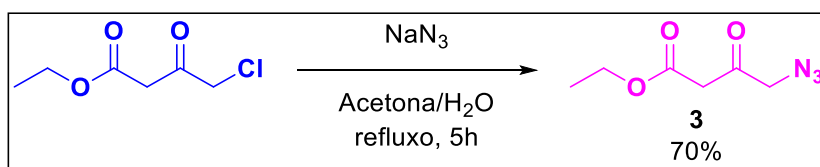
Figura 14. Estrutura do seleneto propargilado **5c**.



(4-fluorfenil)(prop-2-in-1-il)selano (5c**):** RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ 7,67 – 7,55 (m, 2H); 7,01 (t, $J = 8,7$ Hz, 2H); 3,43 (d, $J = 2,6$ Hz, 2H); 2,24 (t, $J = 2,7$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ 162,90 (d, $J_{\text{C-F}} = 248,1$ Hz); 136,27 (d, $J_{\text{C-F}} = 7,9$ Hz); 123,67 (d, $J_{\text{C-F}} = 3,6$ Hz); 116,28 (d, $J_{\text{C-F}} = 21,6$ Hz); 80,66; 71,94; 13,05.

3.2.3 Síntese do 4-azido-3-oxo-butanoato de etila (**3**)

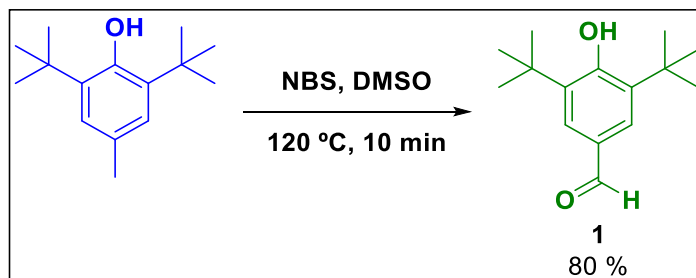
Esquema 11. Síntese do composto **3**.



O composto **3** foi sintetizado seguindo a literatura (CHEN et al., 2009). Em um balão de 100 mL, sob agitação, acoplado a um condensador de refluxo, foi adicionado o 4-cloro-3-oxo-butanoato de etila (20 mmol) e uma mistura de acetona e água (6:2), e então foi adicionada a azida de sódio (22 mmol). Após 5h sob refluxo, foi removida a acetona no evaporador rotativo sob baixa pressão, e a fase aquosa restante foi extraída 3x com EtOAc. A fase orgânica foi seca em MgSO_4 , filtrada e evaporada. O produto bruto foi purificado por coluna cromatográfica 9:1 (*n*-hexano/EtOAc). Rendimento 70%. RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 4,28 (s, 2H); 4,11 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H); 3,63 (s, 2H); 1,20 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 198,50; 166,62; 60,77; 56,91; 46,17; 13,87.

3.2.4 Síntese do 3,5 di-*tert*-butil-4-hidroxi-benzaldeído (1)

Esquema 12. Síntese do composto 1.

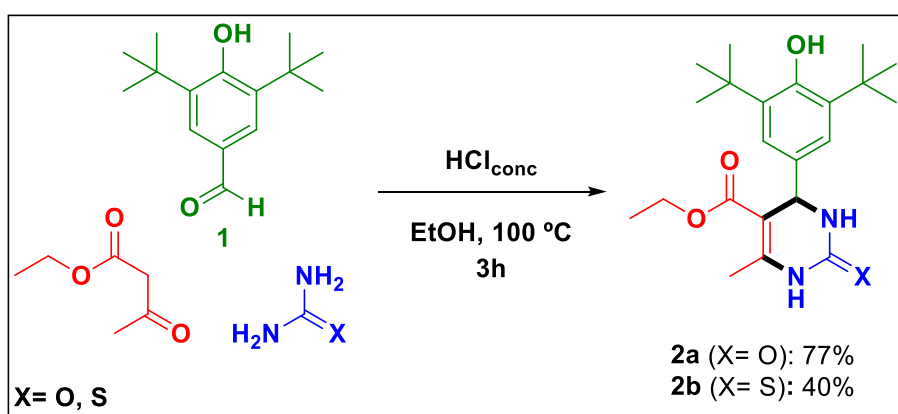


A oxidação do BHT foi realizada de acordo com a literatura (BAIK et al., 2000). A uma solução de BHT (30 mmol) em 90 mL de DMSO, foi adicionado NBS recristalizado (36 mmol), e então a mistura reacional foi aquecida a 120 °C por 10 minutos. Após, foi feita a precipitação do produto bruto em água destilada. Então o sólido foi filtrado sob vácuo e lavado diversas vezes com água e, por fim, com hexano. O produto foi purificado por cromatografia em coluna cromatográfica 9:1 (*n*-hexano/EtOAc). Rendimento 90%. RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ 9,85 (s, 1H); 7,72 (s, 2H); 5,88 (s, 1H); 1,47 (s, 18H). RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ 191,91; 159,81; 136,71; 128,92; 127,77; 34,49; 30,21.

3.2.5 Procedimentos Gerais na Síntese das DHPM-BHT

3.2.5.1 Síntese das Oxo-, Tio-DHPM-BHT

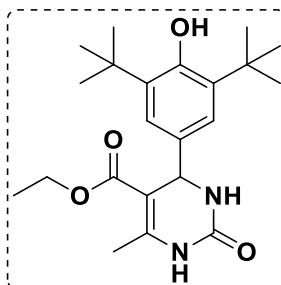
Esquema 13. Síntese das diidropirimidinonas 2a e 2b.



O procedimento para a formação das diidropirimidinonas **2a** e **2b** seguiu a literatura (BARBOSA et al., 2016). Em um balão de duas bocas, foram adicionados o BHT-aldeído **1** (10 mmol), o etilacetoacetato (10 mmol) e a ureia para obtenção do composto **2a** (20 mmol) ou

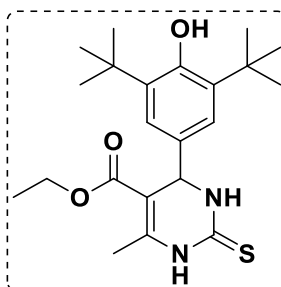
tiourea para obtenção de **2b** (20 mmol), além de 5 gotas de HCl concentrado para catalisar a reação. A mistura reacional foi aquecida a 100 °C por 3h e após foi precipitada em água gelada. Os compostos foram purificados por coluna cromatográfica 8:2 (*n*-hexano/EtOAc).

Figura 15. Estrutura da diidropirimidinona 2a.



4-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxifenil)-6-metil-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato de etila (2a): Rendimento 77%. Sólido amarelo claro. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,16 (s, 1H); 7,64 (s, 1H); 7,03 (s, 2H); 6,91 (s, 1H); 5,04 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H); 4,00 (qd, $J = 7,1; 1,3$ Hz, 2H); 2,21 (s, 3H); 1,34 (s, 18H); 1,13 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ 165,55; 152,96; 152,54; 147,59; 138,90; 136,19; 122,33; 100,16; 59,14; 53,96; 34,45; 30,31; 17,68; 14,19. IV (KBr, cm^{-1}) ν : 3612, 3241, 3111, 2956, 1711, 1650, 1471, 1434, 1228, 1096.

Figura 16. Estrutura da diidropirimidinona 2b.



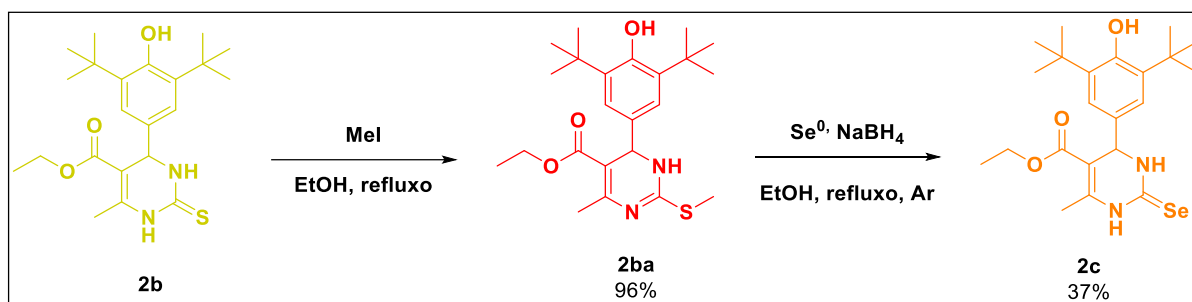
4-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxifenil)-6-metil-2-tioxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato de etila (2b): Rendimento 40%. Sólido amarelo claro. P.F. 235-238 °C; RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,30 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H); 9,55 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H); 7,02 (s, 2H); 6,98 (s, 1H); 5,07 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H); 4,04 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H); 2,25 (s, 3H); 1,35 (s, 18H); 1,15 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6) δ 174,38; 165,25; 153,17; 144,11; 138,92; 134,81; 122,39; 101,58; 59,43; 53,97; 34,35; 30,17; 16,94; 14,01. IV (KBr, cm^{-1}) ν :

3627, 3566, 3327, 3172, 1691, 1642, 1642, 1467, 1434, 1369, 1320, 1236, 1181, 1095, 779. HRMS (ESI⁺): Calculado para C₂₂H₃₃N₂O₃S [M+H]⁺ 405,2212, encontrado 405,2203.

3.2.5.2 Síntese dos híbridos Seleno-DHPM-BHT

A síntese do composto **2c** foi realizada em duas etapas de acordo com o **Esquema 14**:

Esquema 14. Síntese da diidropirimidinona **2c** a partir da **2b**.



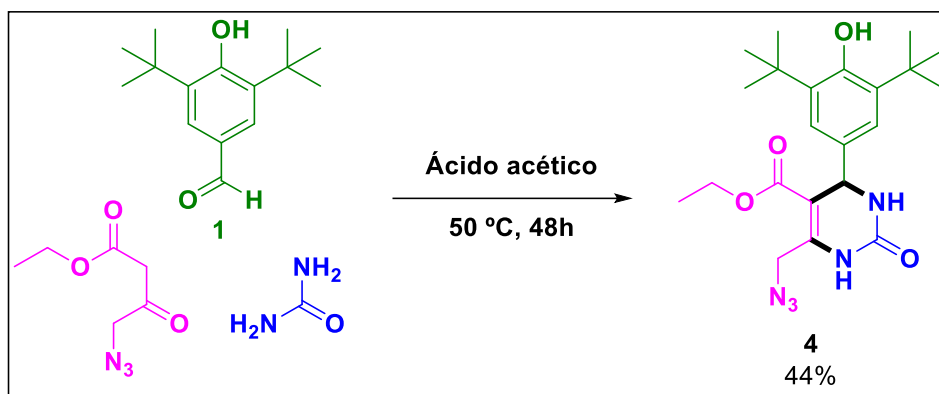
Síntese do 6-(3,5-di-tert-butil-4-hidroxifenil)-4-metil-2-(metiltio)-1,6-dihidropirimidina-5-carboxilato de etila (2ba): O derivado de isotioureia foi sintetizado de acordo com a literatura (BARBOSA, 2019). Em um balão de fundo redondo com duas bocas, a tioureia **2b** (5 mmol) foi solubilizada em EtOH e o MeI (6 mmol) foi adicionado. A reação foi agitada a temperatura de refluxo até o consumo do material de partida monitorado por CCD. Após, a reação foi tratada com solução saturada de NaHCO₃ e então extraída com EtOAc/H₂O. A fase orgânica foi seca com MgSO₄, filtrada e o solvente foi removido sob pressão reduzida. Rendimento 96%. P.F. 68-70 °C; RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ 7,12 (s, 2H); 5,57 (s, 1H); 5,12 (s, 1H); 4,13 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H); 2,47 (s, 3H); 2,31 (s, 3H); 1,41 (s, 18H); 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H). RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ 167,20; 153,10; 135,82; 123,51; 59,80; 34,40; 30,41; 14,48; 13,68. IV (KBr, cm⁻¹) ν: 3639, 3300, 2958, 1683, 1650, 1485, 1434, 1267, 1234, 1163, 1098. HRMS (APPI): Calculado para C₂₃H₃₅N₂O₃S [M+H]⁺ 419,2368, encontrado 419,2366.

Síntese de 4-(3,5-di-tert-butil-4-hidroxifenil)-6-metil-2-selenoxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato de etila (2c): Esse seleno-derivado foi sintetizado seguindo a literatura (KLAYMAN; SHINE, 1969). Em um balão de fundo redondo com duas bocas sob atmosfera de argônio, Se⁰ (5 mmol) e EtOH (20 mL) foram adicionados. Após, o NaBH₄ foi adicionado em pequenas porções (10 mmol) e a mistura foi agitada até ficar incolor. Então, a isotioureia **2ba** foi adicionada (1 mmol). A reação foi aquecida até temperatura de refluxo e então permaneceu agitando durante 15 h. Após, a reação foi extraída com EtOAc/H₂O

e a fase orgânica foi seca com MgSO_4 , filtrada e concentrada sob vácuo. Rendimento 37%. Sólido amarelo claro. P.F. 229-232 °C. RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ 8,67 (s, 1H); 8,12 (s, 1H); 7,07 (s, 2H); 5,35 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H); 5,25 (s, 1H); 4,10 (q, $J = 6,9$ Hz, 3H); 2,36 (s, 3H); 1,41 (s, 18H); 1,16 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ 171,13; 165,59; 153,92; 141,70; 136,31; 132,87; 123,53; 104,08; 60,46; 56,39; 34,39; 30,28; 18,07; 14,21. IV (KBr, cm^{-1}) ν : 3627, 3315, 3168, 2960, 1689, 1638, 1562, 1434, 1318, 1175, 1097, 773. HRMS (APPI): Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_3\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 453,1656, encontrado 453,1651.

3.2.6 Procedimento da Síntese do intermediário azido 4

Esquema 15. Síntese do intermediário 4.

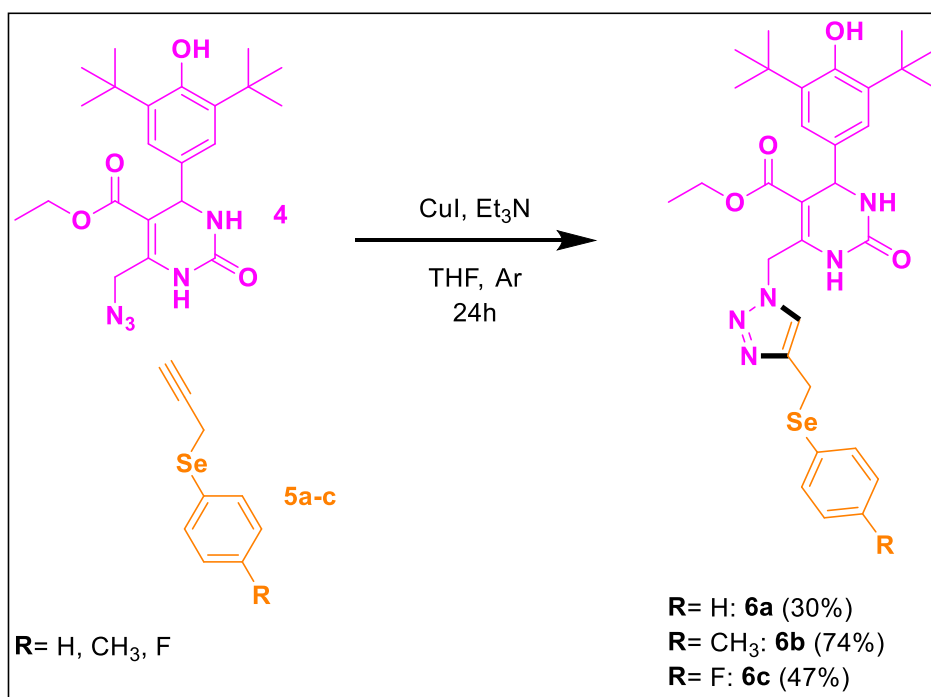


A síntese de **4** seguiu o procedimento de LEBED et al., 2009. Em um balão de uma boca munido de agitação magnética, foi adicionado o aldeído **1** (1 mmol), ureia (1,2 mmol) e o 4-azido-3-oxo-butanoato de etila **3** (1 mmol) em 15 mL de ácido acético (HAc) a 50 °C durante 48h. Após, a mistura reacional é despejada em água gelada causando a precipitação do produto. O produto foi purificado por coluna cromatográfica 8:2 (*n*-hexano/EtOAc). Rendimento: 44%. Sólido marrom. P.F. 107-108 °C. RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,40 (s, 1H); 7,74 (s, 1H); 7,07 (s, 2H); 6,93 (s, 1H); 5,10 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H); 4,36 (dd, $J = 69,8$; 12,8 Hz, 2H); 4,12 – 3,96 (m, 2H); 1,36 (s, 18H); 1,14 (td, $J = 7,1$; 1,4 Hz, 3H). RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 164,78; 153,22; 152,10; 143,57; 138,98; 135,53; 122,54; 103,27; 59,83; 54,25; 47,80; 34,44; 30,24; 13,93. IV (KBr, cm^{-1}) ν : 2964, 2103, 1705, 1636, 1446, 1314, 1230, 1101. HRMS (ESI $^+$): Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 430,2454, encontrado 430,2479.

3.2.7 Procedimento Geral na Síntese das Seleno-Triazóis-DHPM

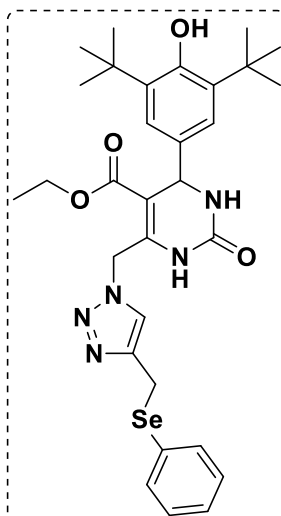
Após a obtenção dos intermediários chave para o projeto, realizou-se o procedimento geral na síntese dos compostos finais, conforme apresentado no esquema a seguir.

Esquema 16. Síntese dos derivados **6a-c** através da reação *Click*.



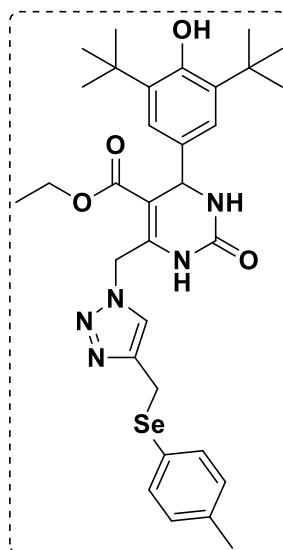
Os procedimentos de reações “Click” foram descritos previamente na literatura (MELDAL; TOMØE, 2008). Em um tubo de Schlenk, sob atmosfera de argônio, a azida **4** (1 mmol) foi adicionada, seguido pela adição de Et_3N (1 mmol), CuI (20 mol%), o alcino correspondente **5a-c** (1,5 mmol) em THF seco (3 mL). A reação foi agitada sob atmosfera inerte até o consumo total da azida **4**, que foi monitorado por CCD. Após, a reação foi extraída com $\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$, a fase orgânica foi secada com MgSO_4 , filtrada e seca na bomba de vácuo. O produto bruto foi então purificado por coluna cromatográfica a 1:1 (*n*-hexano/ EtOAc).

Figura 17. Estrutura do composto 6a.



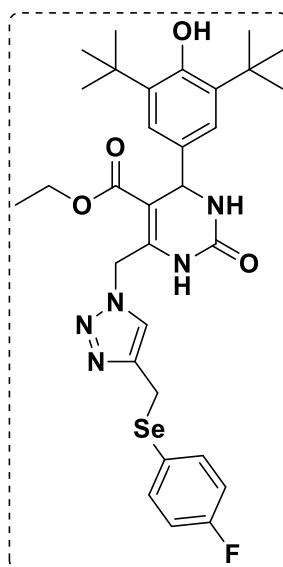
4-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxifenil)-2-oxo-6-((4-((fenilselanil)metil)-1H-1,2,3-triazo-1-il)metil)-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato de etila (6a): Rendimento 30%. Sólido marrom. P.F. 128 – 130 °C. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9,47 (s, 1H); 7,78 (s, 1H); 7,76 (s, 1H); 7,46 (dd, $J = 6,6$ e $3,0$ Hz, 2H); 7,26 – 7,20 (m, 3H); 7,01 (s, 2H); 6,91 (s, 1H); 5,60 – 5,34 (m, 2H); 5,09 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H); 4,22 (s, 2H); 4,00 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H); 1,33 (s, 18H); 1,11 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 164,68; 153,32; 152,03; 144,05; 142,41; 139,04; 135,53; 131,73; 130,27; 129,19; 126,87; 123,13; 122,66; 103,67; 59,99; 54,40; 47,85; 34,47; 30,31; 19,66; 13,97. IV (KBr, cm^{-1}) ν : 3235, 2958, 1699, 1650, 1434, 1367, 1310, 1226, 1095, 1024. HRMS (ESI $^+$): Calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_4\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 626,2246, encontrado 626,2284.

Figura 18. Estrutura do composto 6b.



4-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxifenil)-2-oxo-6-((4-((p-toluilselanil)metil)-1H-1,2,3-triazo-1-il-metil)-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato de etila (6b): Rendimento 74%. Sólido marrom alaranjado. P.F. 153-155 °C. RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9,46 (s, 1H); 7,76 (s, 2H); 7,34 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H); 7,06 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H); 7,01 (s, 2H); 6,91 (s, 1H); 5,59 – 5,37 (m, 2H); 5,10 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H); 4,16 (s, 2H); 4,00 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H); 2,26 (s, 3H); 1,33 (s, 18H); 1,11 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 164,67; 153,29; 152,01; 144,16; 142,38; 139,01; 136,51; 135,48; 132,34; 129,86; 126,28; 123,01; 122,62; 103,64; 59,95; 54,38; 47,81; 34,45; 30,28; 20,66; 20,01; 13,95. IV (KBr, cm^{-1}) ν : 2958, 1701, 1650, 1434, 1310, 1228, 1095. HRMS (ESI $^+$): Calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_5\text{O}_4\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 640,2402, encontrado 640,2411.

Figura 19. Estrutura do composto 6c.



4-(3,5-di-tert-butyl-4-hidroxifenil)-6-(((4-fluorfenil)selanil)metil)-1H-1,2,3-triazo-1-il)metil)-2-oxo-1,2,3,4-tetrahidropirimidina-5-carboxilato de etila (6c): Rendimento 47%. Sólido amarelo. P.F. 63-65 °C. RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9,47 (s, 1H); 7,76 (s, 1H); 7,72 (s, 1H); 7,44 (dd, $J = 8,6; 5,6$ Hz, 2H); 7,04 – 6,96 (m, 3H); 6,91 (s, 1H); 5,63 – 5,32 (m, 2H); 5,08 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H); 4,17 (s, 2H); 3,99 (q, $J = 6,9$ Hz, 2H); 1,31 (s, 18H); 1,10 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H). RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 165,06; 162,08 (d, $J = 244,5$ Hz); 153,70; 152,39; 144,33; 142,84; 139,42; 135,93; 135,32 (d, $J = 7,9$ Hz); 125,12 (d, $J = 2,8$ Hz); 123,51; 123,03; 116,58 (d, $J = 21,5$ Hz); 104,04; 60,35; 54,80; 48,19; 34,84; 30,68; 29,44; 20,85; 14,34. IV (KBr, cm^{-1}) ν : 2925, 2856, 1703, 1436, 1310, 1230, 1159, 1095. HRMS (ESI⁺): Calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{FN}_5\text{O}_4\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 644,2151, encontrado 644,2164.

3.2.8 Ensaio de Inibição da Protease M^{PRO} de SARS-CoV-2

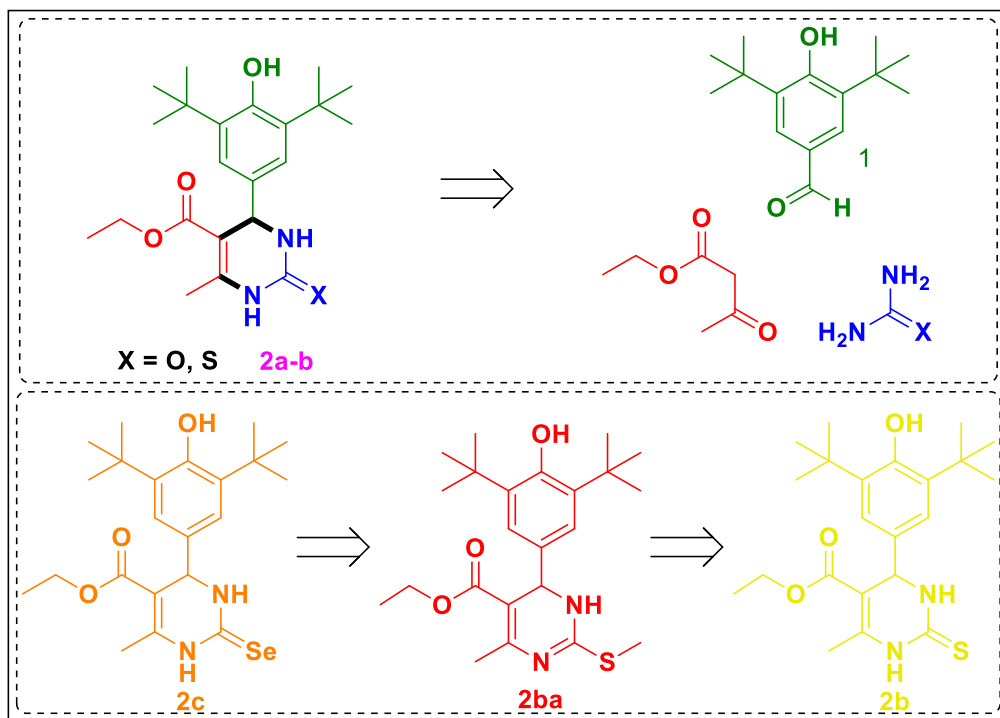
O ensaio de triagem dos compostos capazes de inibir a atividade da protease M^{PRO} foi realizado conforme a recomendação do fabricante com algumas adaptações. Numa placa de 96 poços, em cada poço foi adicionado 10 μL dos compostos na concentração final de 200 μM , diluídos em DMSO, em triplicata, em seguida 30 μL da enzima M^{PRO} (Sigma-Aldrich) na concentração final de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diluída em tampão contendo 25 mM HEPES (Sigma-Aldrich) e 0.2% Tween-20 (Sigma-Aldrich), a placa então foi incubada por 10 minutos à temperatura ambiente. Após este período foi adicionado 10 μL do substrato em cada poço, um peptídeo cromogênico 3CL, *Mpro protease chromogenic substrate peptide* (Sigma-Aldrich) na

concentração de 200 µg/mL final e incubado por mais 45 minutos à 37 °C, após o tempo de incubação foi adicionado 50 µL de ácido acético 4% (Merck). Em seguida a placa foi lida em espectrofotômetro Tecan® Modelo Infinite M200 no comprimento de onda de 405 nm. Como controle positivo foi utilizado o composto Ebselen na concentração de 10 µM diluído em DMSO puro e como controle negativo foi utilizado DMSO na concentração final de 20%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para este trabalho foi proposto a síntese de duas classes de híbridos moleculares entre as diidropirimidinonas e BHT com os compostos organosselênio. Inicialmente, foi planejado estruturas do tipo BHT-diidropirimidincalcogenonas (**2**) conforme esquema retrosintético abaixo.

Esquema 17. Análise retrosintética das diidropirimidinonas **2a-c**.

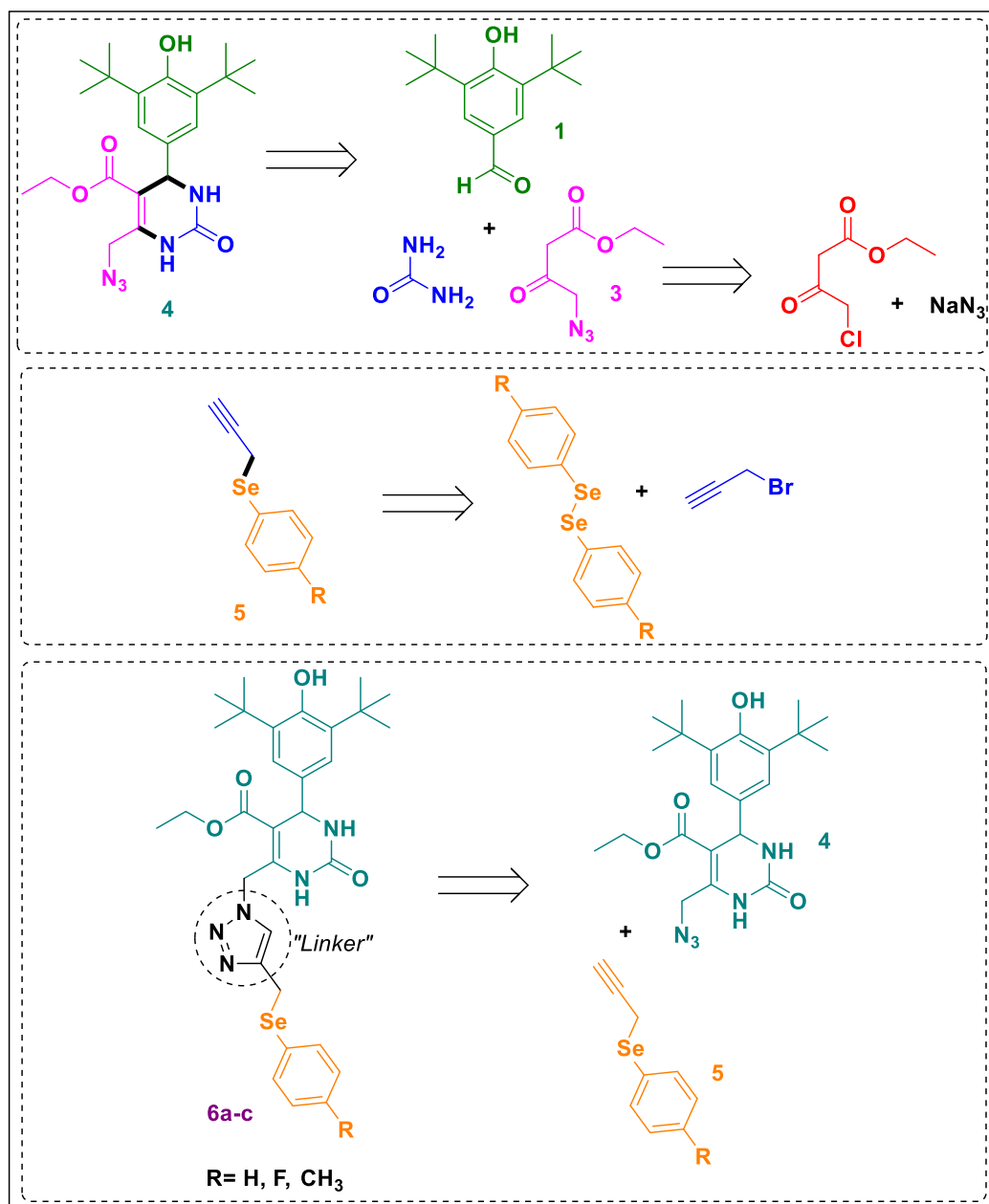


Os derivados Oxo- e Tio-DHPM-BHT poderiam resultar da reação multicomponente de Biginelli envolvendo o aldeído do BHT **1**, um composto dicarbonílico como o acetoacetato de etila e derivados de ureia e tioureia. De posse do derivado da tioureia **2b** bastaria reagir-lo com iodeto de metila para obter o intermediário **2ba**, que com uma reação de substituição com NaSeH levaria a selenona **2c** desejada.

A proposta da segunda classe de compostos é sintetizar híbridos moleculares entre a diidropirimidinona **2a** com compostos organosselênio. Para isso, seria utilizado primeiramente um intermediário Azido-DHPM-BHT **4** para possibilitar a hibridização conjugada através do "linker" 1,2,3-triazol. O produto **4** seria sintetizado pela reação de Biginelli envolvendo 4-azido-acetoacetato de etila **3**. Este por sua vez poderia ser sintetizado por uma reação de substituição da 4-cloro-acetoacetato de

etila com azida de sódio. Outro intermediário necessário é o seleneto propargilado **5**, que pode ser obtido pela reação de disselenetos de diorganoíla em meio redutor com brometo de propargila. Após obter os intermediários chave, o produto final seria obtido via reação de cicloadição catalisada por cobre do tipo “*click*” levando assim a formação dos compostos planejados para este trabalho. (**Esquema 18**).

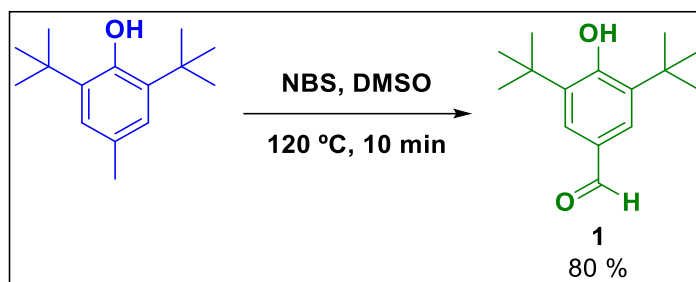
Esquema 18. Análise retrossintética dos compostos 3, 4 e 6a-c.



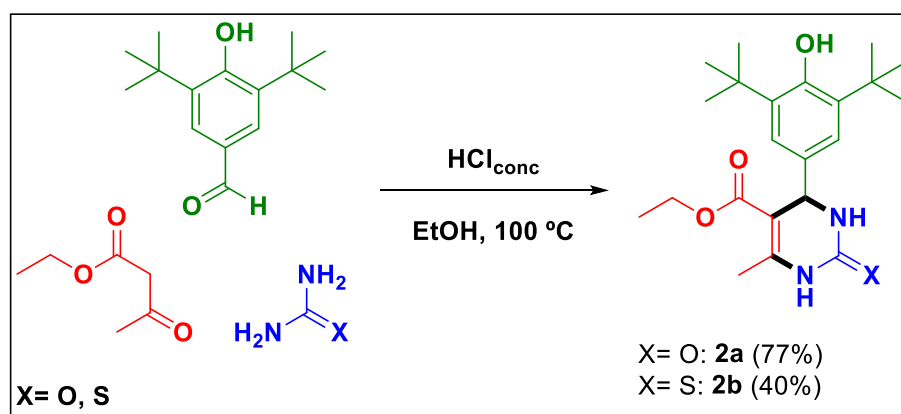
4.1 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS BHT-DHPM

Inicialmente foi feita a síntese da série dos híbridos **2a**, **2b** e **2c**. A primeira etapa reacional é a formação do aldeído derivado do BHT (Esquema 19). A formação deste reagente foi realizada de acordo com a metodologia descrita por BAIK et al., 2000 em que a oxidação do BHT acontece em meio DMSO com a adição de NBS durante 10 minutos a 120 °C. A formação do produto é facilmente comprovada pelo aparecimento do singlete característico em 9,85 ppm – região dos hidrogênios –CHO de aldeídos no RMN de ^1H .

Esquema 19. Síntese do composto 1.



Após a obtenção do aldeído do BHT, foi possível realizar a reação de Biginelli. O procedimento para a síntese dessas DHPM foi descrito por CANTO et al., 2014 em que é realizada a ciclização *one-pot* entre o aldeído do BHT, ureia (para o produto **2a**) ou tiourea (para o produto **2b**) e acetoacetato de etila a 100 °C utilizando HCl_{conc} como catalisador e somente etanol o suficiente para promover a agitação durante 3 horas. Esta reação forneceu os compostos **2a** e **2b** com 77 e 40% de rendimento, respectivamente.

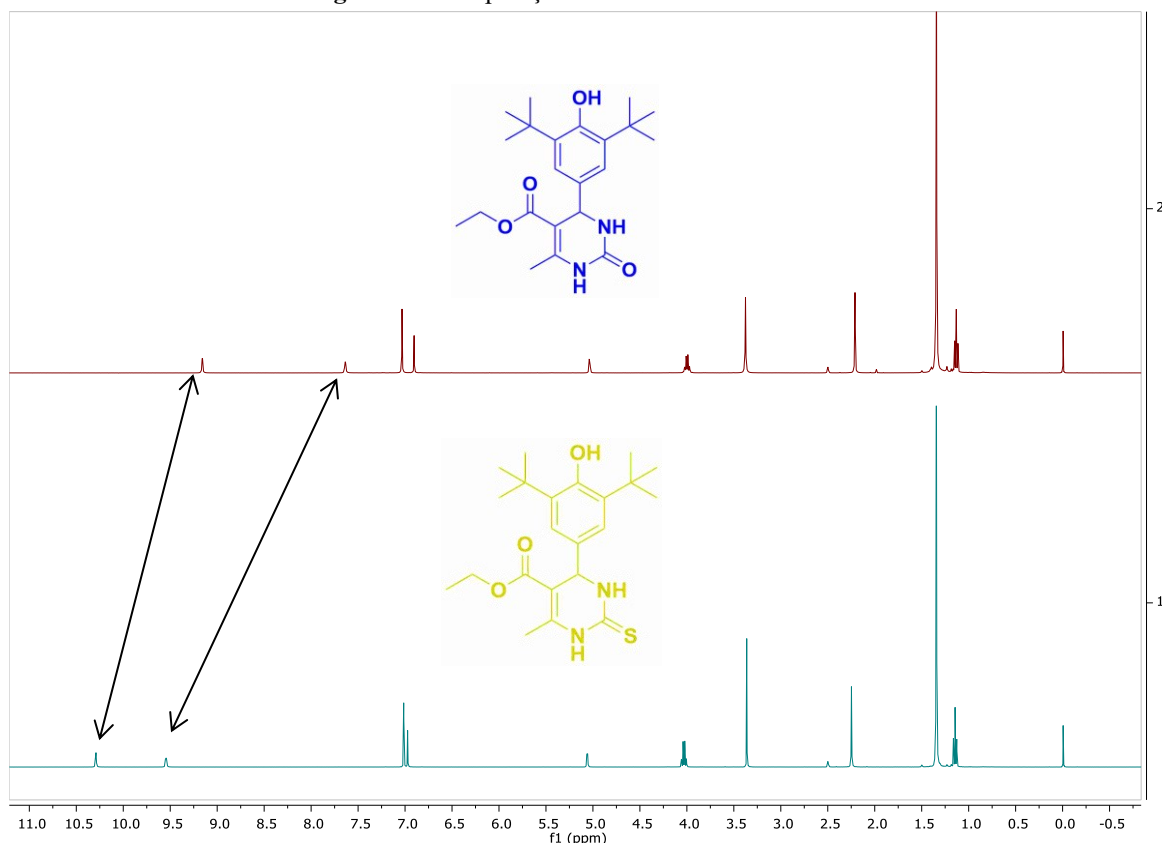
Esquema 20. Reação de Biginelli para formação dos compostos **2a** e **2b**.

Estes dois produtos já são reportados na literatura e sua formação foi comprovada por RMN de ^1H e ^{13}C . A grande semelhança entre as duas estruturas permite uma análise espectral concomitante. Em relação ao espectro de **2a**, temos os sinais referentes aos -NH em 9,16 e 7,64 ppm, logo após o simpleto em 7,03 ppm com integral igual a 2, relacionado aos hidrogênios aromáticos, seguido pelo simpleto característico do -OH em 6,91 ppm. Em 5,04 ppm, está o duplete relacionado ao -CH do heterociclo ligado diretamente a porção BHT. Logo em seguida, em 4,00 ppm, está o quarteto de duplete com integral 2 referente ao -CH₂- da porção acetato. Em 2,21 ppm temos o simpleto com integral 3 referente ao -CH₃ ligado diretamente ao anel pirimidínico. O sinal mais intenso, simpleto com integral igual a 18 em 1,34 ppm é relacionado

com os hidrogênios dos grupamentos *t*-butila e, por fim, o tripleto com integral igual a 3 em 1,13 ppm é referente ao -CH₃ da porção acetato.

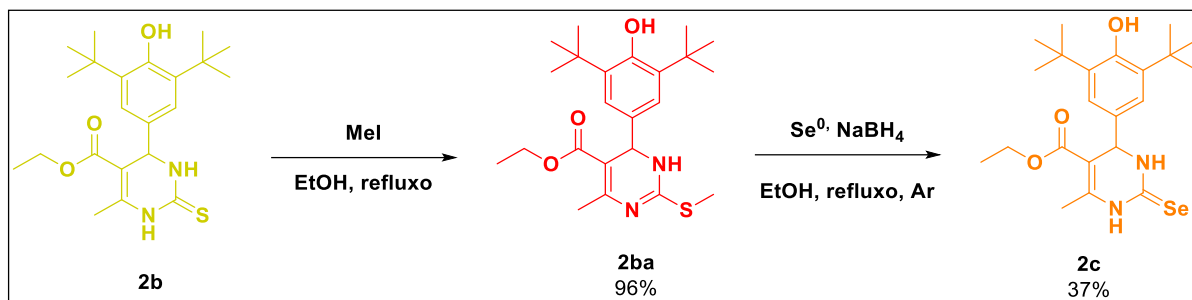
A única diferença significativa entre os RMN de ¹H de **2a** e **2b** é a desblindagem dos hidrogênios -NH do derivado da tioureia frente ao composto **2^a** (Figura 20).

Figura 20. Comparação entre os RMN de ¹H de **2a** e **2b**.

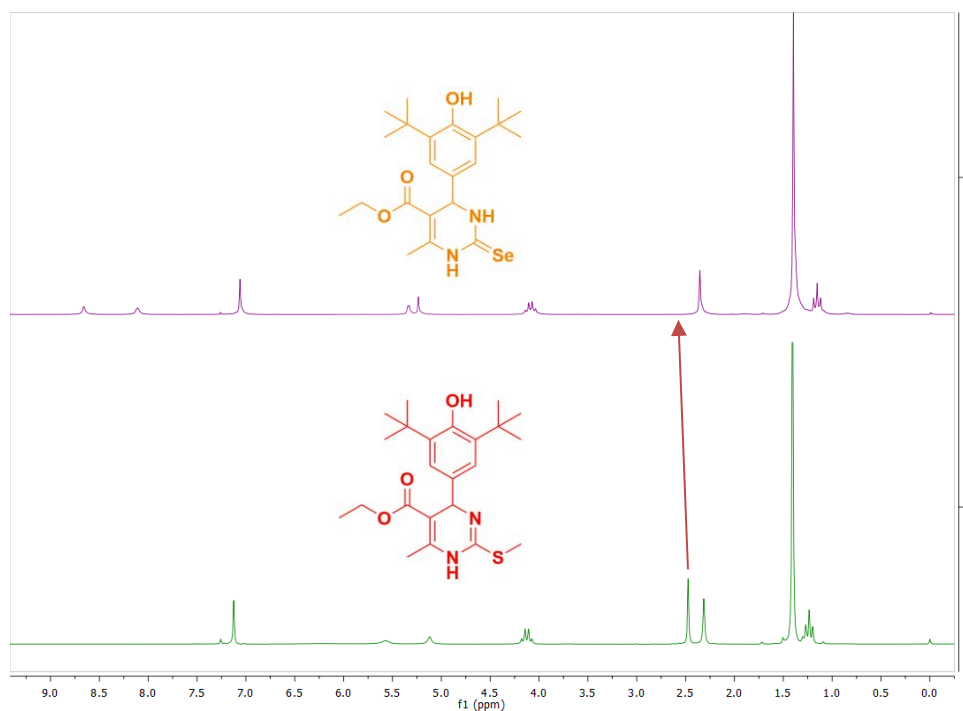


O derivado **2c** não é formado diretamente pela ciclização direta com selenoureia, devido a seu alto custo e toxicidade, mas sim a partir do composto **2b** (Esquema 21). A modificação estrutural do derivado de enxofre para o de selênio foi feita em duas etapas. Primeiro, foi realizada a metilação do enxofre de acordo com BARBOSA, 2019. O composto **2b** foi reagido com iodeto de metila para a formação da isotioureia **2ba**, levando a um rendimento de 96%. Após, esse derivado foi substituído com a espécie nucleofílica de selênio gerada *in situ* NaSeH de acordo com (KLAYMAN; SHINE, 1969) e após a extração foi obtido o composto **2c** com 37% de rendimento.

Esquema 21. Síntese de 2c a partir de 2b.



Pelos espectros de RMN de ¹H conseguimos notar a diferença dentre os espectros principalmente pelo desaparecimento do sinal da metila referente ao S-Me como retratado na figura **abaixo**.

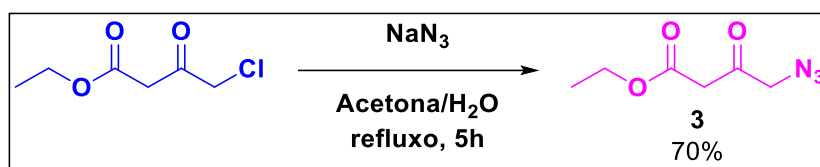
Figura 21. Comparação entre os RMN de ¹H de **2ba** e **2c**.

Também foram realizadas análises de espectrometria de massas de alta resolução (HRMS) no modo APPI destes dois compostos por serem inéditos. Para o derivado isotioureia a massa teórica para C₂₃H₃₅N₂O₃S [M+H]⁺ é de 419,2368 e foi encontrado experimentalmente 419,2366, confirmando a massa e a fórmula do composto **2ba**. Para o composto de selenoureia a massa teórica para C₂₂H₃₃N₂O₃Se [M+H]⁺ é de 453,1656 e foi encontrado 453,1651, confirmando a formação do produto **2c**.

4.2 SÍNTESE DOS DERIVADOS BHT-DHPM-SELÊNIO (6a-c)

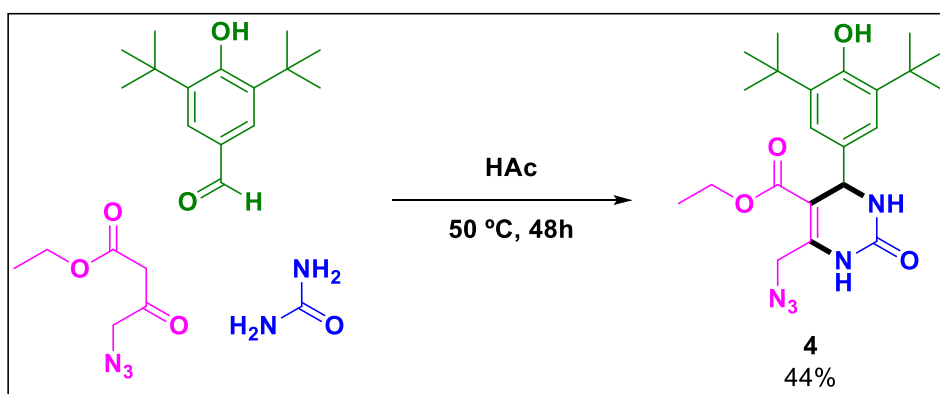
A síntese dos compostos **6a**, **6b** e **6c** foi feita a partir de uma rota convergente e com procedimento distinto ao relatado para **2a** e **2b**. Primeiramente, além da oxidação do BHT, foi realizada a azidação do composto 4-cloroacetoacetato de etila (Esquema 22). Dessa forma, foi possível realizar a ciclização de Biginelli, através da reação com composto **1** (formando o intermediário **4**) faltando somente uma etapa reacional para obter o produto final, a reação *Click*. Essa reação foi realizada de acordo com a metodologia descrita no trabalho de CHEN et al., 2009 em que o reagente clorado é reagido com NaN_3 em uma mistura de água e acetona em refluxo para a formação do produto **3** em 70% de rendimento.

Esquema 22. Síntese do composto 3.



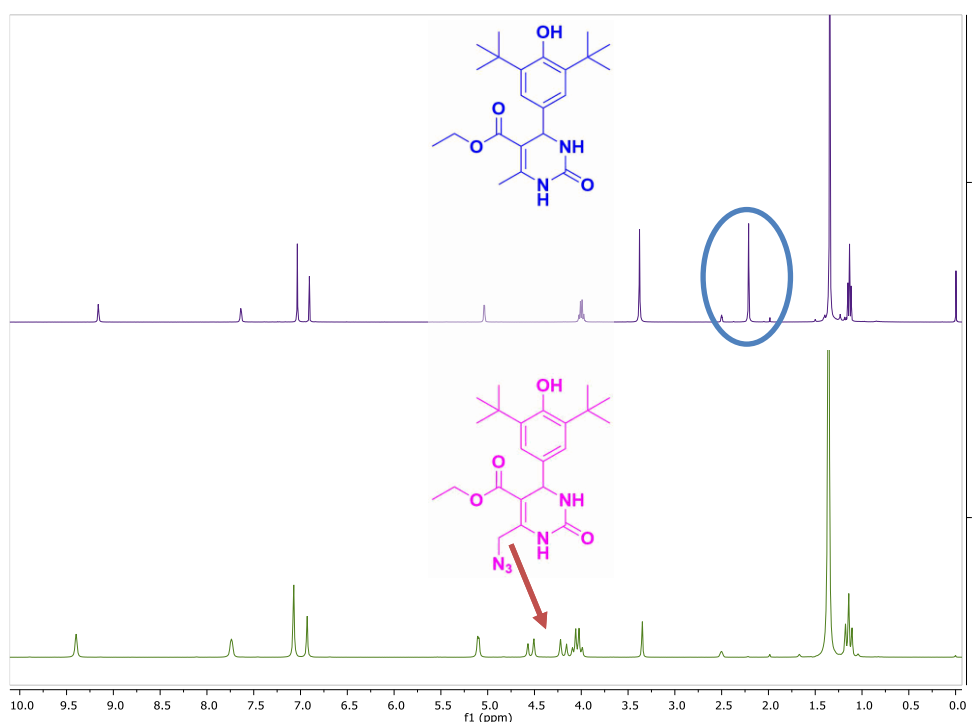
Após, é feita então a reação de Biginelli pela metodologia de LEBED et al., 2009, a fim de obter o produto sem utilização de temperaturas muito elevadas, já que as tentativas realizadas com a metodologia anterior forneceu uma mistura complexa de produtos. Nesse novo procedimento, a ciclização é feita em ácido acético a 50 °C durante 48h (Esquema 23). O produto **4** é então precipitado em água gelada e purificado por coluna cromatográfica, sendo obtido com 44% de rendimento.

Esquema 23. Síntese da diidropirimidinona 4.



O composto **4** teve sua estrutura comprovada por ponto de fusão, RMN de ^1H , ^{13}C , infravermelho e HRMS. A atribuição do RMN de ^1H inicia com os dois simples, cada um com integral igual a 1 (em 9,40 e 7,74 ppm) referentes aos hidrogênios $-\text{NH}$ do heterociclo. Logo em seguida, podem-se observar os dois hidrogênios aromáticos da porção do BHT, representados como um simpleto de integral igual a 2 a 7,07 ppm. O próximo sinal é um simpleto de integral igual a 1 em 6,93 ppm e refere-se ao hidrogênio $-\text{OH}$ do fenol. Seguindo, temos o sinal em 5,10 ppm, um duplete com integral igual a 1, que representa o hidrogênio $-\text{CH}$ do núcleo heterocíclico. Após, temos os sinais de CH_2 referentes ao $-\text{CH}_2$ do acetato e ao $-\text{CH}_2$ ligado ao grupamento azida. Por fim, temos o sinal característico dos grupamentos *t*-butila do BHT – um simpleto em 1,36 ppm com integral igual a 18 e o triplete em 1,14 ppm com integral igual a 3, que representa o $-\text{CH}_3$ da porção acetato.

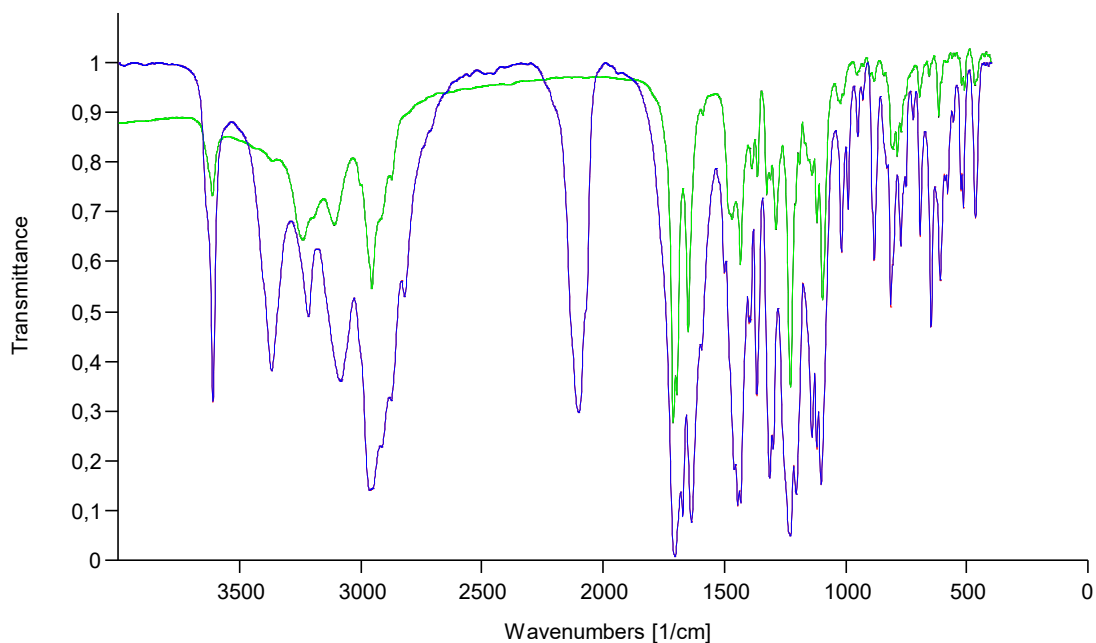
Figura 22. Comparação dos RMN de ^1H de **2a** e **4**.



Pela comparação dos espectros de RMN de ^1H de **2a** e **4** acima, podemos perceber claramente a diferença entre os deslocamentos dos hidrogênios do carbono ligado diretamente a azida. No composto **2a**, temos um simpleto em 2,21 ppm e no composto **4**, estes hidrogênios se tornam um sinal em 4,36 ppm. Comparando os espectros de infravermelho abaixo, temos um grande destaque que é a banda relacionada a azida, podemos ver claramente a banda no espectro

do composto **4** (linha azul) em torno de 2100 cm^{-1} e sua ausência no espectro do composto **2a** (linha verde).

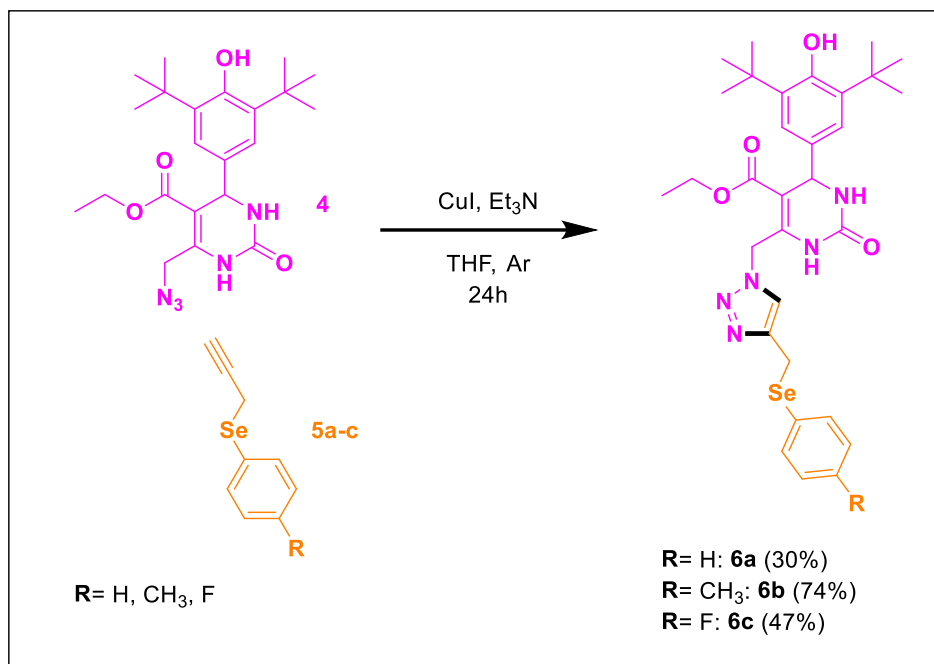
Figura 23. Espectros de infravermelho de **2a** (linha verde) e **4** (linha azul).



O HRMS foi feito no modo ESI, a massa teórica do composto **4** é $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 430,2454 e foi encontrado experimentalmente 430,2479, o que corrobora com a fórmula molecular desta estrutura.

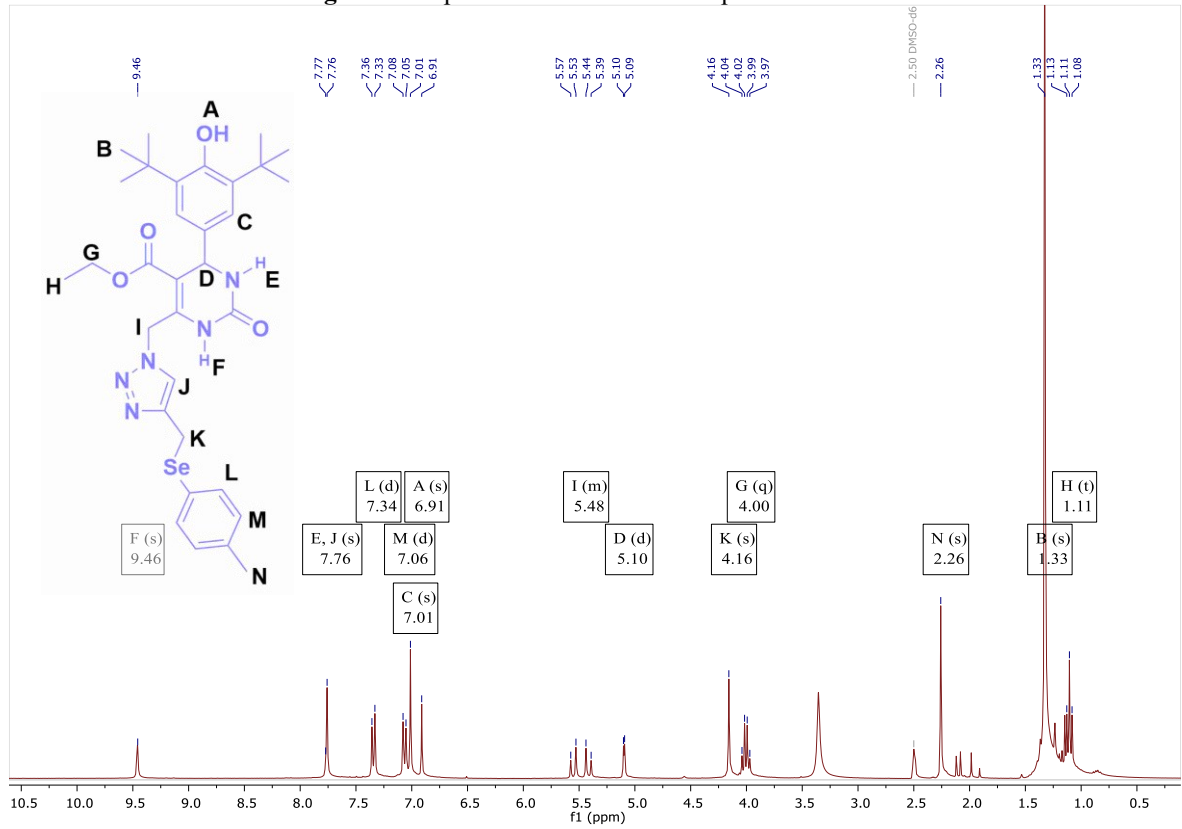
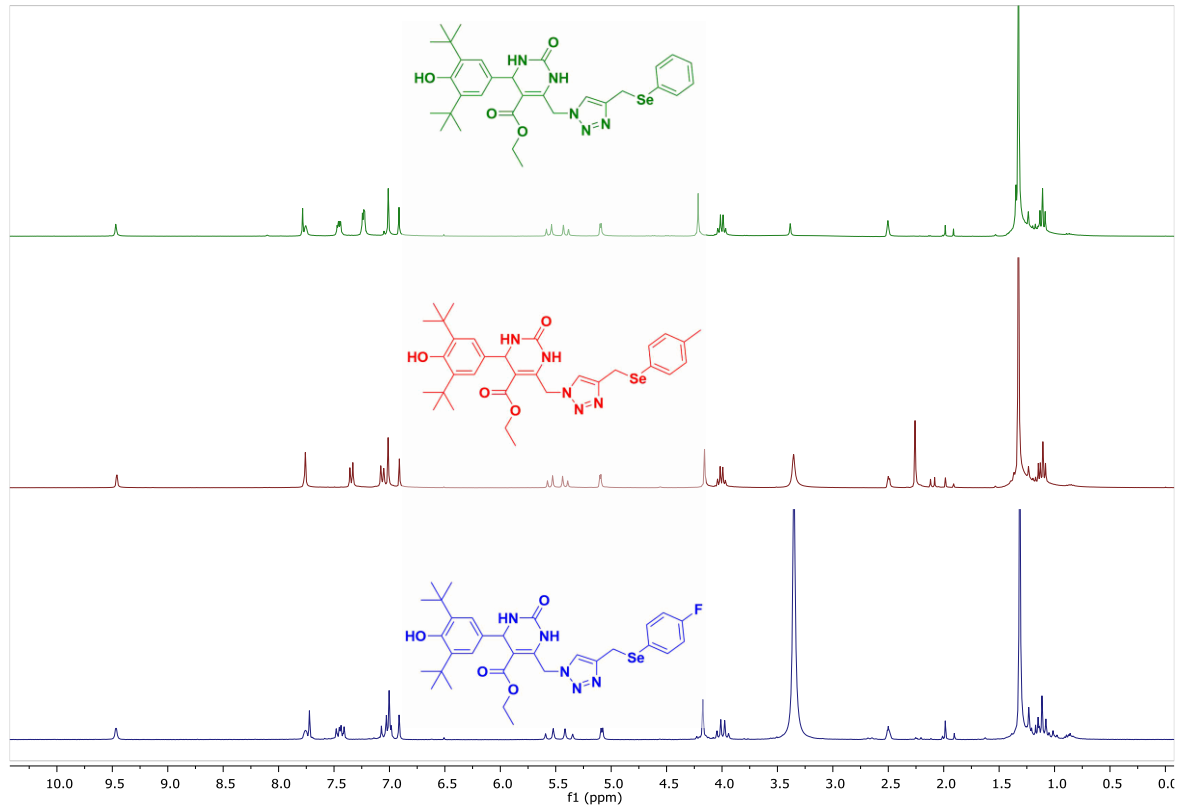
Com a formação e identificação do derivado **4**, foi possível dar continuidade para a inserção dos grupamentos selenoarilas. Primeiramente, foi realizada a síntese dos alcinos **5a**, **5b** e **5c** de acordo com a literatura, utilizando seu respectivo disseleneto, NaBH_4 e brometo de propargila. Após, é realizada a adição Click, conforme o **Esquema 24**. Para essa ciclicação, é feita a reação em um tubo de Schlenk sob argônio, com a adição de CuI como catalisador e Et_3N como aditivo em THF seco, além dos reagentes em questão. Em seguida, os produtos são extraídos e purificados por coluna cromatográfica. Os rendimentos são reportados no **Esquema 24**.

Esquema 24. Reação Click utilizada para a síntese dos compostos **6a-c**.



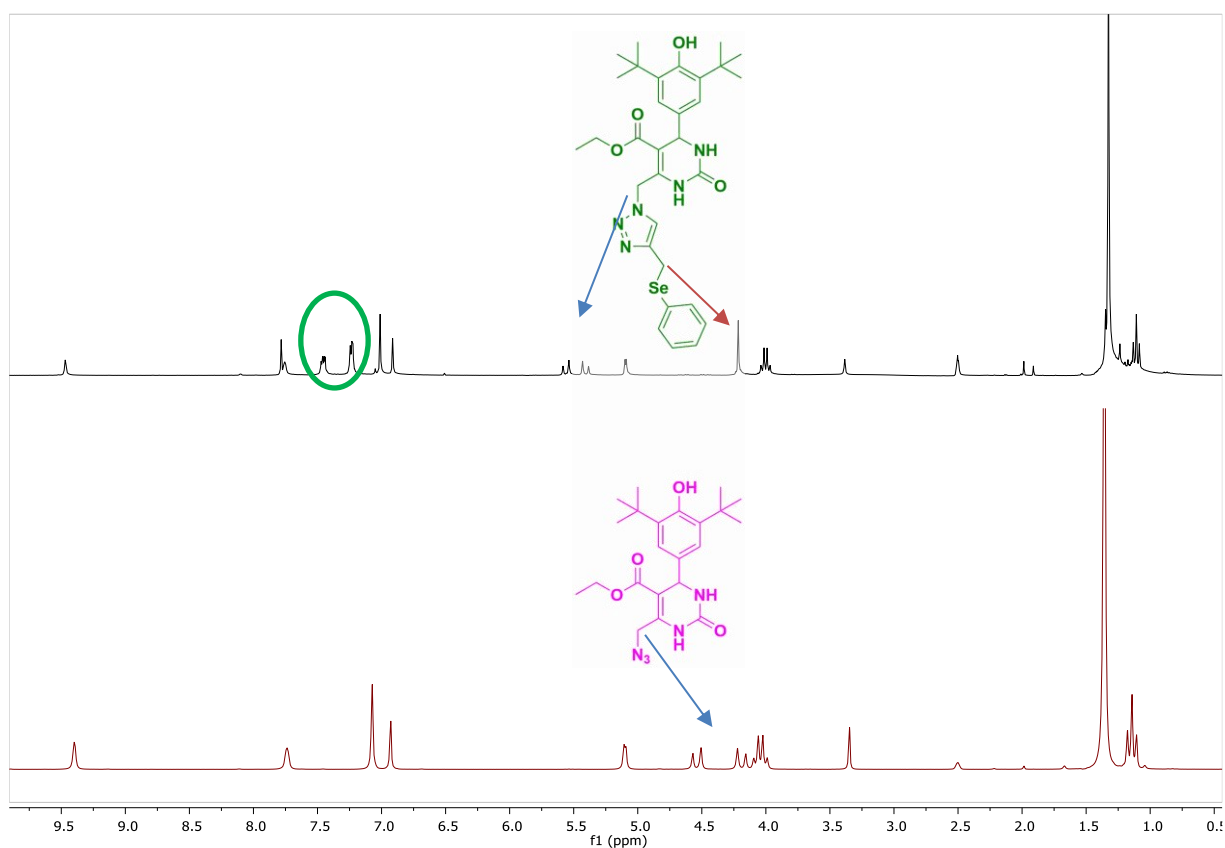
Os produtos foram analisados por ponto de fusão, RMN de ^1H e ^{13}C , infravermelho e HRMS. Os espectros de RMN, pela ampla semelhança, serão discutidos simultaneamente através dos espectros do derivado *p*-Me **6b** abaixo.

O primeiro sinal em 9,46 ppm com integral 1 refere-se a um dos hidrogênios -NH, enquanto que o segundo -NH está sobreposto ao sinal do hidrogênio do triazol, e ambos estão representados pelo sinal em 7,76 ppm, um simpleto com integral igual a 2. Os dupletos seguintes, em 7,34 e 7,06 ppm com integral de 2 hidrogênios cada um, referem-se aos aromáticos da porção arilselênio, enquanto que o singleto com integral igual a 2 está relacionado com os hidrogênios aromáticos da porção BHT. Logo em seguida, pode-se observar o simpleto de integral igual a 1 referente ao hidrogênio -OH do BHT. O quarteto em 5,59-5,37 ppm com integral 2 representa o -CH₂ que liga a DHPM ao triazol. O sinal característico do -CH- do anel pirimidínico está representado como um duplete com integral igual a 1, em 5,10 ppm. O simpleto de integral 2 em 4,16 ppm se refere ao -CH₂ ligado ao selênio. Em seguida, o sinal do -CH₂- da porção acetato está retratado como um quarteto com integral igual a 2 em 4,00 ppm. Por fim, temos o grupamento -CH₃ do anel *p*-Me representado pelo simpleto de integral 3 em 2,26 ppm; os hidrogênios dos grupamentos *t*-butila ilustrados na forma de singleto com integral 18 em 1,33 ppm; e o último é o tripleto de integral 3 relacionado ao -CH₃ da porção acetato.

Figura 24. Espectro de RMN de ^1H simplificado de **6b**.Figura 25. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H de **6a**, **6b** e **6c**.

Comparando os espectros de RMN ^1H dos compostos **6a-c** temos como perceber a similaridade dentre os três. Comparando os espectros de RMN de ^1H dos compostos **4** e **6a** na **Figura 26**, temos o aparecimento dos hidrogênios aromáticos provindos do selênio-fenil, o deslocamento do sinal referente ao metileno ligado a azida, indicando a formação do 1,2,3-triazol e o aparecimento do sinal referente ao metileno ligado diretamente ao selênio (**Figura 26**).

Figura 26. Comparação entre os espectros de RMN de ^1H de **4** e **6a**.



As análises de HRMS dos três compostos foram realizadas no modo ESI. O composto **6a** tem massa teórica de $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_4\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 626,2246 e foi encontrado 626,2284. A massa teórica do composto **6b** é de $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_5\text{O}_4\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 640,2402 e foi encontrado 640,2411. A massa teórica do composto **6c** é de $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{FN}_5\text{O}_4\text{Se}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 644,2151, encontrado 644,2164 e foi encontrado experimentalmente 644,2161.

4.3 ENSAIO DE INIBIÇÃO DA PROTEASE M^{PRO} DE SARS-COV-2

Após a síntese e caracterização dos compostos, foi realizado o ensaio de inibição da protease M^{PRO} do SARS-CoV-2. Essa análise foi feita em colaboração com o LQPN (Laboratório de Química de Produtos Naturais), grupo chefiado pelo professor Louis Sandjo, sendo este um dos grupos que está incluído no projeto “*Prospecção bio-guiada de fármacos anti-Covid-19 a partir de plantas comestíveis e desenvolvimento de híbridos sintéticos com potencial antiviral*” sob coordenação do professor Antonio Luiz Braga, financiado pelo Edital nº 11/2020 de Seleção Emergencial "FÁRMACOS E IMUNOLOGIA" da CAPES.

Para efeitos comparativos, foram analisados os compostos **2a**, **2b** e **2c**, o intermediário **4** e os compostos finais **6a**, **6b** e **6c**. Os resultados dos ensaios estão representados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Inibição da M^{pro} do SARS-CoV-2 pelos compostos **2a-c**, **4** e **6a-c**.

| Composto | Porcentagem de inibição da M^{PRO} do SARS-CoV-2 a 200 µM |
|-----------------|--|
| 2a | n.i.* |
| 2b | n.i.* |
| 2c | 72,01 % |
| 4 | 24,40 % |
| 6a | 73,86% |
| 6b | 43,10 % |
| 6c | 73,05 % |

* n.i.: não ocorreu inibição.

É possível observar que dentre os compostos **2a**, **2b** e **2c**, somente o derivado selenourea (**2c**) inibiu a enzima, alcançando uma inibição de 72,0%. De acordo com esses dados podemos associar essa notável diferença à presença do selênio na forma de uma selenourea na estrutura molecular, representando um forte indício do papel chave do átomo de selênio na relação estrutura-atividade. Além disso, foi estruturada uma rota para sintetizar outros derivados com grupamentos organosselênio, preservando o esqueleto base dos compostos **2**, a partir da hibridização conjugada.

Com isso, foi feita a hibridização por intermédio do *linker* 1,2,3-triazol, e para isso foi sintetizado o intermediário chave, o composto **4**, que possui um grupamento azida. Para fins comparativos, foi feito o ensaio inibitório deste composto, e o mesmo obteve 24,40% de inibição. Após a reação “*click*” e formação dos compostos **6a-c**, pode-se perceber que esses novos compostos hibridizados apresentaram uma elevação de 73% da porcentagem inibitória, comparado com o composto **2a**, comprovando que a presença do elemento selênio é de suma importância para a atividade inibitória dessa classe de compostos.

Dentre os compostos selenilados **6a-c**, houve uma similaridade entre **6a** e **6c**, sugerindo que a anexação de um grupamento desativante não afeta de forma expressiva a atividade dessas substâncias, estando ambas em torno de 73% de inibição. Com a inserção de um grupamento doador de elétrons, como o composto **6b**, é possível perceber a grande queda de 30% na inibição desta protease. Estudos adicionais para entender melhor o mecanismo de inibição desta enzima estão sendo realizados por laboratórios parceiros, tais como estudos de modelagem molecular, os quais deverão ilustrar melhor os dados experimentais obtidos nesse ensaio e propor outros derivados que poderão ser sintetizados pelas rotas aqui empregadas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÃO

Os intermediários e as moléculas alvo propostas para esse trabalho foram sintetizados em rendimentos consideráveis, tendo em vista a complexidade estrutural dessas moléculas. A classe das diidropirimidinonas calcogenadas (**2a-c**) foram sintetizadas por abordagens clássicas da literatura e apenas o derivado selenilado (**2c**) foi responsável pela inibição da M^{pro}, evidenciando uma forte relação estrutura-atividade.

A segunda classe (**6a-c**) possui uma maior complexidade estrutural, porém, através de uma síntese planejada foi possível obter os produtos finais em rendimentos aceitáveis. Estes compostos apresentaram também uma forte dependência frente aos compostos orgânicos de selênio na inibição da M^{pro} do SARS-CoV-2. Ainda não temos todas as evidências dos mecanismos de ação pelos estudos preliminares já realizados, no entanto, estudos complementares estão em andamento e pretendemos, em breve, publicar os resultados em periódico reconhecido pela comunidade química.

Ademais, outros estudos de atividade antioxidante e anticolinesterásica estão sendo realizados em parceria com o Prof. Dr. Aldo Sena – UFSC e os resultados serão oportunamente divulgados.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, M. H. et al. Design and synthesis of sulfur-containing butylated hydroxytoluene: antioxidant potency and selective anticancer agent. **Journal of Chemical Sciences**, v. 131, n. 107, p. 1–11, 1 out. 2019.
- ALI, H. M. et al. SAR and QSAR of COVID-19 Main Protease-Inhibitor Interactions of Recently X-ray Crystallized Complexes. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, v. 92, n. 2, p. 281–291, 2022.
- ALMEIDA, R. G. et al. Synthesis of quinone imine and sulphur-containing compounds with antitumor and trypanocidal activities: redox and biological implications. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 10, p. 1145–1160, 21 out. 2020.
- ALVES, L. et al. Alzheimer's disease: a clinical practice-oriented review. **Frontiers in Neurology**, v. 3, p. 63, 2012.
- AMPORNDANAI, K. et al. Inhibition mechanism of SARS-CoV-2 main protease by ebselen and its derivatives. **Nature Communications**, v. 12, n. 3061, 2021.
- ARAÚJO, C. R. M. et al. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual Scifinder. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 868–873, 1 jul. 2015.
- ARUNKHAMKAEW, S. et al. Novel racemic tetrahydrocurcuminoid dihydropyrimidinone analogues as potent acetylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, n. 10, p. 2880–2882, 15 maio 2013.
- AZEREDO, J. B. et al. “Green Is the Color”: An Update on Ecofriendly Aspects of Organoselenium Chemistry. **Molecules**, v. 27, n. 5, p. 1597, 28 fev. 2022.
- BAIK, W. et al. NBS-Promoted reactions of symmetrically hindered methylphenols via p-benzoquinone methide. **Journal of Organic Chemistry**, v. 65, n. 1, p. 108–115, 14 jan. 2000.
- BANSAL, Y.; SILAKARI, O. Multifunctional compounds: Smart molecules for multifactorial diseases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 76, p. 31–42, 9 abr. 2014.

- BARBOSA, F. A. R. et al. Synthesis and evaluation of dihydropyrimidinone-derived selenoesters as multi-targeted directed compounds against Alzheimer's disease. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 24, n. 22, p. 5762–5770, 2016.
- BARBOSA, F. A. R. et al. Novel pyrimidinic selenourea induces DNA damage, cell cycle arrest, and apoptosis in human breast carcinoma. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 155, p. 503–515, 11 jun. 2018.
- BARBOSA, F. A. R. **Planejamento, síntese e avaliação biológica de híbridos moleculares derivados de diidropirimidinonas**. Tese—Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2019.
- BARBOSA, F. A. R. et al. Antiproliferative Effect and Autophagy Inhibition of Dihydropyrimidinone-Cinnamic Acid Hybrids. **ChemistrySelect**, v. 7, p. e2022002285, 21 jul. 2022.
- BARBOSA, N. B. V. et al. Effect of organic forms of selenium on δ -aminolevulinatase dehydratase from liver, kidney, and brain of adult rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 149, n. 2, p. 243–253, 1998.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. A Estratégia da Hibridação Molecular no Planejamento, Desenho e Modificação Molecular de Ligantes e Protótipos. In: **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. [s.l: s.n.]. v. 3p. 407–446.
- BENASSI, J. C. et al. Novel Dihydropyrimidinone-Derived Selenoesters as Potential Cytotoxic Agents to Human Hepatocellular Carcinoma: Molecular Docking and DNA Fragmentation. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 6, p. 703–715, 28 jul. 2020.
- BETTANIN, L. et al. NH₄I-catalyzed chalcogen(S/Se)-functionalization of 5-membered N-heteroaryls under metal-free conditions. **Tetrahedron**, v. 74, n. 29, p. 3971–3980, 19 jul. 2018.
- BIGINELLI, P. Derivati aldeidureidici degli eteri acetil-ed ossal-acetico. **Gazzetta Chimica Italiana**, v. 23, n. 1, p. 360–416, 1893.

- BOTTESELLE, G. V et al. Catalytic Antioxidant Activity of Bis-Aniline-Derived Diselenides as GPx Mimics. **Molecules**, v. 26, p. 4446–44456, 2021.
- CAI, P. et al. Donepezil-butylated hydroxytoluene (BHT) hybrids as Anti-Alzheimer's disease agents with cholinergic, antioxidant, and neuroprotective properties. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 157, p. 161–176, 5 set. 2018.
- CANTO, R. F. S. et al. Design, synthesis and evaluation of seleno-dihydropyrimidinones as potential multi-targeted therapeutics for Alzheimer's disease. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 12, n. 21, p. 3470–3477, 7 maio 2014.
- ÇAPCI, A. et al. (Iso)Quinoline–Artemisinin Hybrids Prepared through Click Chemistry: Highly Potent Agents against Viruses. **Chemistry – A European Journal**, v. 26, n. 52, p. 12019–12026, 16 set. 2020.
- CHEN, J. et al. A convergent route for the total synthesis of malyngamides O, P, Q, and R. **Journal of Organic Chemistry**, v. 74, n. 11, p. 4149–4157, 5 jun. 2009.
- COMASSETO, J. V. Selenium and Tellurium Chemistry: Historical Background. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 21, n. 11, p. 2027–2031, 2010.
- DEDIEGO, M. L. et al. Inhibition of NF- κ B-Mediated Inflammation in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-Infected Mice Increases Survival. **Journal of Virology**, v. 88, n. 2, p. 913–924, 15 jan. 2014.
- DOERNER, C. V. et al. Versatile Electrochemical Synthesis of Selenylbenzo[b]Furan Derivatives Through the Cyclization of 2-Alkynylphenols. **Frontiers in Chemistry**, v. 10, n. 880099, 17 maio 2022.
- D.R. BOULWARE et al. A Randomized Trial of Hydroxychloroquine as Postexposure Prophylaxis for Covid-19. **The new england journal of medicine**, v. 383, n. 6, p. 517–525, 2020.
- EMSLEY, J. **Nature's Building Blocks: An A-Z Guide to the Elements**. [s.l.] Oxford University Press, 2001.

- FREITAS, L. B. DE O. et al. A reação “click” na síntese de 1,2,3-triazóis: aspectos químicos e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1791–1804, 2011.
- GOULART, T. A. C. et al. Organic & Biomolecular Chemistry Synthesis of 4-(organoselenyl) oxazolones via cyclization of N-alkynyl ethylcarbamates promoted by organoselenium †. **Org. Biomol. Chem**, v. 20, p. 4773, 2022.
- GOVERNO FEDERAL DO BRASIL. **Declaração Conjunta dos Governos da República Federativa do Brasil e dos Estados Unidos da América relativa à Cooperação em Saúde — Português (Brasil)**. Disponível em: <https://www.gov.br/mre/pt-br/canais_atendimento/imprensa/notas-a-imprensa/2020/declaracao-conjunta-dos-governos-da-republica-federativa-do-brasil-e-dos-estados-unidos-da-america-relativa-a-cooperacao-em-saude-2>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- HERTZOG DA SILVA LEME, A. G.; CARDOSO, B. R. Selenium and Alzheimer’s disease. In: MARTIN, C. R.; PREEDY, V. R. (Eds.). **Genetics, Neurology, Behavior, and Diet in Dementia**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 739–748.
- HIFFLER, L.; RAKOTOAMBININA, B. Selenium and RNA Virus Interactions: Potential Implications for SARS-CoV-2 Infection (COVID-19). **Frontiers in Nutrition | www.frontiersin.org**, v. 7, n. 164, 2020.
- HIMO, F. et al. Copper(I)-catalyzed synthesis of azoles. DFT study predicts unprecedented reactivity and intermediates. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 1, p. 210–216, 12 jan. 2005.
- HUFF, S. et al. Discovery and Mechanism of SARS-CoV-2 Main Protease Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 65, n. 4, p. 2866–2879, 24 fev. 2022.
- HUISGEN, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. **Proceedings of the Chemical Society**, n. October, p. 397, 1961.
- JIN, Z. et al. Structure of M pro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. **Nature |**, v. 582, p. 289, 2020.

- KAOUKABI, H. et al. Dihydropyrimidinone/1,2,3-triazole hybrid molecules: Synthesis and anti-varicella-zoster virus (VZV) evaluation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 155, p. 772–781, 15 jul. 2018.
- KAUR, J.; SAXENA, M.; RISHI, N. An Overview of Recent Advances in Biomedical Applications of Click Chemistry. **Bioconjugate Chemistry**, v. 32, n. 8, p. 1455–1471, 18 ago. 2021.
- KAUR, R. et al. Recent synthetic and medicinal perspectives of dihydropyrimidinones: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 132, p. 108–134, 26 maio 2017.
- KHARMA, A. et al. Electrochemical Selenation/Cyclization of Quinones: A Rapid, Green and Efficient Access to Functionalized Trypanocidal and Antitumor Compounds. **European Journal of Organic Chemistry**, p. 4474–4486, 2020.
- KHASIMBI, S. et al. Dihydropyrimidinones Scaffold as a Promising Nucleus for Synthetic Profile and Various Therapeutic Targets: A Review. **Current Organic Synthesis**, v. 18, n. 3, p. 270–293, 8 dez. 2020.
- KIM, J. et al. A novel 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one: HIV-1 replication inhibitors with improved metabolic stability. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 22, n. 7, p. 2522–2526, 1 abr. 2012.
- KLAYMAN, D. L.; SHINE, R. J. A New Synthesis of Selenoureas and Selenothiocarbamic Esters from Thioureas. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 34, n. 11, p. 3549–3551, 1969.
- KOLB, H. C.; FINN, M. G.; SHARPLESS, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 11, p. 2004–2021, 2001.
- LEBED, P. S. et al. Synthesis of new polyfunctional 5,6,7,8-tetrahydroimidazo-[1,5-c]pyrimidin-5-ones by the aza-Wittig reaction followed by intramolecular cyclization and 1,3-prototropic shift. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 921–927, 11 jul. 2009.

- LIMA, D. J. B. et al. It takes two to tango: synthesis of cytotoxic quinones containing two redox active centers with potential antitumor activity. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 1709–1721, 2021.
- LÖWIG, C. Ueber Schwefelwasserstoff- und Selenwasserstoffäther. **Annalen der Physik und Chemie**, v. 113, n. 3, p. 550–553, 1836.
- MAKHAEVA, G. F. et al. New Multifunctional Agents Based on Conjugates of 4-Amino-2,3-polymethylenequinoline and Butylated Hydroxytoluene for Alzheimer's Disease Treatment. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5891, 12 dez. 2020.
- MANGIAVACCHI, F. et al. Seleno-Functionalization of Quercetin Improves the Non-Covalent Inhibition of M pro and Its Antiviral Activity in Cells against SARS-CoV-2. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 7048, 2021.
- MANOS-TURVEY, A. et al. Dihydropyrimidinones and -thiones with improved activity against human polyomavirus family members. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 20, p. 5087–5091, 15 out. 2016.
- MAYER, T. U. et al. Small Molecule Inhibitor of Mitotic Spindle Bipolarity Identified in a Phenotype-Based Screen. **Science**, v. 286, n. 5441, p. 971–974, 29 out. 1999.
- MELDAL, M.; TOMØE, C. W. Cu-catalyzed azide - Alkyne cycloaddition. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 8, p. 2952–3015, ago. 2008.
- MENÉNDEZ, C. A. et al. Molecular characterization of ebselen binding activity to SARS-CoV-2 main protease. **Science Advances**, v. 6, p. 345–356, 2020.
- MOGHADDAM, A. et al. Selenium Deficiency Is Associated with Mortality Risk from COVID-19. **Nutrients**, v. 12, 2020.
- MULLER, M. P.; MCGEER, A. Severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 28, n. 2, p. 201–212, abr. 2007.

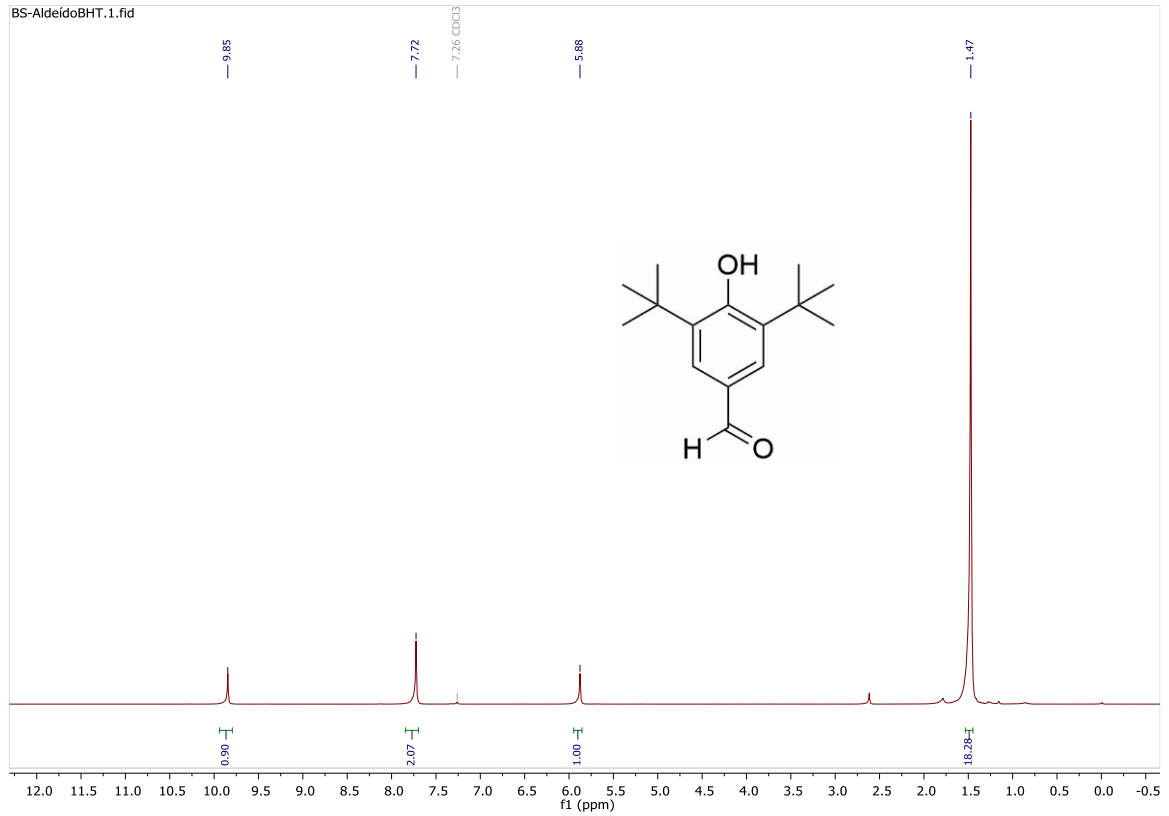
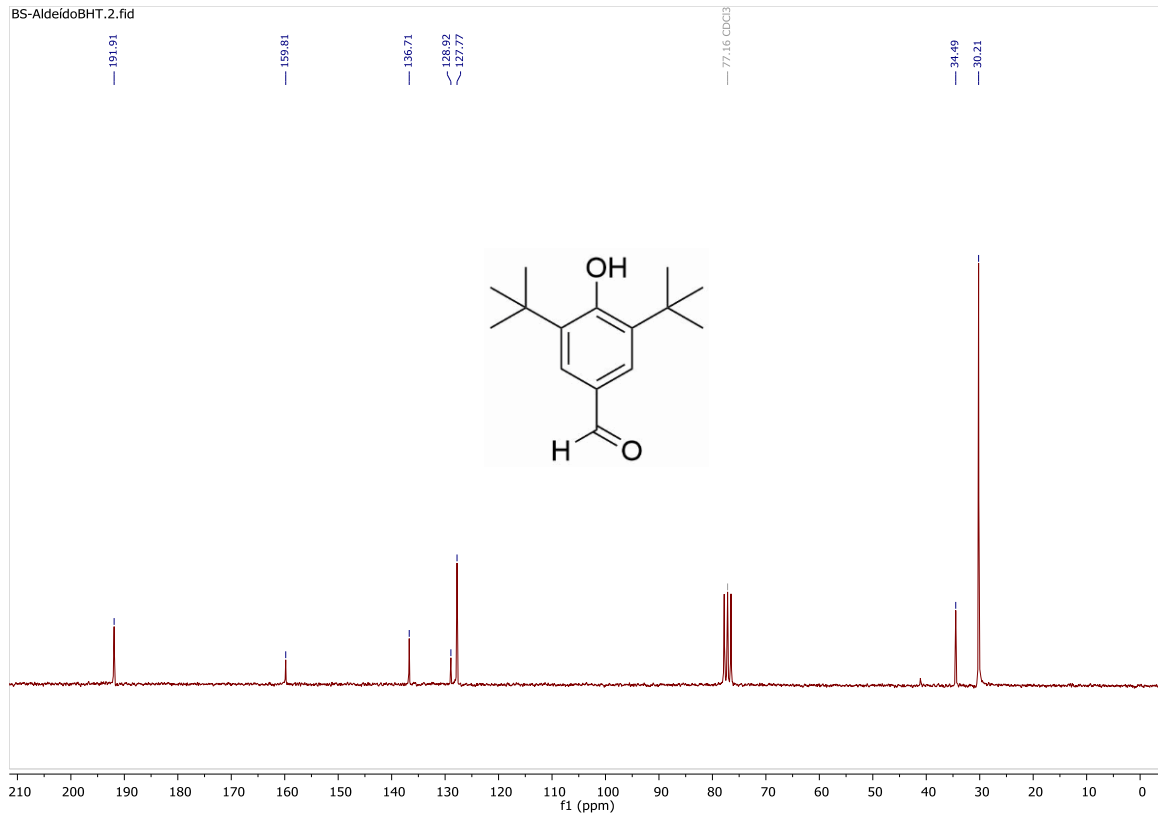
- NAKREM LYNGBAKKEN, M. et al. A pragmatic randomized controlled trial reports lack of efficacy of hydroxychloroquine on coronavirus disease 2019 viral kinetics. **Nature Communications**, v. 11, p. 5284, 2020.
- NASCIMENTO, V. et al. GPx-like activity of selenides and selenoxides: Experimental evidence for the involvement of hydroxy perhydroxy selenane as the active species. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 1, p. 138–141, 11 jan. 2012.
- NIPATE, D. S. et al. TEMPO-Mediated Synthesis of Indolyl/Imidazo[1,2-a]pyridinyl-Substituted para-Quinone Methides from Butylated Hydroxytoluene. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 86, p. 17090–17100, 2021.
- PACCOUD, O. et al. Compassionate Use of Hydroxychloroquine in Clinical Practice for Patients With Mild to Severe COVID-19 in a French University Hospital. **Clinical Infectious Diseases**, v. 73, n. 11, p. 4064–4072, 2021.
- PAN, H. et al. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 — Interim WHO Solidarity Trial Results. **N Engl J Med**, v. 384, p. 497–511, 2021.
- PASHIROVA, T. N. et al. Delivery nanosystems based on sterically hindered phenol derivatives containing a quaternary ammonium moiety: Synthesis, cholinesterase inhibition and antioxidant activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 310, p. 108753, 1 set. 2019.
- POTSHANGBAM, A. M. et al. Phenylbenzopyrone of Flavonoids as a Potential Scaffold to Prevent SARSCoV-2 Replication by Inhibiting its M PRO Main Protease. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 22, n. 15, p. 2054–2070, 28 jan. 2021.
- RAGAB, F. A. F. et al. Design, synthesis and anticancer activity of new monastrol analogues bearing 1,3,4-oxadiazole moiety. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 140–151, 29 set. 2017.
- RAKEDZON, S. et al. From hydroxychloroquine to ivermectin: what are the anti-viral properties of anti-parasitic drugs to combat SARS-CoV-2? **International Society of Travel Medicine**, v. 28, n. 2, p. 1–9, 2021.

- REICH, H. J. et al. Selenium-Stabilized Anions. Preparation of β -Unsaturated Carbonyl Compounds Using Propargyl Selenides. Synthesis of (\pm)-7-Hydroxymyoporone. **Journal of American Chemical Society**, v. 103, p. 3112–3120, 1981.
- REICH, H. J.; RENGA, J. M.; REICH, L. Organoselenium Chemistry. Conversion of Ketones to Enones by Selenoxide Syn Elimination. **Journal of American Chemical Society**, v. 97, n. 19, p. 5434–5447, 17 set. 1975.
- ROCHA, J. B.; PICCOLI, B. C.; OLIVEIRA, C. S. Biological and chemical interest in selenium: a brief historical account. **Arkivoc**, v. 2017, n. 2, p. 457–491, 27 dez. 2016.
- RODRIGUES, J. et al. Chalcogenation KIO₃-Catalyzed C(sp²)-H Bond Selenylation/Sulfonylation of (Hetero)arenes: Synthesis of Chalcogenated (Hetero)arenes and their Evaluation for Anti-Alzheimer Activity. 2018.
- SAGHA, M. et al. Synthesis of new 2-aminothiazolyl/benzothiazolyl-based 3,4-dihydropyrimidinones and evaluation of their effects on adenocarcinoma gastric cell migration. **Molecular Diversity**, v. 26, n. 2, p. 1039–1051, 1 abr. 2022.
- SANTI, C.; SCIMMI, C.; SANCINETO, L. Ebselen and Analogues: Pharmacological Properties and Synthetic Strategies for Their Preparation. **Molecules**, v. 26, p. 4230–4254, 2021.
- SARI, O. et al. Synthesis of dihydropyrimidine α,γ -diketobutanoic acid derivatives targeting HIV integrase. **European journal of medicinal chemistry**, v. 104, p. 127–138, 2 nov. 2015.
- SAVATEEV, K. V. et al. Atom-efficient synthesis of hybrid molecules combining fragments of triazolopyrimidines and 3-ethoxycarbonyl-1-ethyl-6-fluoroquinolin-4(1H)-one through 1,2,3-triazole linker. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 57, n. 2, p. 143–153, 2021.
- SAWIN, K. E. et al. Mitotic spindle organization by a plus-end-directed microtubule motor. **Nature**, v. 359, n. 6395, p. 540–543, out. 1992.

- SCHEIDE, M. R. et al. Electrochemical synthesis of selenyl-dihydrofurans *via* anodic selenofunctionalization of allyl-naphthol/phenol derivatives and their anti-Alzheimer activity. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 18, n. 26, p. 4916–4921, 2020.
- SCHMOELLER, L. A. et al. Structural and electronic investigation of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones (DHPMs): Correlations between spectroscopic and molecular docking features upon salmon sperm DNA. **Journal of Molecular Structure**, v. 1266, p. 133546, out. 2022.
- SCHUMACHER, R. F. et al. Regioselective C-H Selenylation of Heteroarenes Under Metal-free Conditions. **Current Organic Chemistry**, v. 25, n. 18, p. 2068–2088, 6 jul. 2021.
- SEMIUCHENKO, V.; BRAJE, W. M.; ORGAN, M. G. Sodium Butylated Hydroxytoluene: A Functional Group Tolerant, Eco-Friendly Base for Solvent-Free, Pd-Catalysed Amination. **Chemistry - A European Journal**, v. 27, p. 12535–12539, 2021.
- SHAABAN, O. G. et al. Purines and triazolo[4,3-e]purines containing pyrazole moiety as potential anticancer and antioxidant agents. **Future Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 12, p. 1449–1464, 23 maio 2018.
- SHARIF, S. et al. Sodium Butylated Hydroxytoluene (NaBHT) as a New and Efficient Hydride Source for Pd-Catalysed Reduction Reactions. **Chemistry – A European Journal**, v. 25, n. 57, p. 13099–13103, 11 out. 2019.
- SHATOKHIN, S. S. et al. Synthesis, cytotoxicity and antioxidant activity of new 1,3-dimethyl-8-(chromon-3-yl)-xanthine derivatives containing 2,6-di-tert-butylphenol fragments †. **New J. Chem**, v. 46, p. 621, 2022.
- SIES, H.; PARNHAM, M. J. Potential therapeutic use of ebselen for COVID-19 and other respiratory viral infections. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 156, p. 107–112, 20 ago. 2020.
- SU, S. et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. **Trends in Microbiology**, v. 24, n. 6, p. 490–502, 1 jun. 2016.

- SUGITA, P. et al. Physico-chemical and antioxidant properties of chitosan film with addition of β -carotene and butylated hydroxytoluene. **AIP Conference Proceedings**, v. 2243, n. 1, p. 030024, 4 jun. 2020.
- SUN, L. Y. et al. Ebsulfur and Ebselen as highly potent scaffolds for the development of potential SARS-CoV-2 antivirals. **Bioorganic Chemistry**, v. 112, 1 jul. 2021.
- THEODOSIS-NOBELOS, P. et al. Antioxidant Serine-(NSAID) Hybrids with Anti-Inflammatory and Hypolipidemic Potency. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 4060, 2 jul. 2021.
- THIRUMURUGAN, P.; MATOSIUK, D.; JOZWIAK, K. Click chemistry for drug development and diverse chemical-biology applications. **Chemical Reviews**, v. 113, n. 7, p. 4905–4979, 10 jul. 2013.
- THUN-HOHENSTEIN, S. T. D. et al. Structure-Activity Studies Reveal Scope for Optimisation of Ebselen-Type Inhibition of SARS-CoV-2 Main Protease. **ChemMedChem**, v. 17, n. 4, 16 fev. 2022.
- TIWARI, V. K. et al. Cu-Catalyzed Click Reaction in Carbohydrate Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 116, n. 5, p. 3086–3240, 9 mar. 2016.
- TRON, G. C.; MINASSI, A.; APPENDINO, G. Pietro Biginelli: The Man Behind the Reaction. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2011, n. 28, p. 5541–5550, 1 out. 2011.
- WANG, Z. et al. A point-of-care selenium nanoparticle-based test for the combined detection of anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG in human serum and blood. **Lab on a Chip**, v. 20, p. 4261, 2020.
- WILHELM, E. A. et al. Therapeutic potential of selanyl amide derivatives in the in vitro anticholinesterase activity and in in vivo anti-amnesic action. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 98, n. 5, p. 304–313, 2020.
- WOO, P. C. Y. et al. **Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping**. **Experimental Biology and Medicine**, out. 2009.

- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO's Solidarity clinical trial enters a new phase with three new candidate drugs.** Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/11-08-2021-who-s-solidarity-clinical-trial-enters-a-new-phase-with-three-new-candidate-drugs>>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard.** Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 11 jul. 2022.
- XU, C. et al. Metal-free electrochemical oxidative trifluoromethylation/C(sp²)H functionalization of quinolinones. **Tetrahedron Letters**, v. 61, n. 35, p. 152226, 27 ago. 2020.
- YEHYE, W. A. et al. Understanding the chemistry behind the antioxidant activities of butylated hydroxytoluene (BHT): A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 101, p. 295–312, 7 jul. 2015.
- YU, B. et al. Low dose of hydroxychloroquine reduces fatality of critically ill patients with COVID-19. v. 63, n. 10, p. 1515–1521, 2020.
- ZANE DAVIS, T.; HALL, J. O. Selenium. In: GUPTA, R. C. (Ed.). **Reproductive and Developmental Toxicology**. [s.l.] Academic Press, 2011. p. 461–468.
- ZHANG, J. et al. Association between regional selenium status and reported outcome of COVID-19 cases in China. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 111, n. 6, p. 1297–1303, 2020.
- ZHANG, Y. et al. Structure-Based Discovery and Structural Basis of a Novel Broad-Spectrum Natural Product against the Main Protease of Coronavirus. **Journal of Virology**, v. 96, n. 1, p. 1253–1274, 12 jan. 2022.
- ZHAO, L.; LI, S.; ZHONG, W. Mechanism of Action of Small-Molecule Agents in Ongoing Clinical Trials for SARS-CoV-2: A Review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 2022.
- ZUMLA, A.; HUI, D. S.; PERLMAN, S. Middle East respiratory syndrome. **Lancet (London, England)**, v. 386, n. 9997, p. 995–1007, 5 set. 2015.

6 ANEXO A – ESPECTROS DE RMN DE ^1H E ^{13}C E INFRAVERMELHO.**Figura S1.** Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl₃) de **1**.**Figura S2.** Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl₃) de **1**.

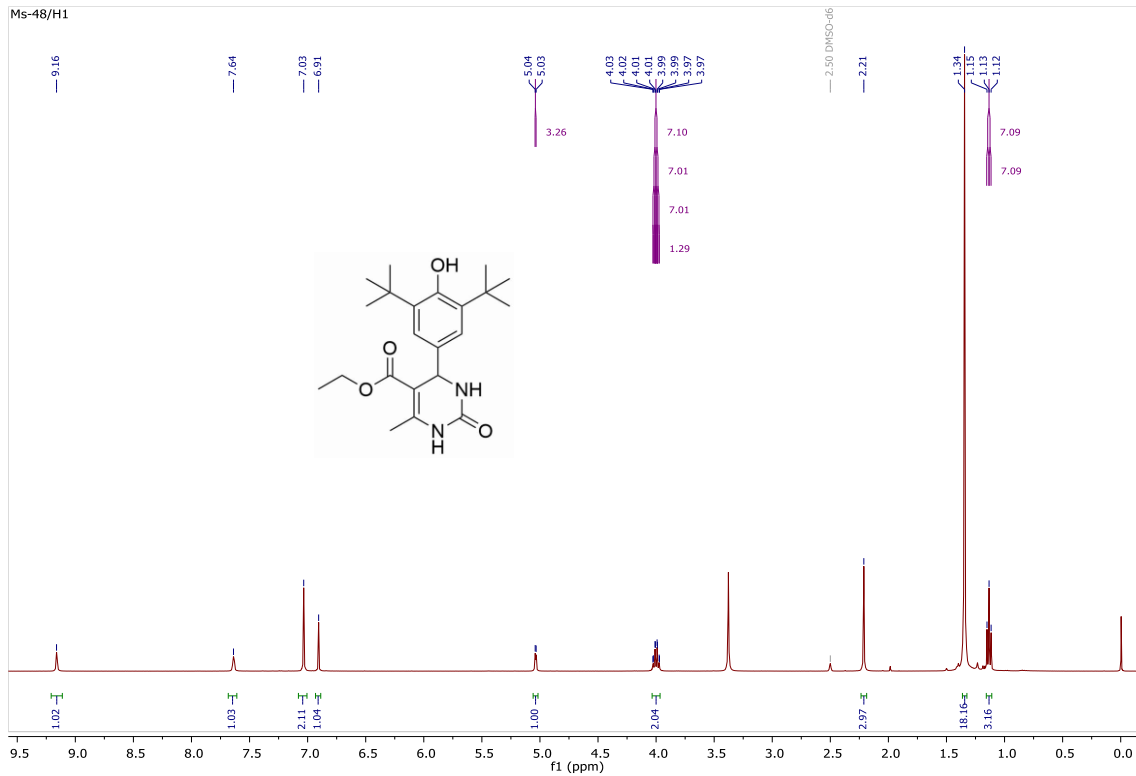


Figura S3. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 2a.

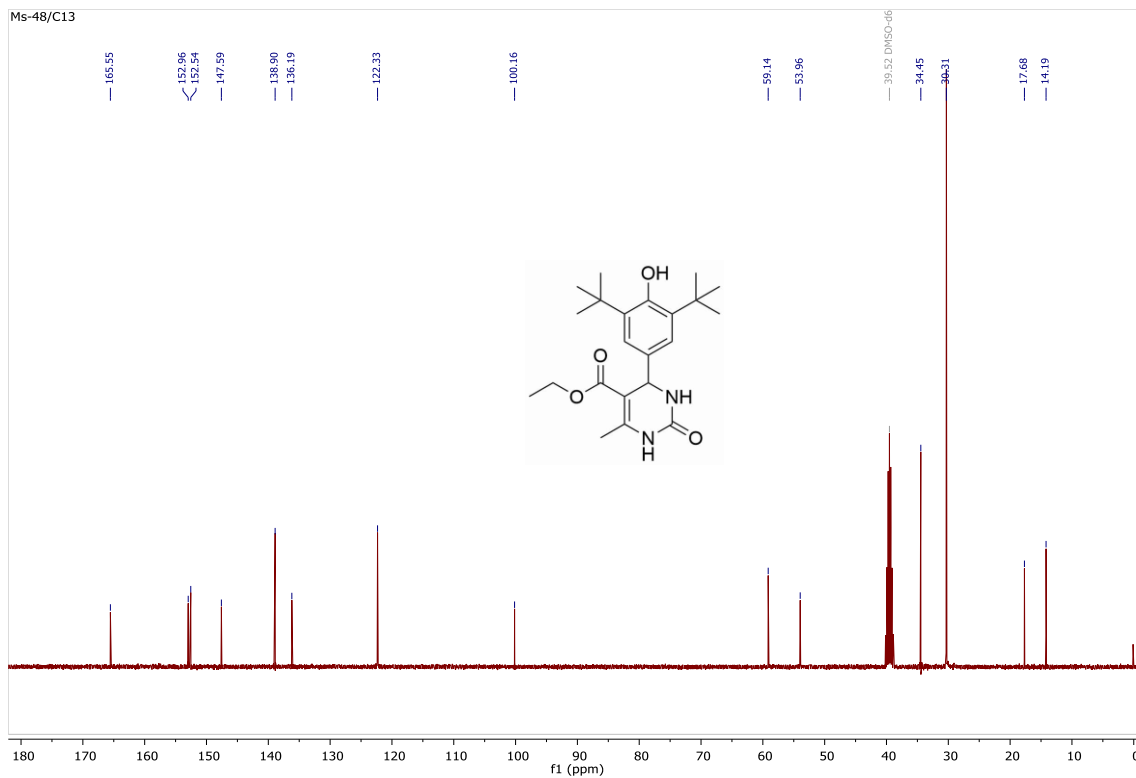


Figura S4. Espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 2a.

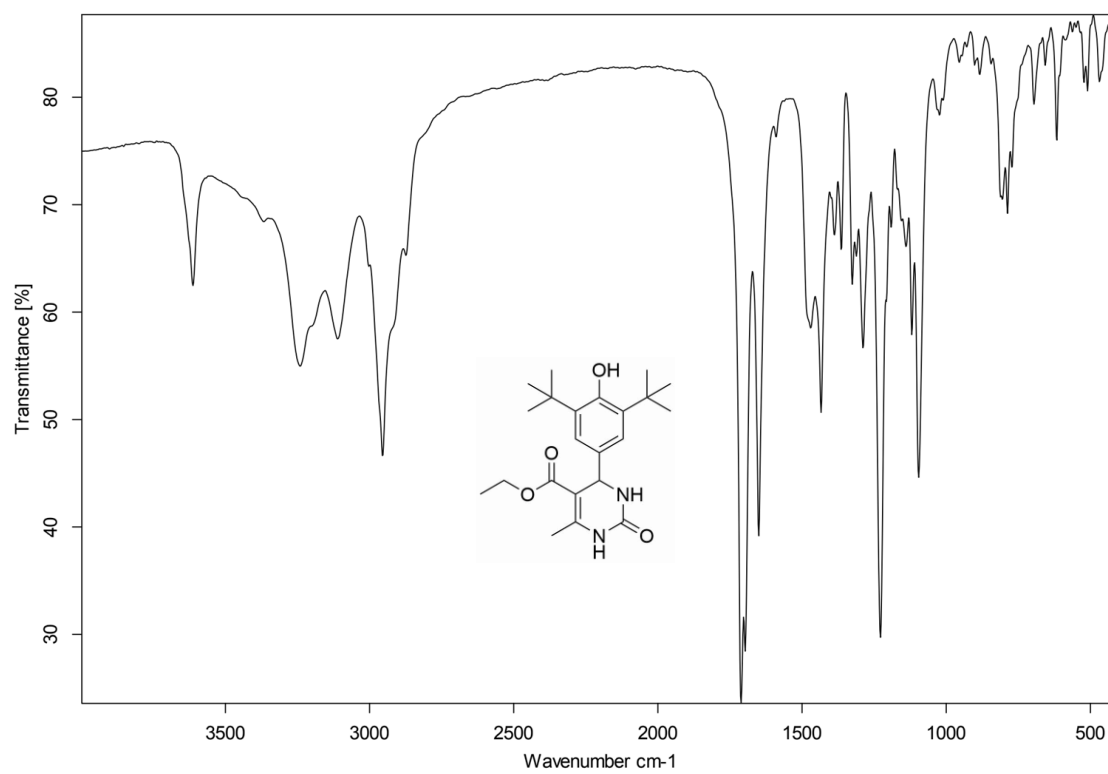


Figura S5. Espectro de infravermelho (KBr) de **2a**.

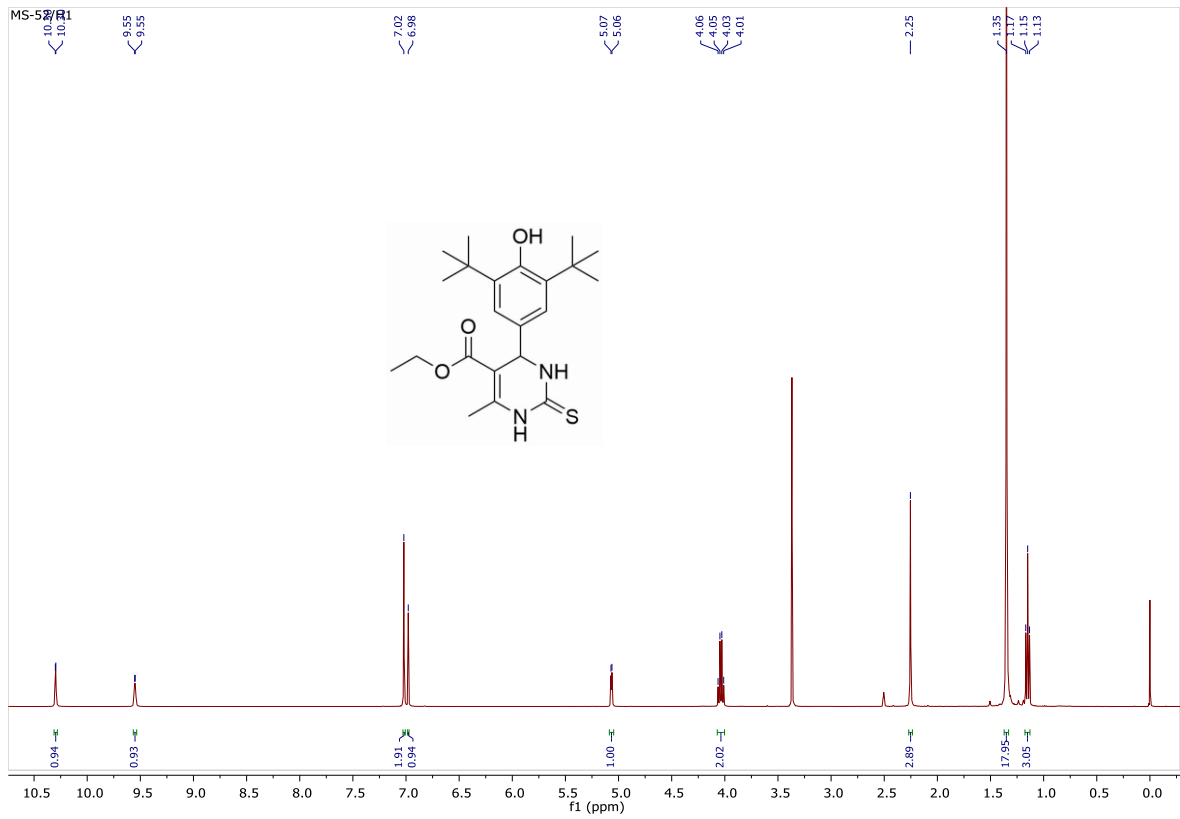


Figura S6. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de **2b**.

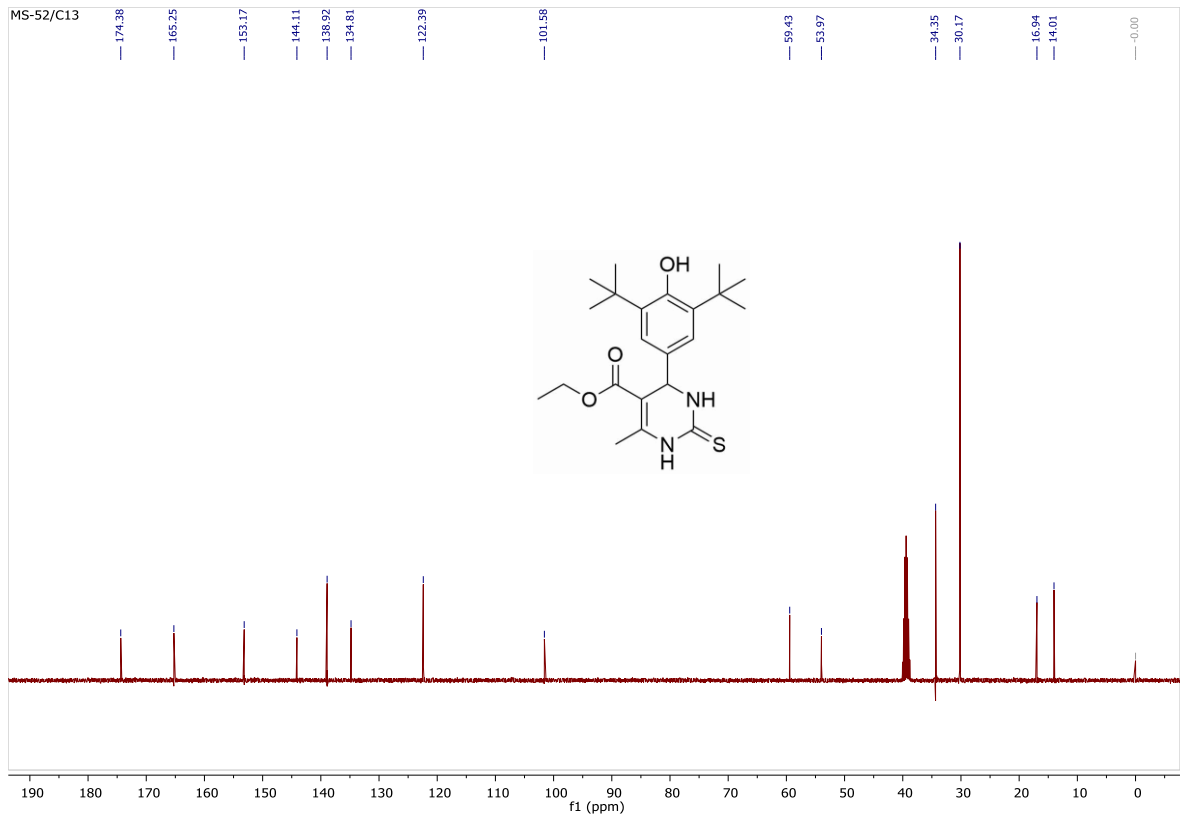


Figura S7. Espectro de RMN de ^{13}C (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de **2b**.

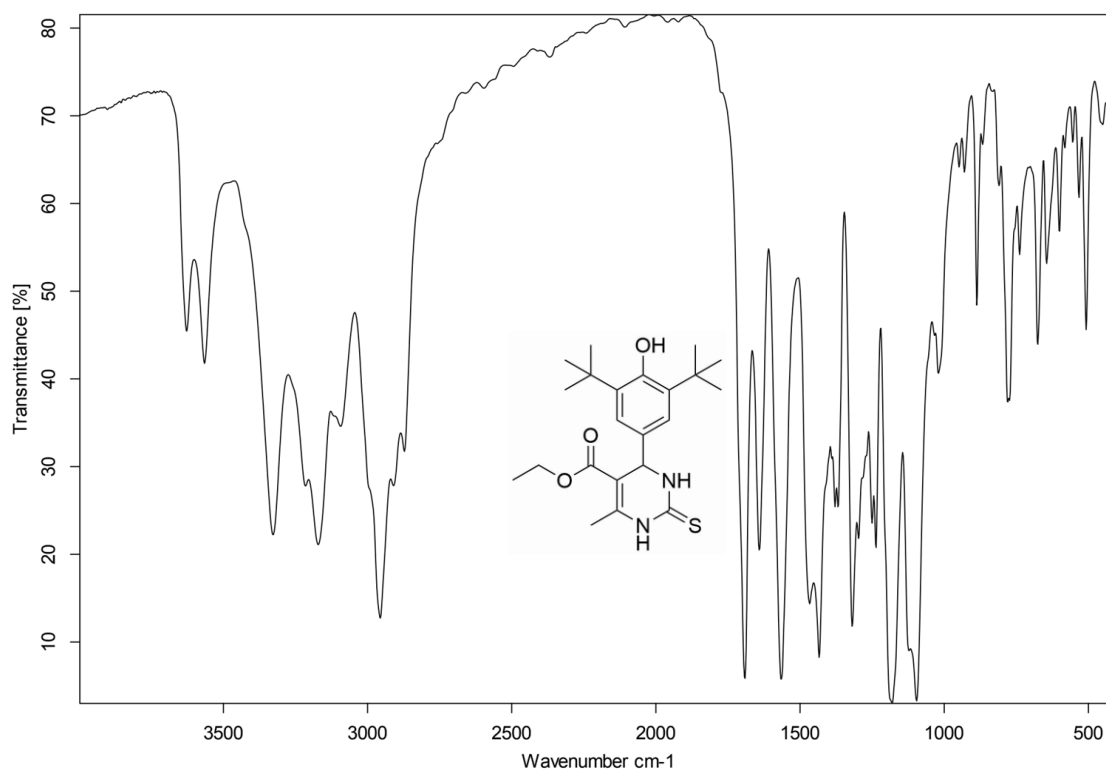


Figura S8. Espectro de infravermelho (KBr) de **2b**.

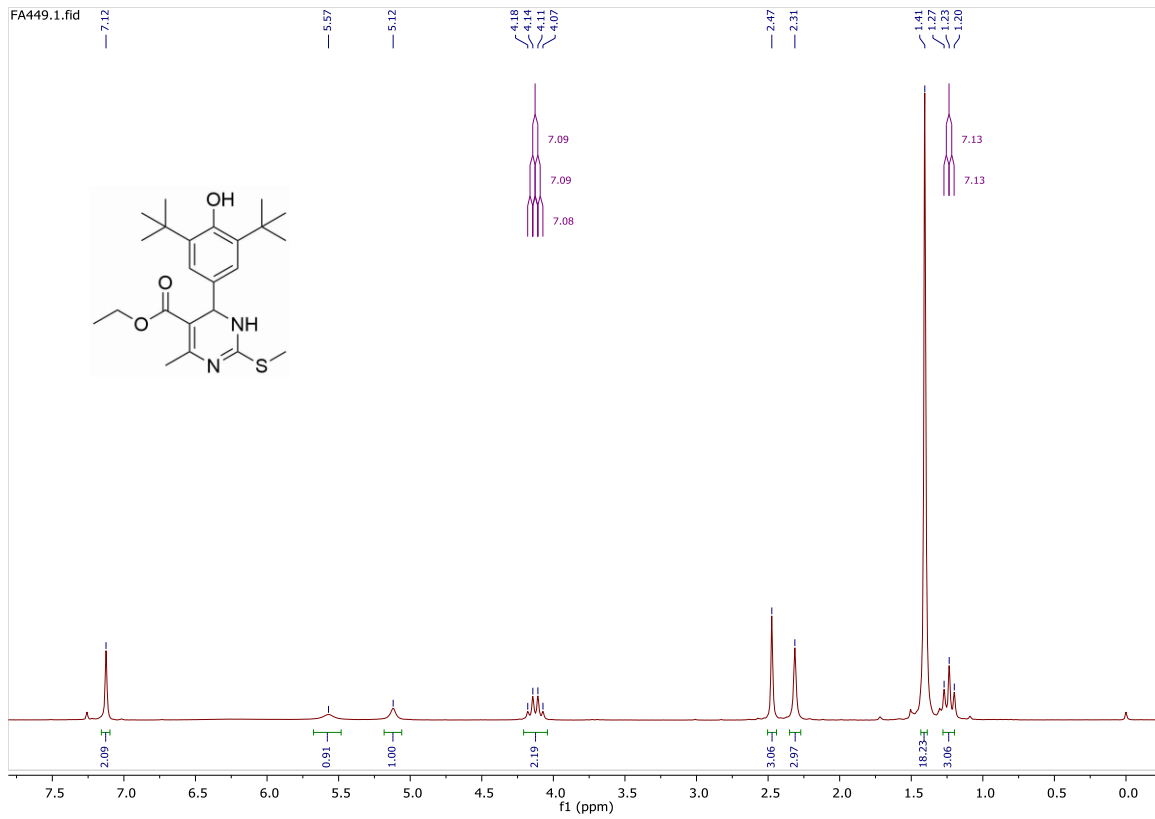


Figura S9. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **2ba**.

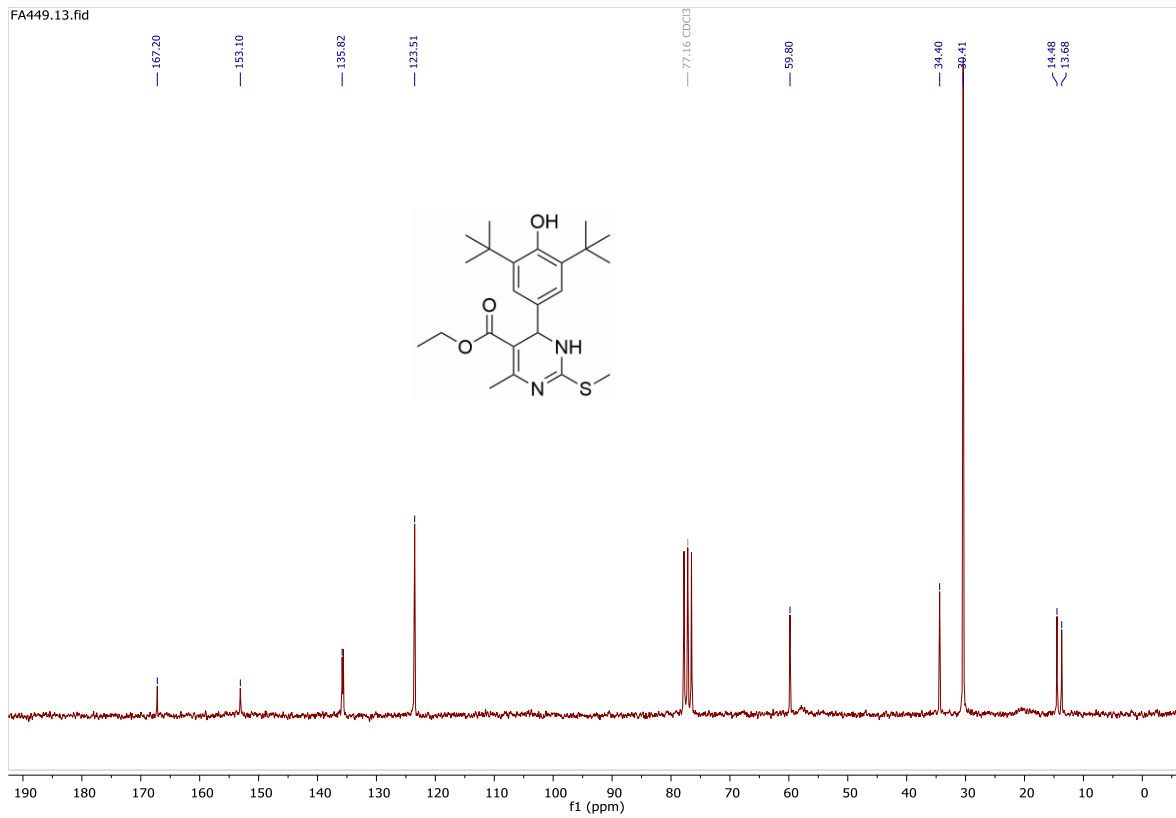


Figura S10 Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de **2ba**.

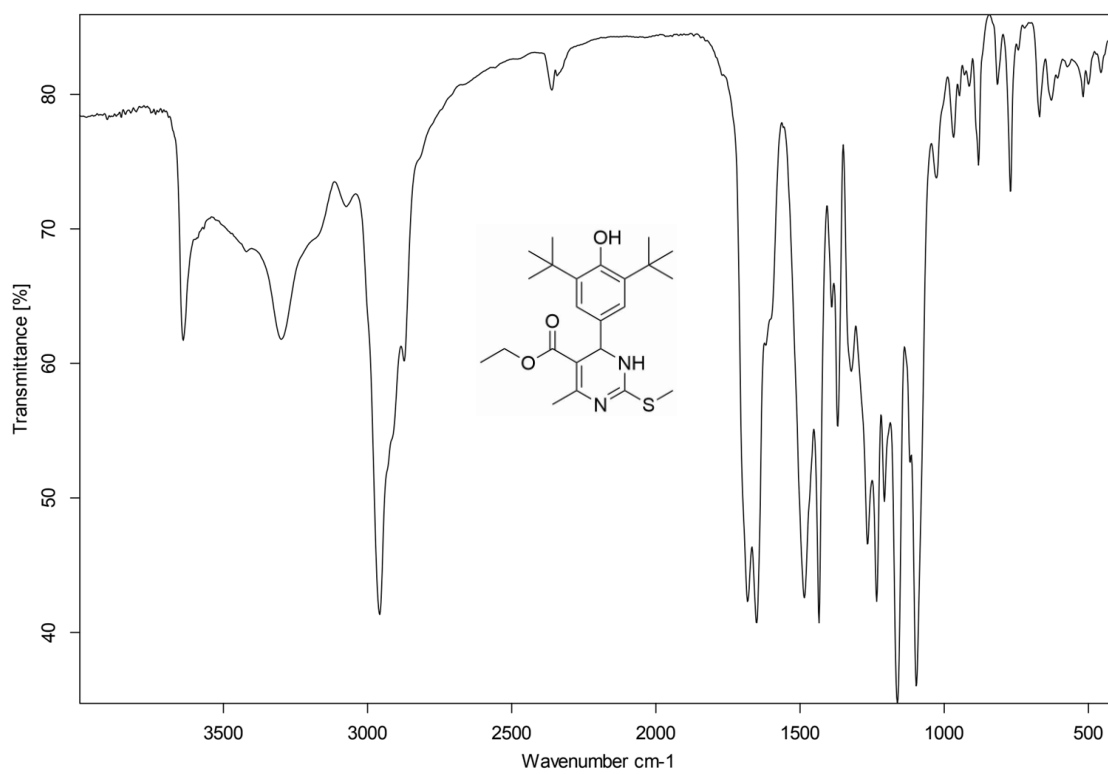


Figura S11. Espectro de infravermelho (KBr) de 2ba.

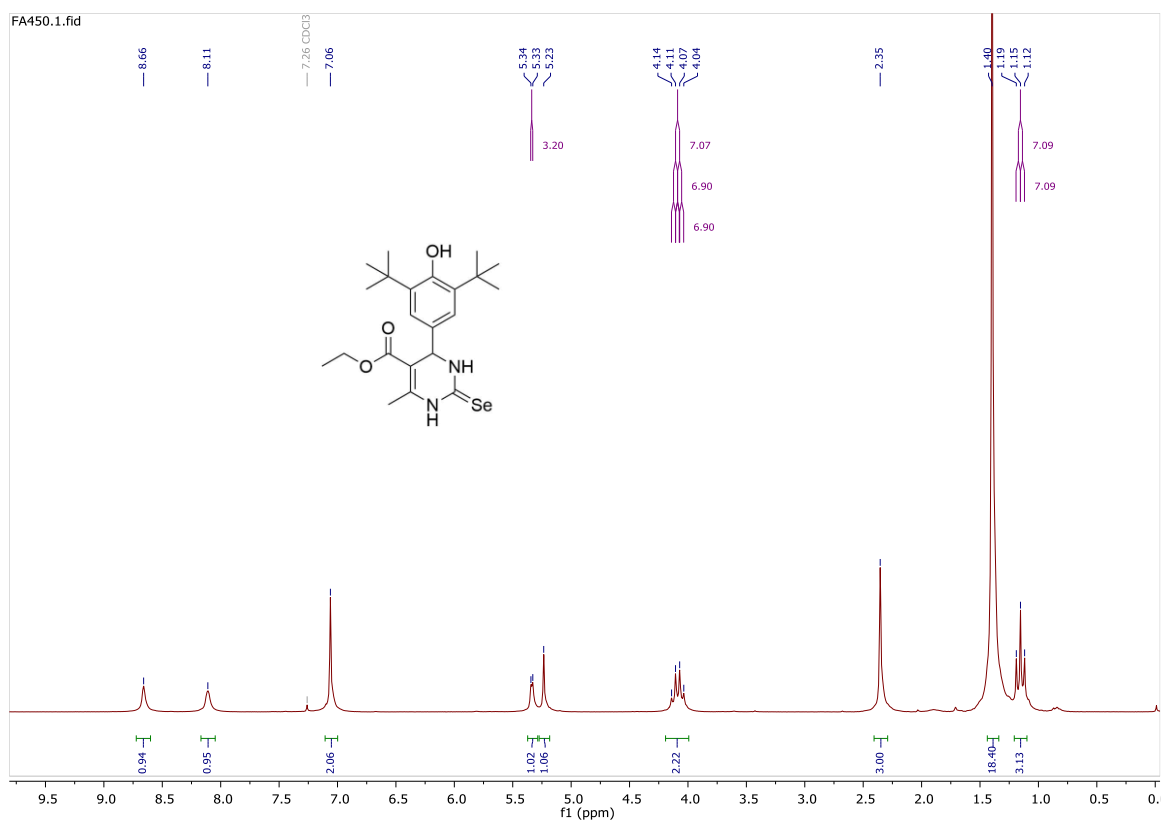


Figura S12. Espectro de RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) de **2c**.

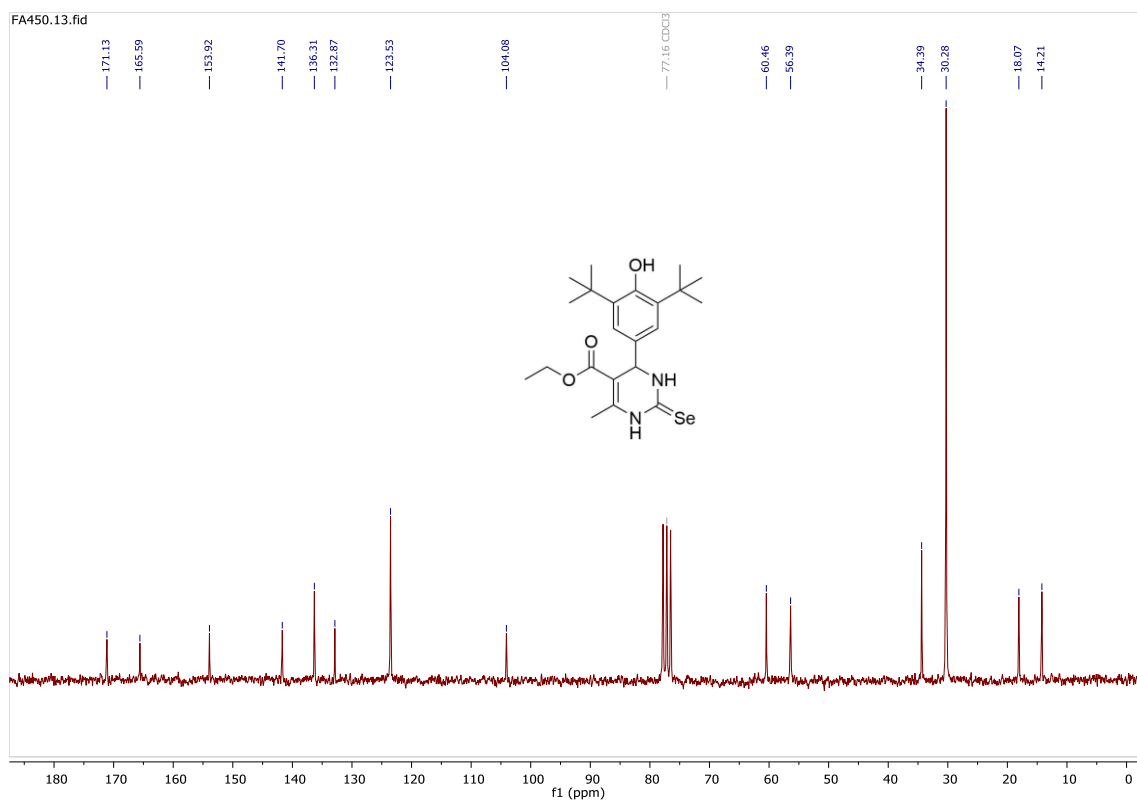


Figura S13. Espectro de RMN de ¹³C (50 MHz, CDCl₃) de **2c**.

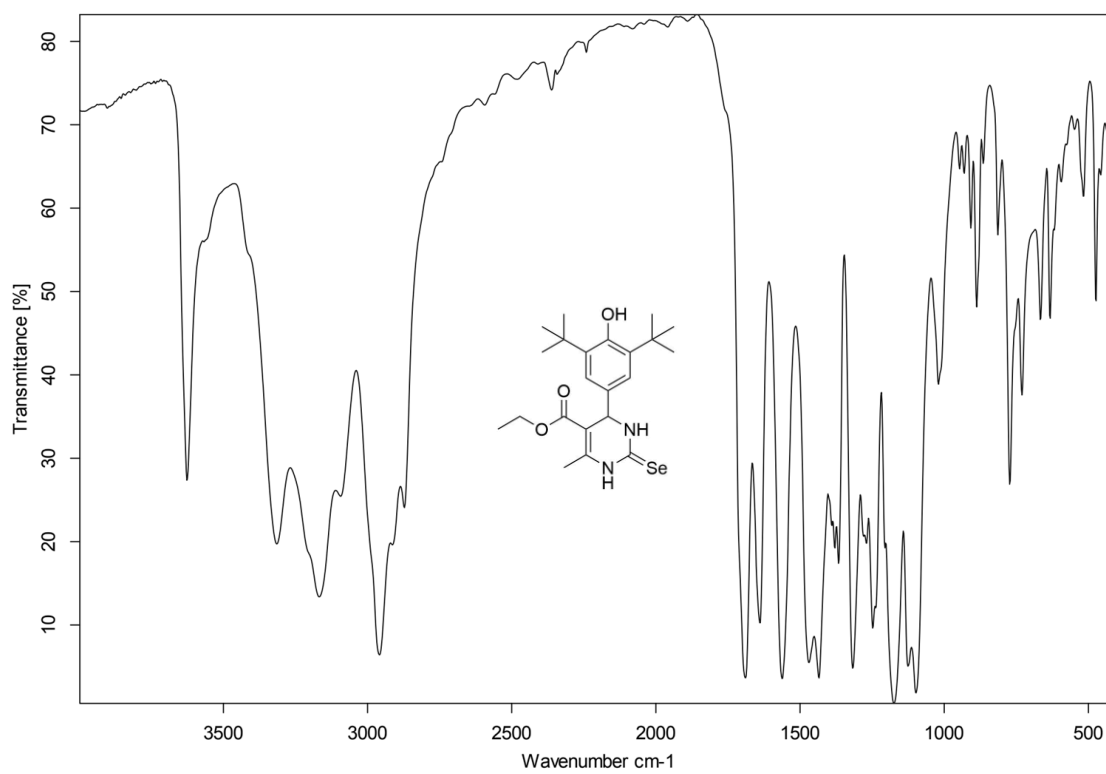


Figura S14. Espectro de infravermelho (KBr) de 2c.

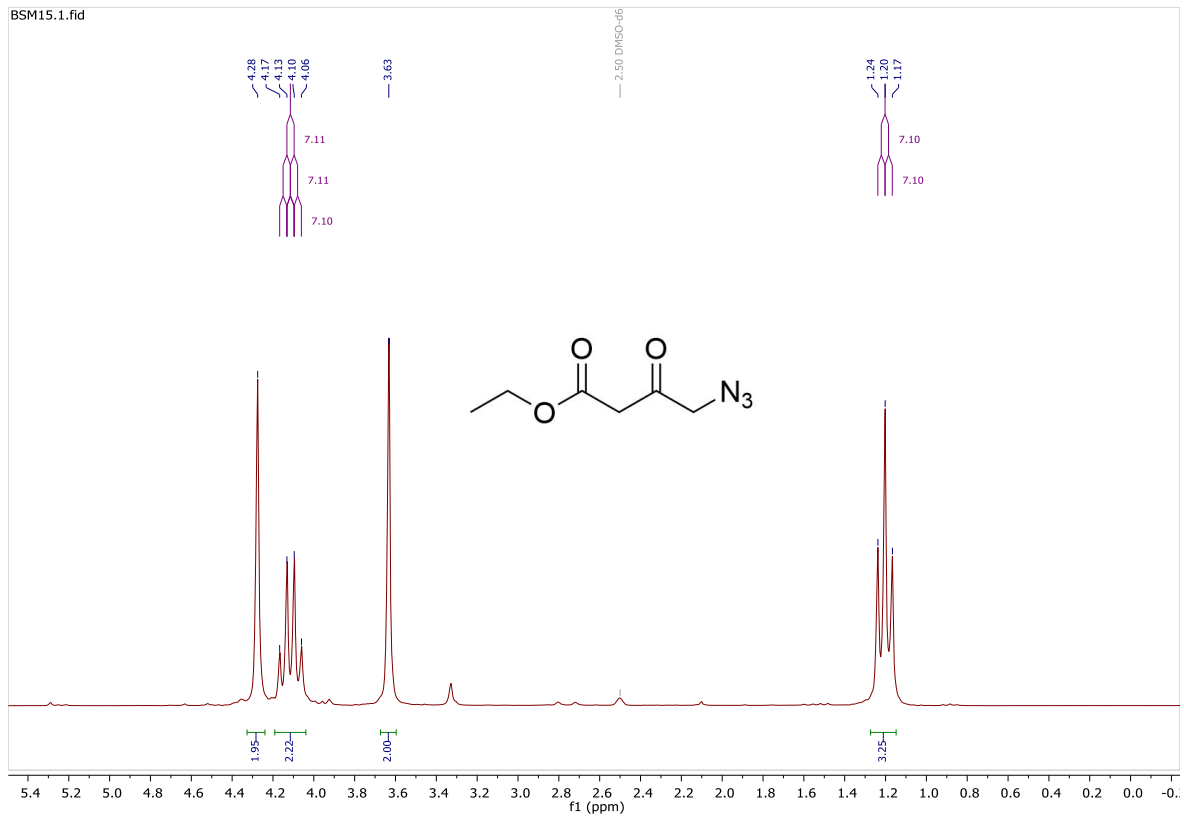


Figura S15. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6) de 3.

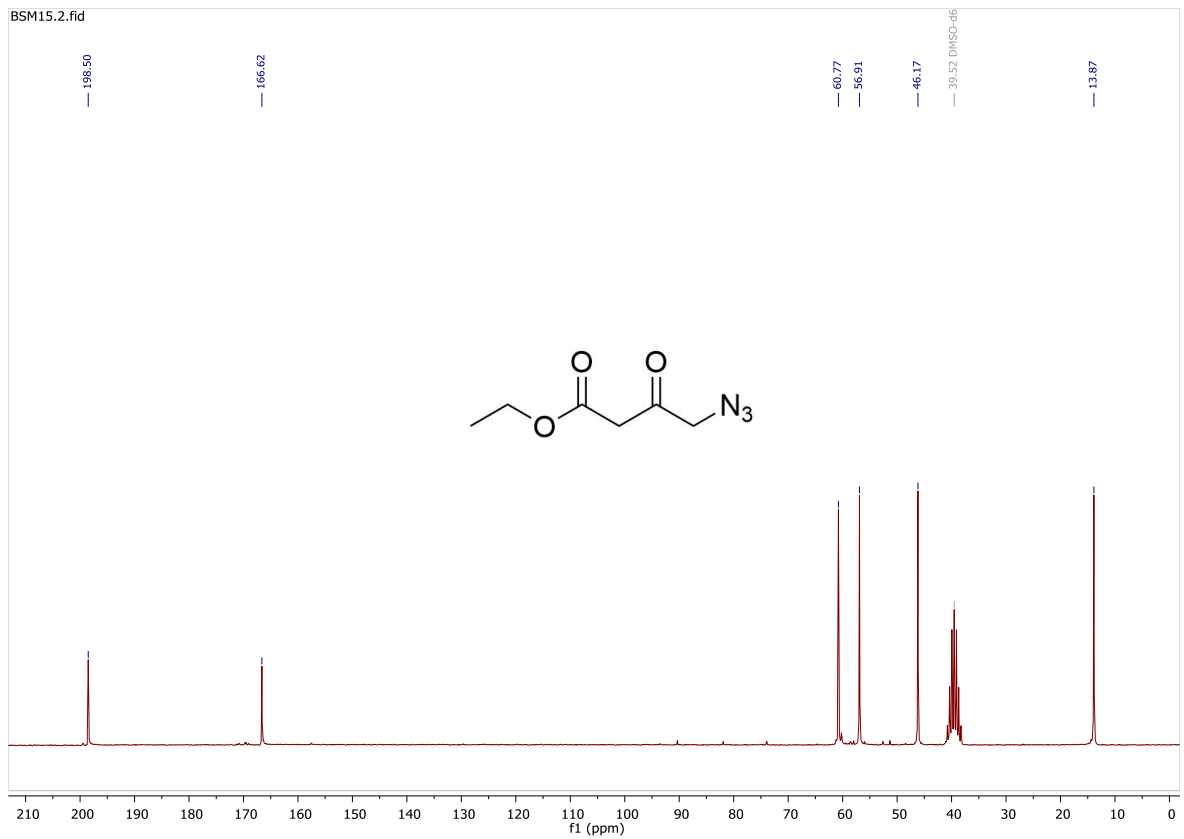


Figura S16. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6) de 3.

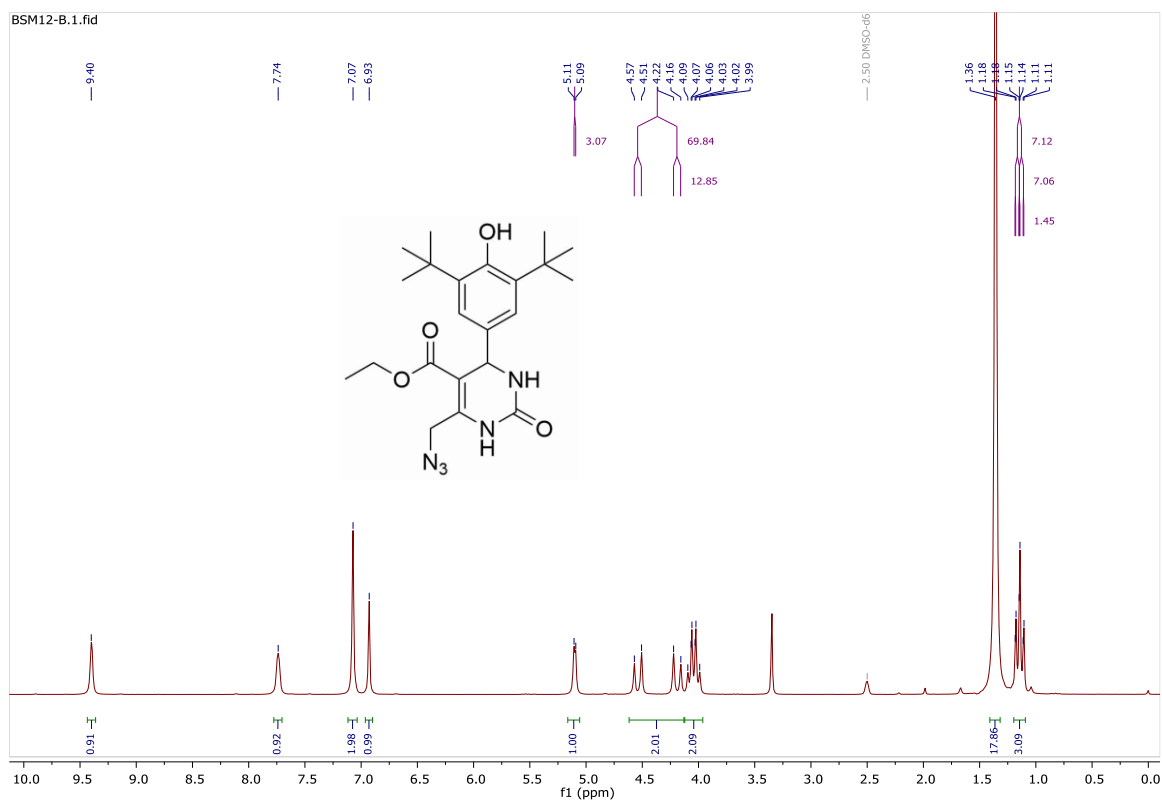


Figura S17. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 4.

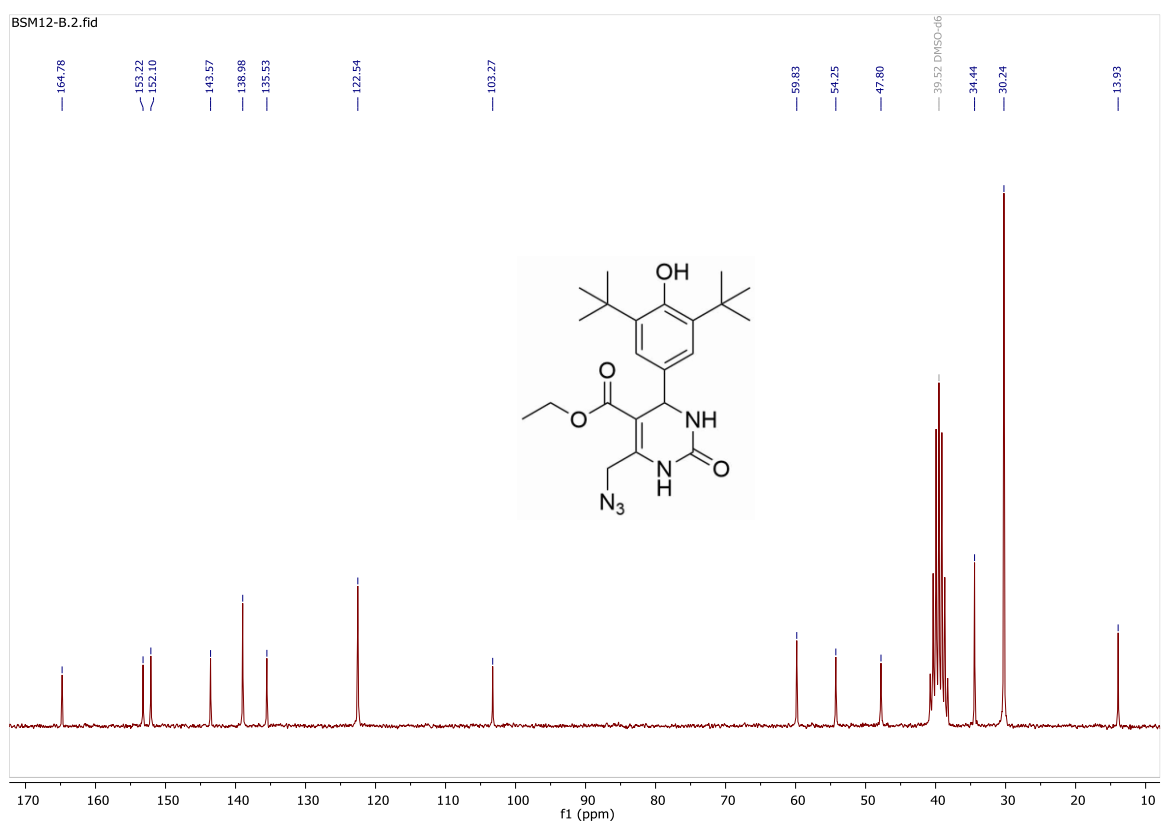


Figura S18. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de 4.

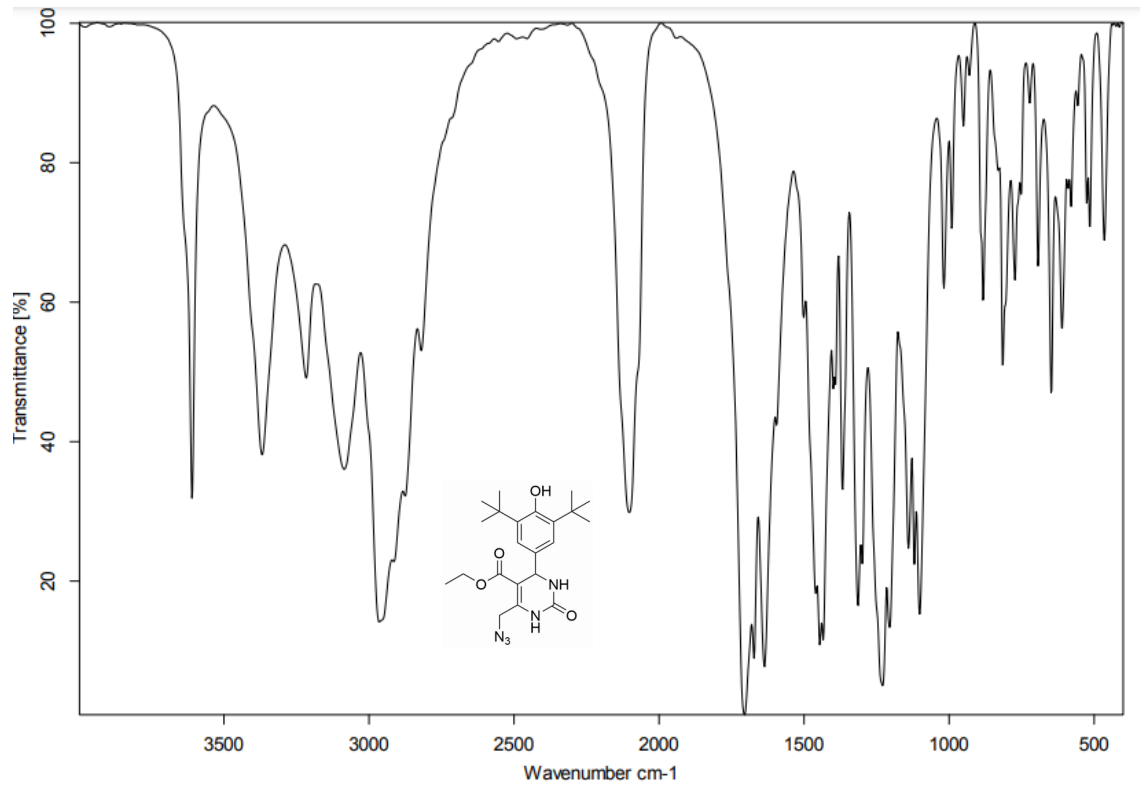
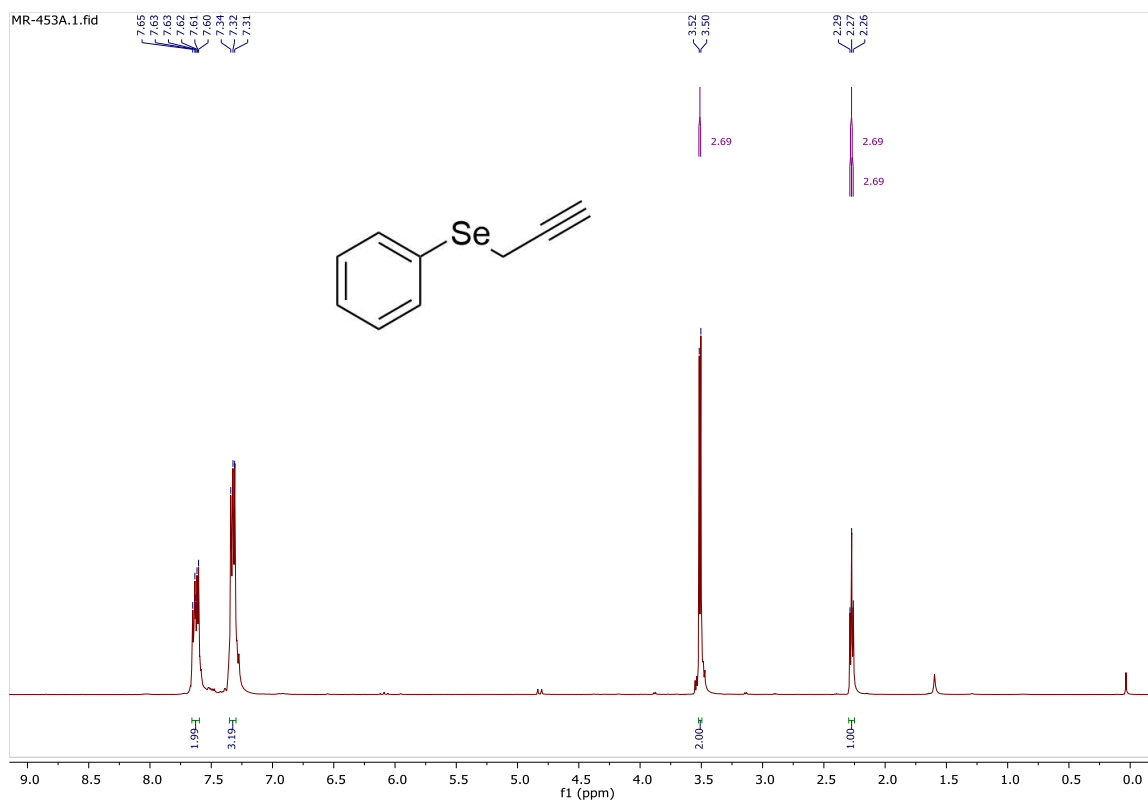
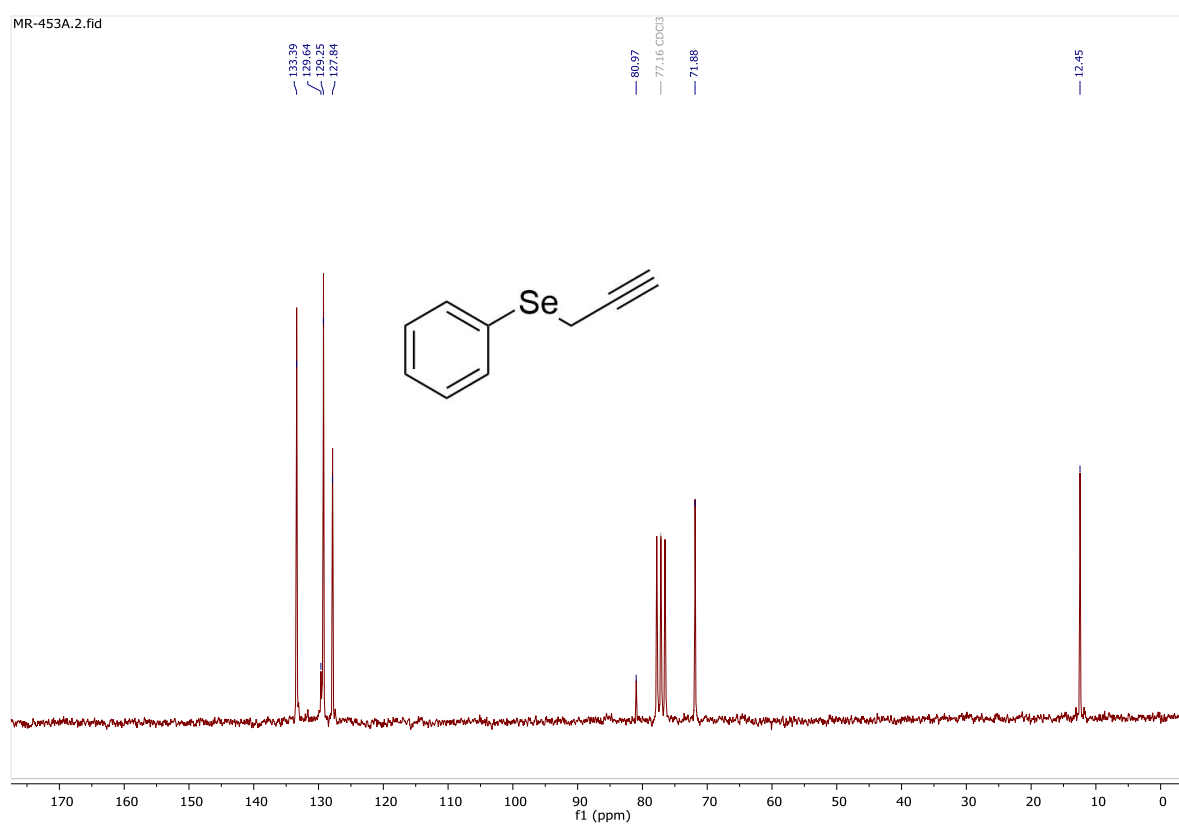
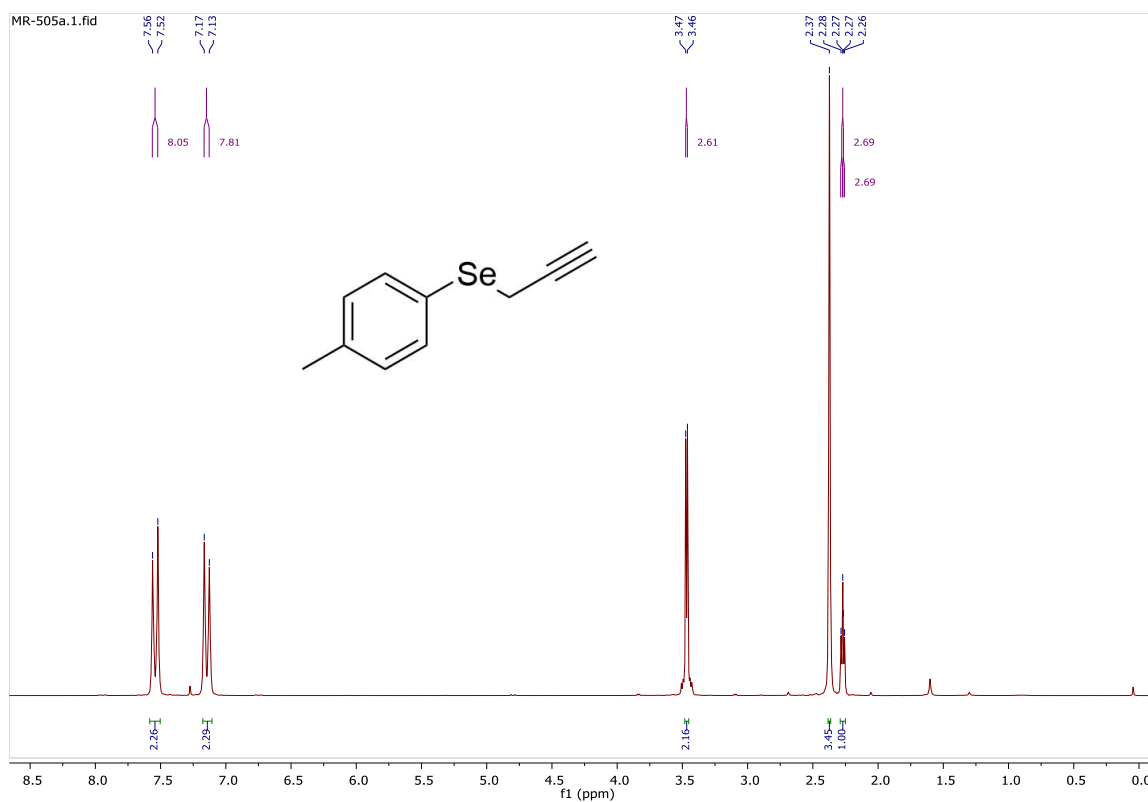
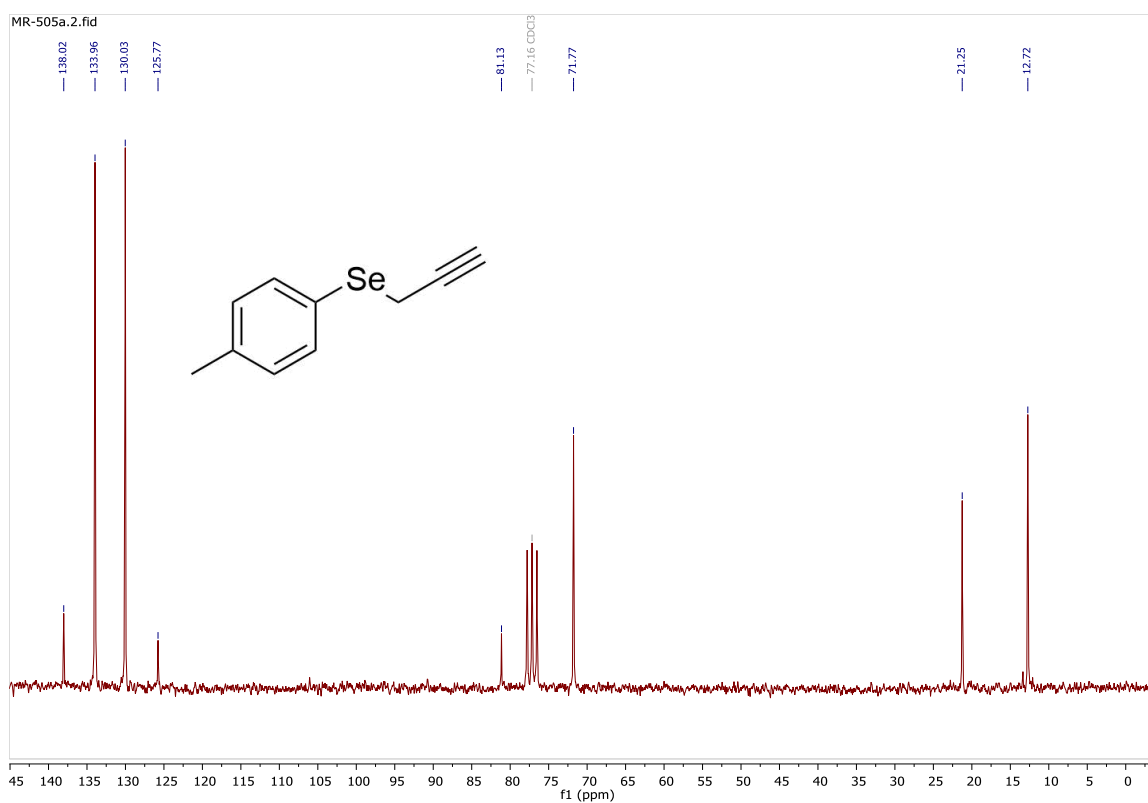


Figura S19. Espectro de infravermelho (KBr) de 4.

Figura S20. RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 5a.Figura S21. RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 5a.

Figura S22. RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de 5b.Figura S23. RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de 5b.

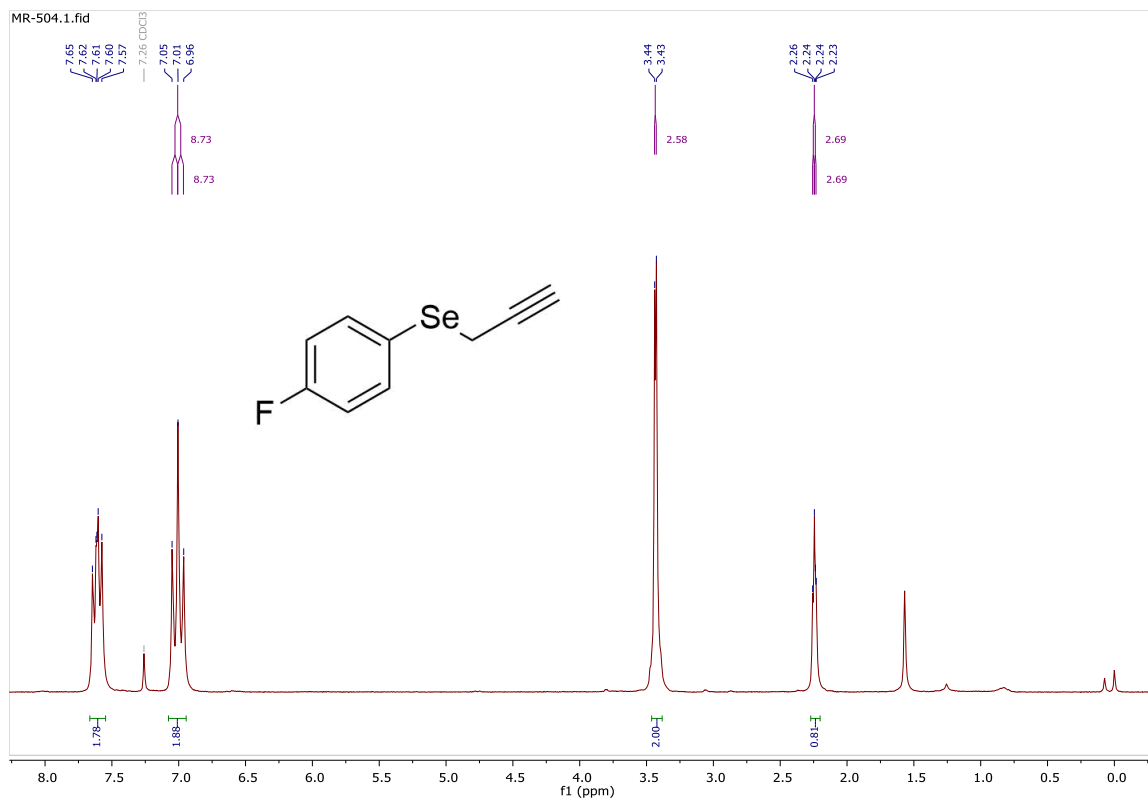


Figura S24. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) de **5c**.

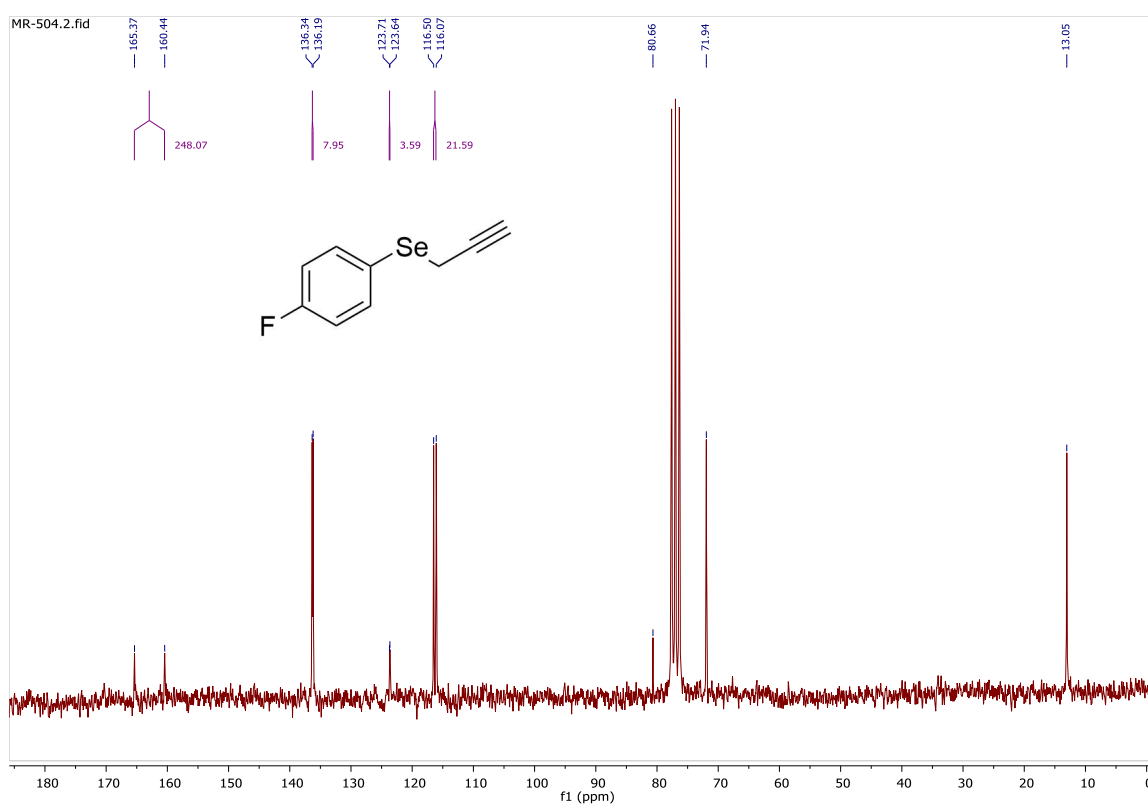
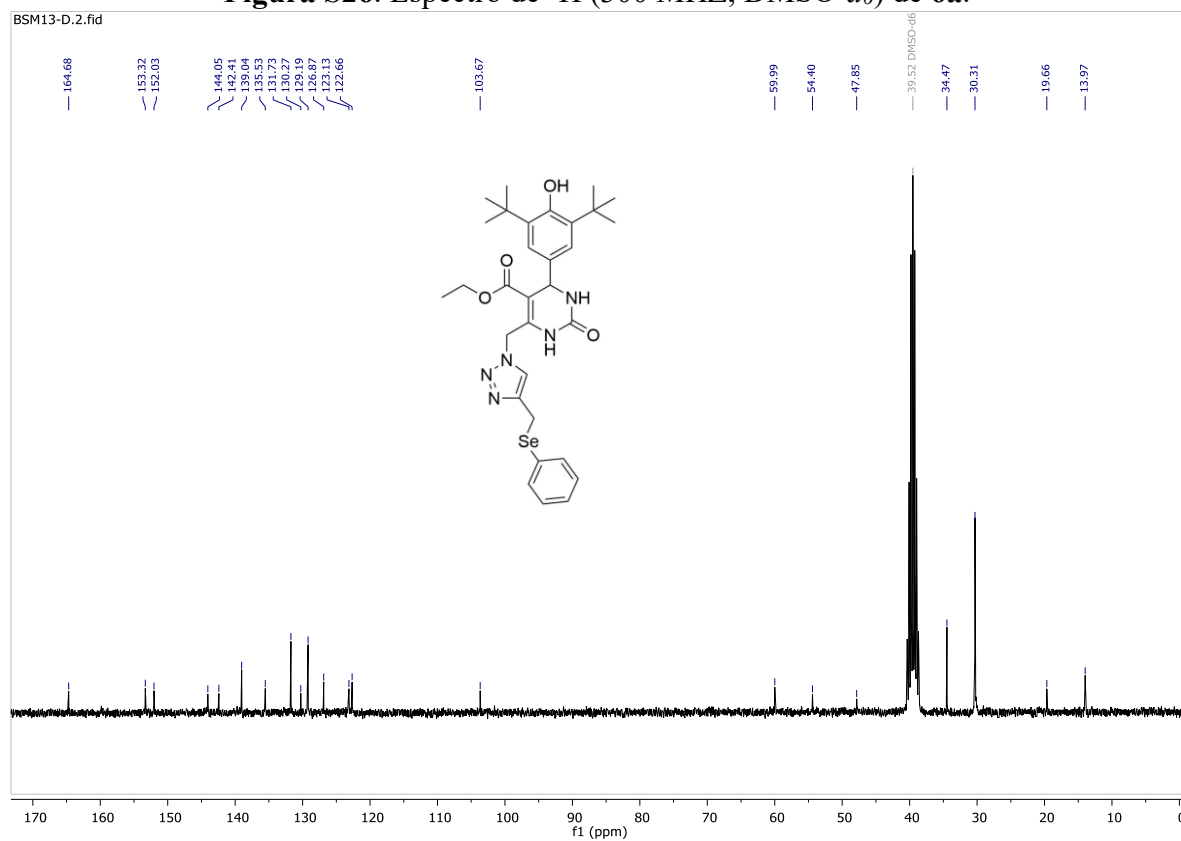
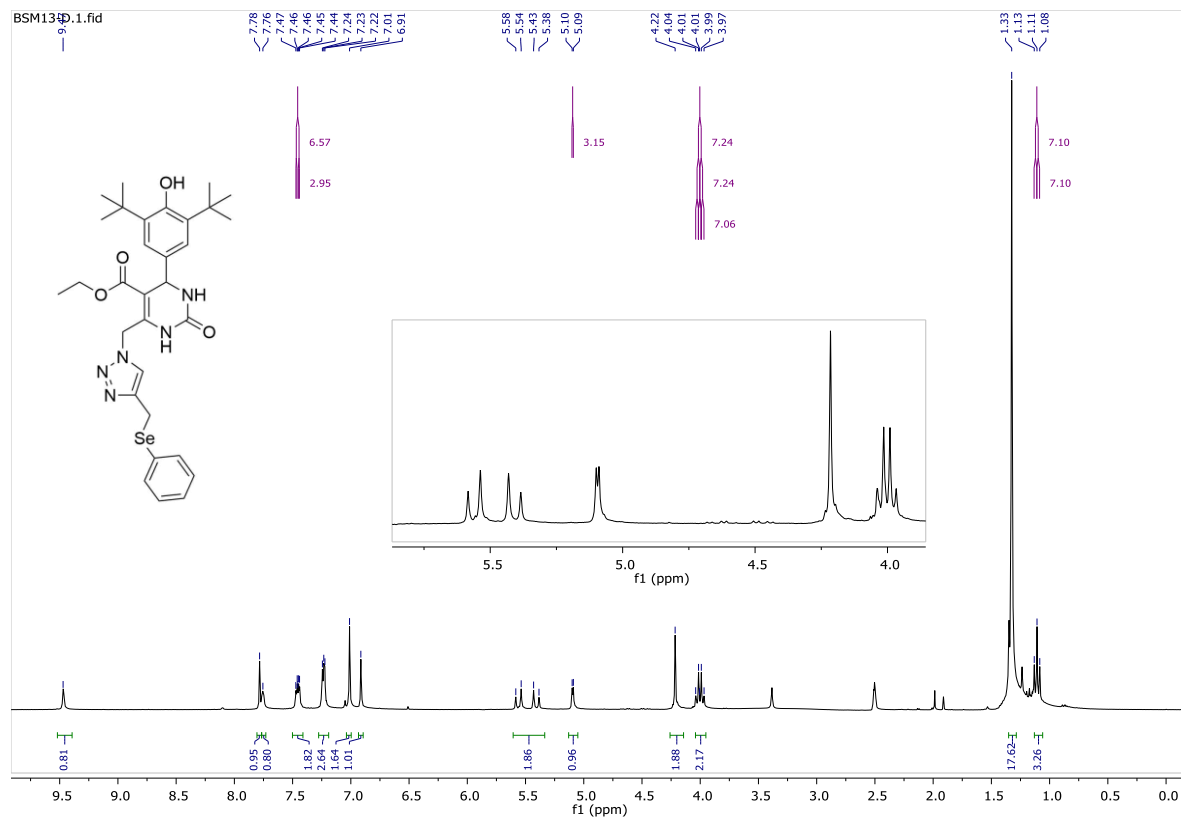


Figura S25. RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) de **5c**.



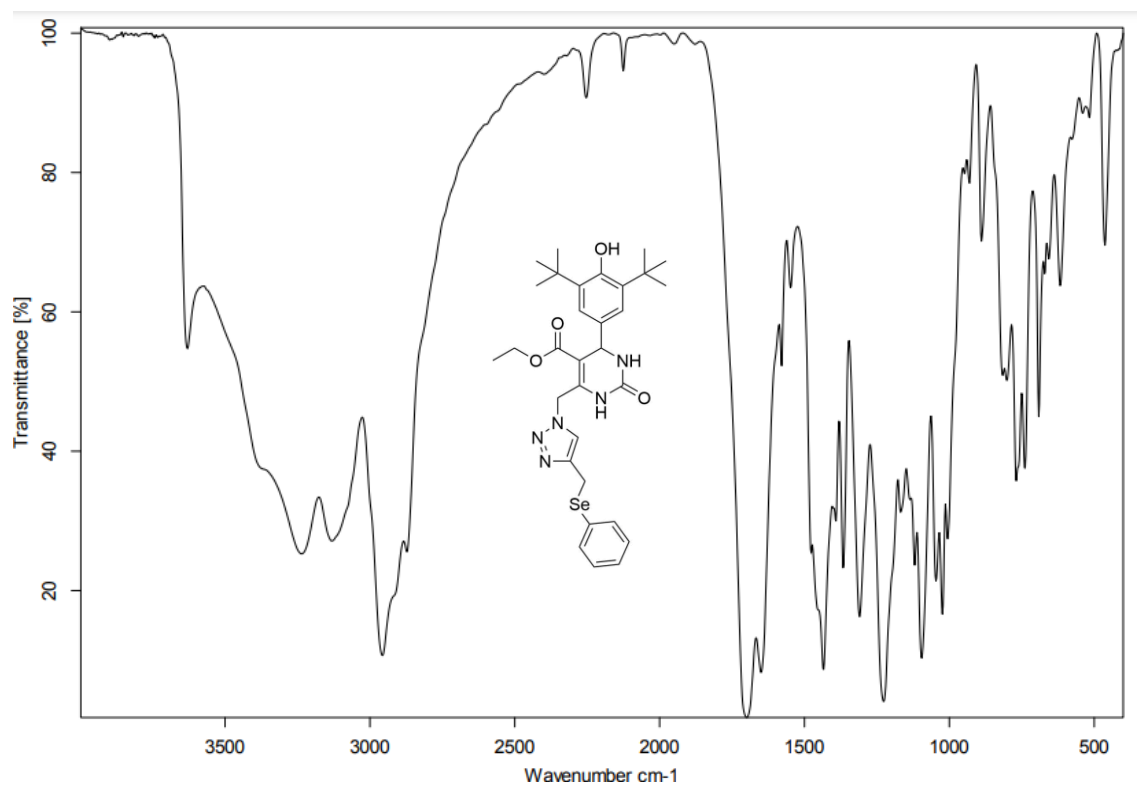


Figura S28. Espectro de infravermelho (KBr) de 6a.

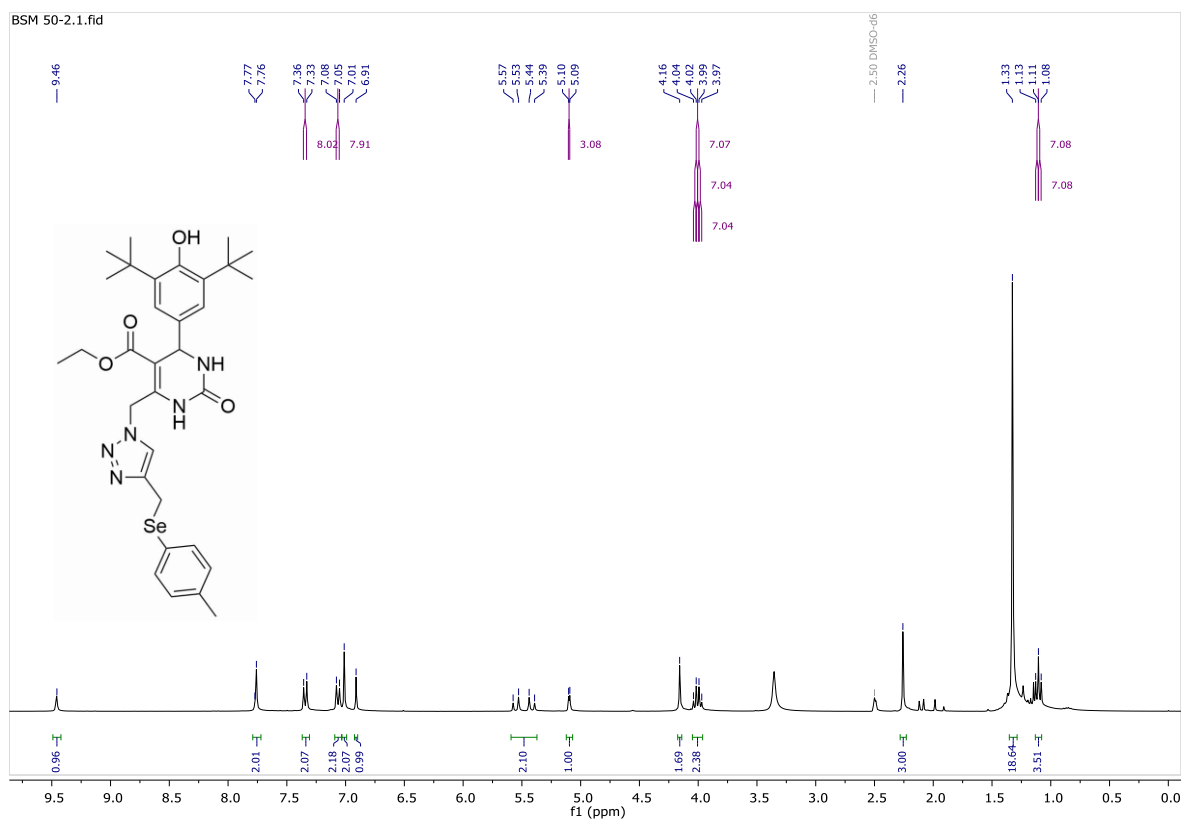


Figura S29. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de **6b**.

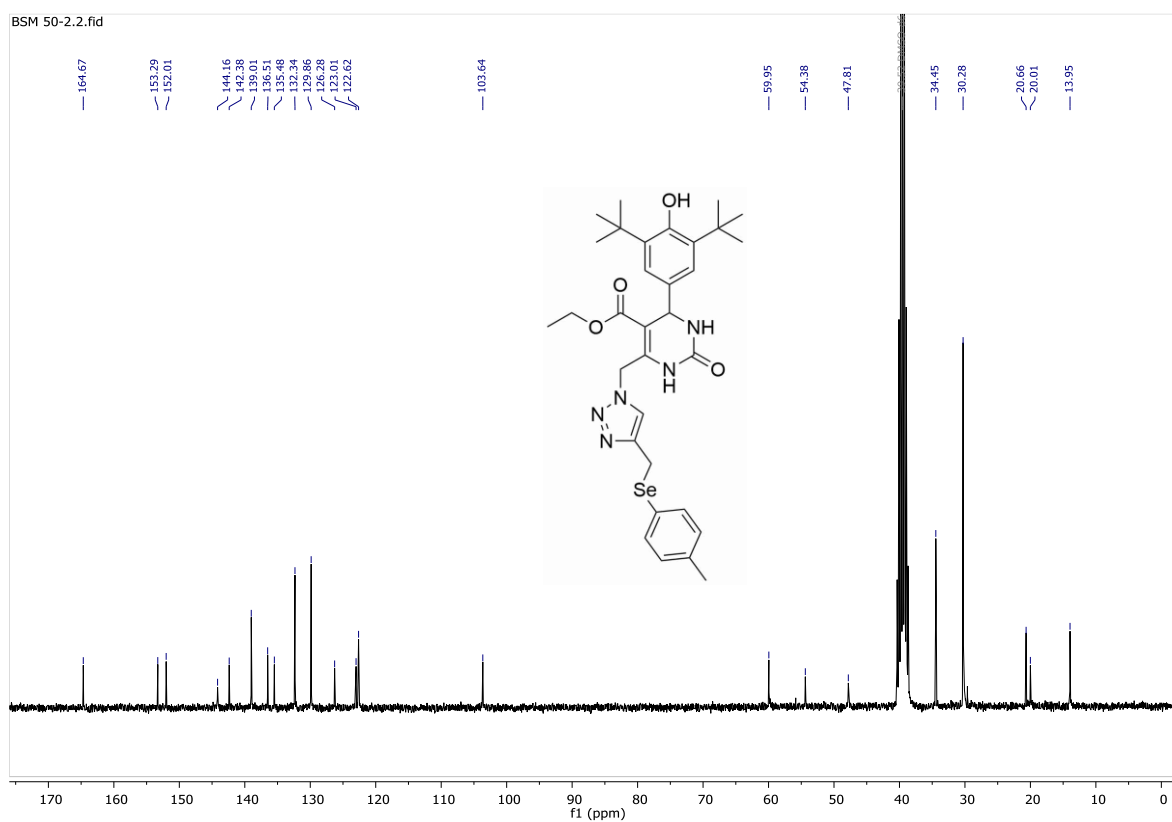


Figura S30. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de **6b**.

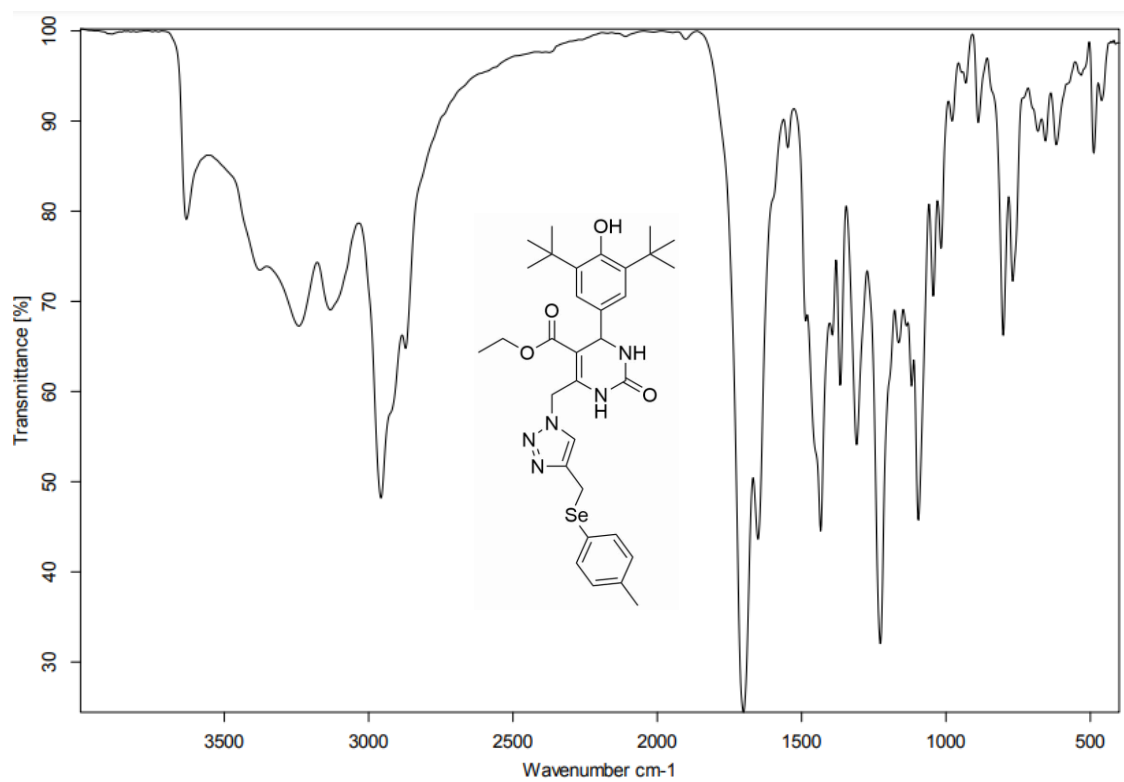


Figura S31. Espectro de infravermelho (KBr) de 6b.

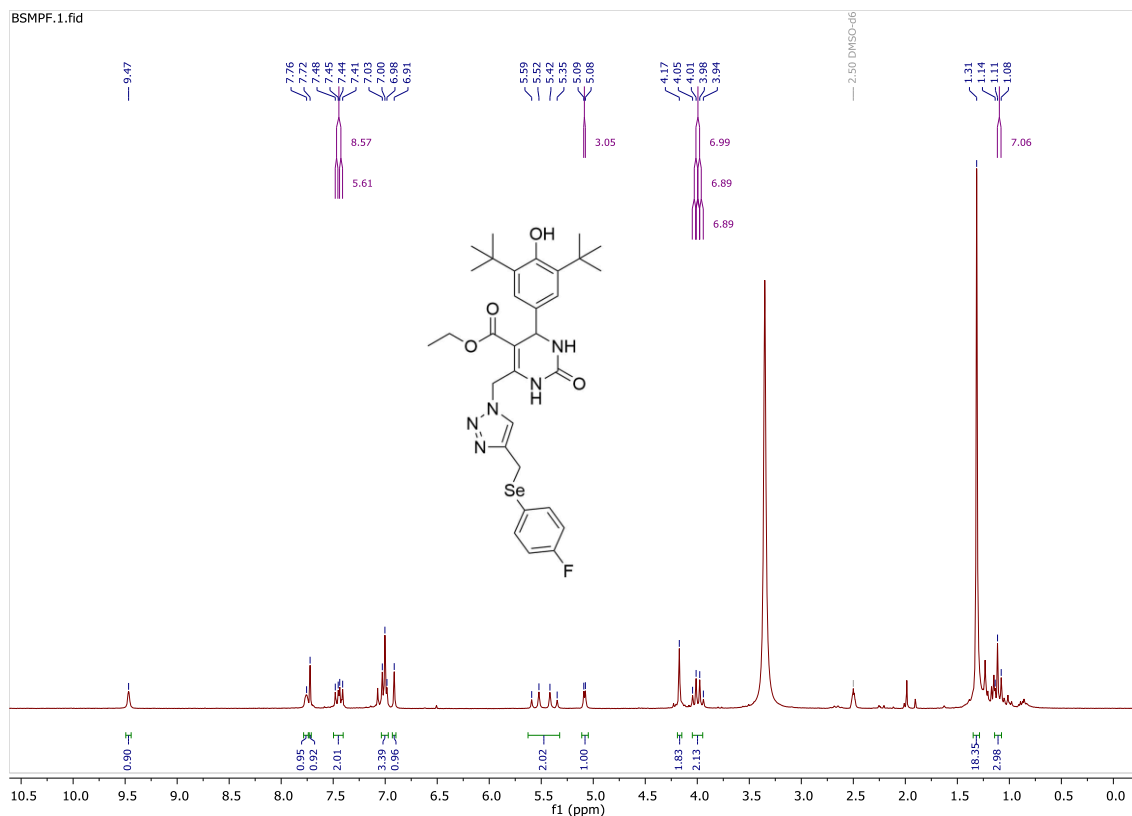


Figura S32. Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de **6c**.

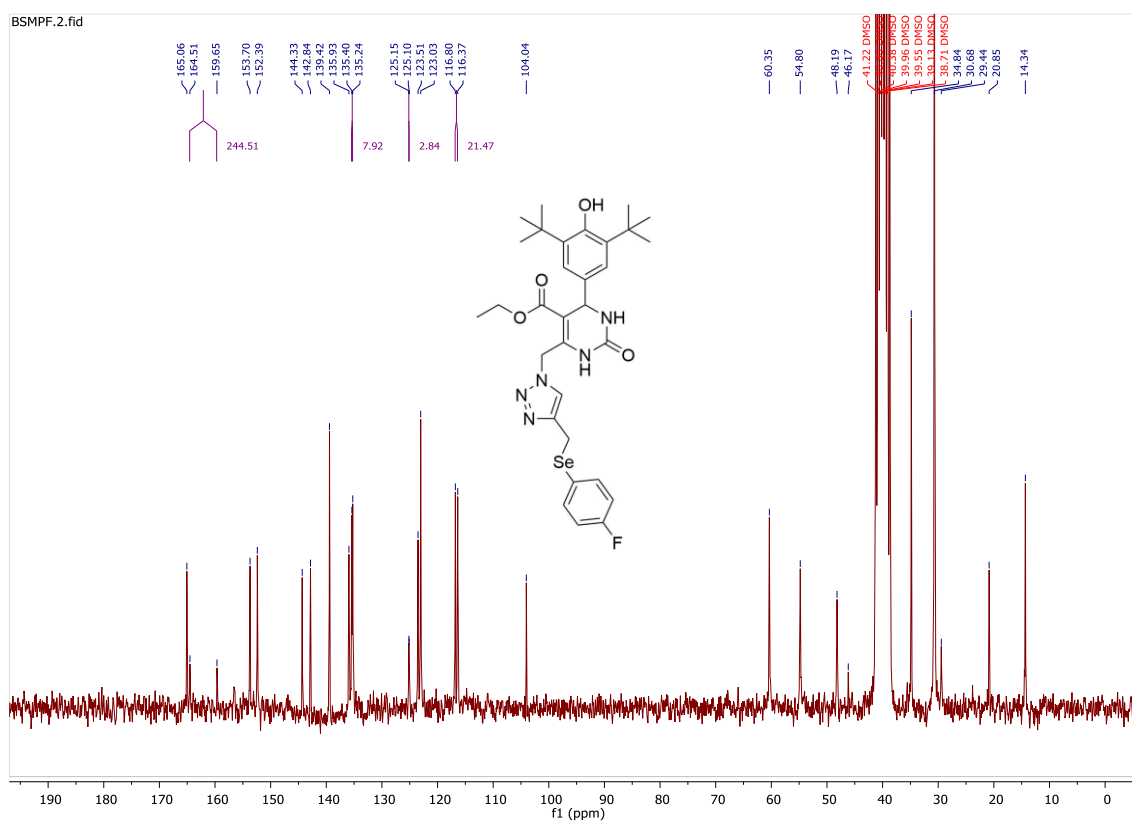


Figura S33. Espectro de RMN de ^{13}C (50 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) de **6c**.

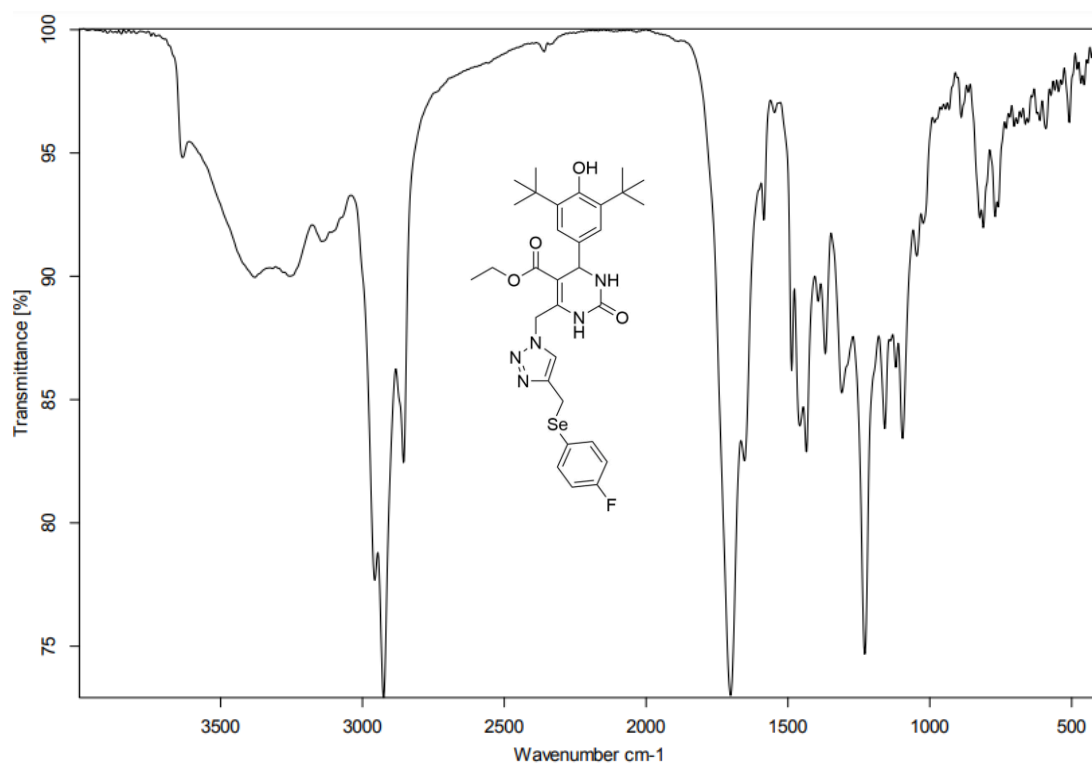


Figura S34. Espectro de infravermelho (KBr) de 6c.