

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

ANA JÚLIA SOARES

**SÍNTESE DE INIBIDORES DE COLINESTERASES DERIVADOS DO NÚCLEO  
ESTRUTURAL IMIDAZOL**

Porto Alegre

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

ANA JÚLIA SOARES

**SÍNTESE DE INIBIDORES DE COLINESTERASES DERIVADOS DO NÚCLEO  
ESTRUTURAL IMIDAZOL**

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso - QUI”, do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi  
Orientador

Porto Alegre

2018

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, Naira e César, por todo o amor, carinho e pelo incentivo que sempre me deram para realizar os meus sonhos.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi, pela excelente orientação, pela dedicação e pelo aprendizado que obtive durante os meus três anos como bolsista de Iniciação Científica.

Ao doutorando Viktor Saraiva Câmara, pelo conhecimento passado, pela colaboração, pelos ensinamentos e companheirismo.

Aos colegas do grupo de pesquisa e do laboratório K215, que sempre me auxiliaram e se tornaram grandes amigos.

Por fim, agradeço à UFRGS e aos professores com quem convivi durante a graduação, que me proporcionaram um excelente ensino.

## RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa que causa a perda irreversível das funções cerebrais, sendo a forma mais comum de demência. Ainda não existe uma cura para a DA, mas existem tratamentos paliativos que visam à melhoria da qualidade de vida dos pacientes. Dentre esses tratamentos, está o uso de inibidores de colinesterases (ChEIs), que têm como objetivo restaurar os níveis do neurotransmissor acetilcolina, para a potencialização das sinapses químicas. A tacrina foi o primeiro fármaco aprovado para o tratamento da DA, porém encontra-se em desuso devido à sua hepatotoxicidade. Entretanto, estudos mostraram que a utilização de dois núcleos tacrina separados por uma cadeia metilência espaçadora de sete carbonos levou a uma maior atividade de inibição das enzimas colinesterases. A partir disso, novas moléculas que seguem esse modelo estão sendo sintetizadas e testadas como ChEIs.

Neste trabalho foram sintetizados três heterodímeros bis(6)-lofina contendo um anel piridínico, visando à continuidade de estudos realizados previamente por nosso grupo de pesquisa. Para isso, foi realizada a síntese do intermediário *N*-hexanoaminolofina, estudando-se a influência de quatro ácidos de Lewis como catalisadores da reação de condensação tetracomponente, utilizando o forno de micro-ondas. Ainda, foi realizado um modelo de metilação do nitrogênio piridínico das heterolofinas a partir de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular -  $S_N2$  dos compostos butil-lofínicos piridínicos com o iodometano. Os compostos obtidos foram purificados e caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono (RMN  $^1H$  e RMN  $^{13}C$ ). Os heterodímeros serão encaminhados para a avaliação da inibição das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE).

**Palavras-chave:** Doença de Alzheimer, Síntese Orgânica, Lofina, Inibidores, Colinesterases.

## ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder that causes irreversible loss of brain functions, being the most common form of dementia. There is still no cure for AD, but there are palliative treatments aimed at improving patients' quality of life. One of these treatments is the use of cholinesterase inhibitors, which restores levels of the neurotransmitter acetylcholine potentiating the chemical synapses. Tacrine was the first drug approved for the treatment of AD, but the use was discontinued due to its hepatotoxicity. However, studies have shown that the use of two Tacrine nuclei separated by a heptylene linker allowed a greater inhibition activity of the cholinesterase enzymes. In this sense, new molecules that follow this model have been synthesized and tested as cholinesterase inhibitors.

In this work, three novel substituted bis(6)-lophine heterodimers were synthesized to evaluate the effect of heterocyclic nitrogen in the phenyl ring of lophine. First, the synthesis of the intermediate *N*-hexaneaminelophine was performed, studying the influence of four Lewis acids as catalysts of the fourcomponent condensation reaction, using the microwave oven. Also, a methylation model of the pyridine nitrogen of the heterolophines was carried out from a bimolecular nucleophilic substitution reaction -  $SN_2$  of the pyridinic butyl-lophine compounds with iodomethane. The obtained compounds were purified and characterized by proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1H$  and  $^{13}C$  NMR). The heterodimers will be forwarded for the evaluation of the inhibition of the enzymes acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE).

**Keywords:** Alzheimer's Disease, Organic Synthesis, Lophine, Inhibitors, Cholinesterases.

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Biossíntese do neurotransmissor acetilcolina .....	13
Esquema 2 - Hidrólise da acetilcolina .....	13
Esquema 3 - Mecanismo de hidrólise do neurotransmissor acetilcolina catalisado pela enzima acetilcolinesterase.....	16
Esquema 4 - Reação de obtenção da <i>N</i> -hexanoaminolofina .....	25
Esquema 5 - Mecanismo proposto para a reação de condensação tetracomponente .....	26
Esquema 6 - Reação de obtenção dos heterodímeros bis(6)-lofina.....	28
Esquema 7 - Reação de obtenção das butil-lofinas piridínicas .....	31
Esquema 8 - Reação de metilação das butil-lofinas piridínicas.....	35

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da tacrina e do núcleo lofina.....	10
Figura 2 - Representação simplificada da sinapse colinérgica.....	13
Figura 3 - Representação da cavidade enzimática das ChEs.....	15
Figura 4 - Cavidade enzimática da AChE <i>versus</i> BuChE.....	15
Figura 5 - Fármacos aprovados para o tratamento da DA.....	17
Figura 6 - Estrutura e capacidade de inibição da tacrina e do bis(7)-tacrina.....	18
Figura 7 - Representação da dupla interação enzimática de um dímero bis(n)-tacrina .....	19
Figura 8 - Exemplos de dímeros inibidores de colinesterases.....	20
Figura 9 - Dímeros bis(7)-tacrina quirais sintetizados pelo grupo de pesquisa.....	20
Figura 10 - Estrutura do núcleo imidazol e derivados que apresentam atividade biológica.....	21
Figura 11 - Dímero bis(8)-lofina sintetizado pelo grupo de pesquisa.....	22
Figura 12 - Estrutura dos híbridos tacrina-lofina e lofina-benzilamina.....	22
Figura 13 - <i>Docking</i> molecular do híbrido lofina(6)-2-cloro-benzilamina.....	23
Figura 14 - Dímeros bis(7)-lofina piridínicos.....	24
Figura 15 - Retrossíntese proposta para esse trabalho.....	25
Figura 16 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>5</b> .....	28
Figura 17 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>7c</b> .....	29
Figura 18 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (APT, 100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>7c</b> .....	30
Figura 19 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>9b</b> .....	31
Figura 20 - Espectro de RMN bidimensional $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>9b</b> .....	32
Figura 21 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (APT, $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do composto <b>9b</b> .....	33
Figura 22 - Espectro de RMN bidimensional $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>9b</b> .....	34
Figura 23 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>11b</b> .....	36
Figura 24 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ (APT, 75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do composto <b>11b</b> .....	36

## ABREVIATURAS

<b>Acetil-CoA</b>	Acetil-coenzima A
<b>ACh</b>	Acetilcolina
<b>AChE</b>	Acetilcolinesterase
<b>APT</b>	<i>Attached Proton Test</i>
<b>BuChE</b>	Butirilcolinesterase
<b>CAS</b>	<i>Catalytic active site</i>
<b>ChAT</b>	Colina acetiltransferase
<b>ChEIs</b>	Inibidores de colinesterases
<b>ChEs</b>	Colinesterases
<b>COSY</b>	<i>Correlation Spectroscopy</i>
<b>DA</b>	Doença de Alzheimer
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>HSQC</b>	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
<b>LA</b>	Ácido de Lewis
<b>PAS</b>	<i>Peripheral anionic site</i>
<b>RMN</b>	Ressonância magnética nuclear



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>11</b>
3.1 DOENÇA DE ALZHEIMER .....	11
3.2 HIPÓTESE COLINÉRGICA .....	12
3.3 ENZIMAS COLINESTERASES.....	14
3.4 ESTRATÉGIA DE TRATAMENTO.....	17
3.5 COMPOSTOS DO TIPO BIS-TACRINA .....	18
3.6 DÍMEROS CONTENDO DIFERENTES NÚCLEOS ESTRUTURAIIS.....	19
3.7 O NÚCLEO IMIDAZOL E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA .....	21
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>24</b>
4.1 SÍNTESE DA <i>N</i> -HEXANOAMINOLOFINA .....	25
4.2 SÍNTESE DAS BIS-LOFINAS PIRIDÍNICAS.....	28
4.3 SÍNTESE DAS BUTIL-LOFINAS PIRIDÍNICAS .....	30
4.4 REAÇÃO DE METILAÇÃO DAS BUTIL-LOFINAS PIRIDÍNICAS.....	34
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>6 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	<b>37</b>
6.1 MATERIAIS E MÉTODOS .....	38
<b>6.1.1 Solventes e reagentes</b> .....	<b>38</b>
<b>6.1.2 Micro-ondas</b> .....	<b>38</b>
<b>6.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear</b> .....	<b>38</b>
6.2 PROCEDIMENTO PARA A PREPARAÇÃO DA 6-(2,4,5-TRIFENIL-1 <i>H</i> - IMIDAZOL-1-IL)HEXAN-1-AMINA ( <b>5</b> ) .....	39

6.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DAS <i>N</i> -(4,5-DIFENIL-1-(6-(2,4,5-TRIFENIL-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-1-IL)HEXIL)-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-2-IL)PIRIDINAS (7a - c).....	39
6.3.1 2-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)hexil)-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)piridina (7a).....	39
6.3.2 3-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)hexil)-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)piridina (7b).....	40
6.3.3 4-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)hexil)-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)piridina (7c).....	40
6.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DAS <i>N</i> -(1-BUTIL-4,5-DIFENIL-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-2-IL)PIRIDINAS (9a - b).....	41
6.4.1 3-(1-butil-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)piridina (9a).....	41
6.4.2 4-(1-butil-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)piridina (9b).....	41
6.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DOS IODETOS DE <i>N</i> -(1-BUTIL-4,5-DIFENIL-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-2-IL)1-METILPIRIDIN-1-IO (11a - b) .....	41
6.5.1 Iodeto de 3-(1-butil-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)1-metilpiridín-1-io (11a)..	42
6.5.2 Iodeto de 4-(1-butil-4,5-difenil-1 <i>H</i> -imidazol-2-il)1-metilpiridín-1-io (11b)..	42
REFERÊNCIAS.....	43

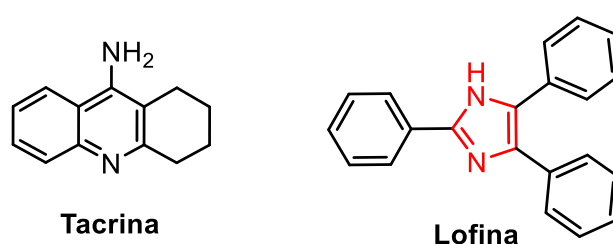
## 1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa progressiva em que há a perda irreversível das funções cerebrais. A DA tem sua maior incidência na população acima dos 65 anos, porém existem alguns casos em que os sintomas são observados em idades inferiores. Os principais sintomas neuropatológicos da doença são o acúmulo de placas do peptídeo  $\beta$ -amiloide, agregação da proteína tau nos neurônios, inflamação, estresse oxidativo e baixos níveis de acetilcolina. Ainda não existe uma cura conhecida para a doença, mas existem tratamentos paliativos que visam à melhoria da qualidade de vida das pessoas acometidas pela doença de Alzheimer.

A tacrina (Figura 1) foi o primeiro fármaco aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da DA, porém encontra-se em desuso devido à sua hepatotoxicidade. Esse fármaco atua como um inibidor das enzimas colinesterases, que são responsáveis pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina e, conseqüentemente, por finalizar a transmissão do impulso nervoso nas sinapses colinérgicas. Ao inibir essas enzimas, a concentração de acetilcolina na fenda sináptica é aumentada e a sinapse é potencializada. Assim, há uma melhoria nos processos cognitivos, tais como a fala, a memória e a atenção, que são muito prejudicados pela DA.

Por se tratar de uma doença com alta incidência e sem um tratamento efetivo, o estudo de potenciais fármacos inibidores de colinesterases tem sido intenso nas últimas décadas. Entre os núcleos estudados estão os derivados do imidazol, visto que esse núcleo é naturalmente encontrado em compostos biológicos. Dentre esses se destaca a lofina, um derivado que apresenta fenilas nas posições 2, 4 e 5 do anel imidazólico (Figura 1). Esse núcleo é interessante, pois as fenilas podem interagir com os resíduos de aminoácidos aromáticos das enzimas colinesterases por meio de interações do tipo  $\pi$ -stacking, o que pode potencializar a inibição enzimática.

Figura 1 - Estrutura da tacrina e do núcleo lofina.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Síntese e caracterização de heterodímeros contendo os núcleos lofina e derivados da lofina.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ♦ Síntese do intermediário *N*-hexanoaminolofina, utilizando forno de micro-ondas, com estudo da influência do catalisador na reação de condensação tetracomponente;
- ♦ Síntese dos dímeros bis(6)-lofina piridínicos;
- ♦ Síntese das butil-lofinas piridínicas e estudo visando ao modelo de metilação desses compostos;
- ♦ Purificação e caracterização dos compostos sintetizados;
- ♦ Envio das amostras para a realização de ensaios biológicos.

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 DOENÇA DE ALZHEIMER

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva que foi descrita pela primeira vez em 1906 pelo psiquiatra alemão Alois Alzheimer. Estima-se que mais de 40 milhões de pessoas no mundo possuem a doença, sendo essa a forma mais comum de demência.<sup>1</sup> A DA atinge principalmente a população acima dos 65 anos, sendo que a sua incidência é dobrada a cada 5 anos após essa idade. A expectativa de vida de pessoas diagnosticadas com Alzheimer é de 3 a 9 anos após o aparecimento dos primeiros sintomas, porém a estimativa é que as mudanças no cérebro causadas pela doença iniciam cerca de 20 anos antes deles aparecerem.<sup>2,3</sup>

Os sintomas da DA variam de acordo com a pessoa e a fase da doença em que essa se encontra. Na fase mais leve da doença não ocorrem muitas mudanças de comportamento, porém pode haver déficit de memória e alguma dificuldade em reter novas informações. Na fase moderada, as dificuldades e a perda de memória aumentam, além de haver mudanças no comportamento e personalidade. Na fase avançada, a comunicação é severamente afetada e o indivíduo precisa de constante

observação. Os principais sintomas apresentados são perda de memória, depressão, confusão e agitação.<sup>3,4</sup>

A neuropatologia da DA está relacionada, principalmente, ao acúmulo de placas da proteína  $\beta$ -amiloide fora dos neurônios e de emaranhados neurofibrilares da proteína tau dentro dos neurônios. Esse processo gera morte celular devido às perdas sinápticas nas células.<sup>5</sup> Outros fatores importantes são o estresse oxidativo, a inflamação e atrofia do cérebro.<sup>2,3,5</sup>

Apesar da DA ser alvo de muitos estudos ao longo dos anos, ainda não é possível afirmar a origem da doença. Entretanto, existem algumas hipóteses que tentam explicar as bases moleculares da DA. Entre elas se destacam as hipóteses colinérgica,<sup>6</sup> da disfunção glutamatérgica,<sup>7</sup> da cascata amiloide,<sup>8</sup> oligomérica,<sup>9</sup> metálica,<sup>10</sup> entre outras.<sup>11-13</sup>

Esse trabalho terá como foco a hipótese colinérgica, pois os dímeros sintetizados tiveram sua estrutura planejada no âmbito dessa hipótese.

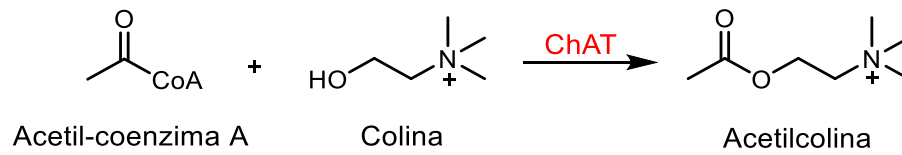
### 3.2 HIPÓTESE COLINÉRGICA

A hipótese colinérgica, introduzida na década de 80, é a mais antiga das hipóteses sobre a DA. Ela propõe que a perda das funções colinérgicas no sistema nervoso central contribui significativamente para o declínio cognitivo associado ao envelhecimento e à DA.<sup>11,14</sup>

O sistema colinérgico é responsável pelas sinapses químicas que usam a acetilcolina (ACh) como neurotransmissor.<sup>15</sup> Essas sinapses são responsáveis pela transmissão de sinais entre os neurônios no sistema nervoso, e por isso estão relacionadas com os principais processos cognitivos, tais como a fala, a memória e a atenção.<sup>14,16</sup>

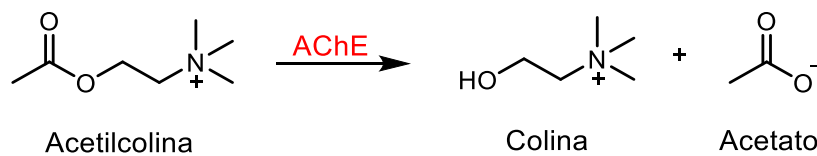
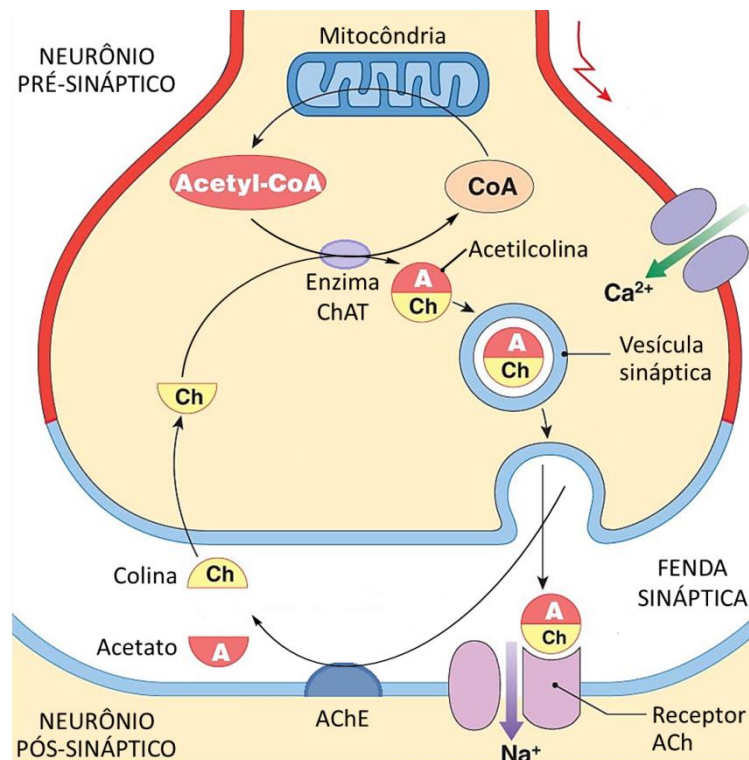
A sinapse química é iniciada pela biossíntese da ACh, a partir da colina e da acetil-coenzima A (Acetil-CoA), no neurônio pré-sináptico. Essa reação é catalisada pela colina acetiltransferase (ChAT, Esquema 1). Após a síntese, a ACh é transportada para as vesículas de armazenamento até que haja a despolarização da célula, causando a entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  através dos canais iônicos. Como consequência, a vesícula de armazenamento funde com a membrana celular e libera a ACh para a fenda sináptica.<sup>15,17</sup>

Esquema 1 - Biossíntese do neurotransmissor acetilcolina.



Na fenda, o neurotransmissor se liga ao receptor colinérgico e causa a estimulação de um segundo neurônio. A ACh então se move para o neurônio pós-sináptico, onde sua hidrólise é catalisada pela enzima acetilcolinesterase (AChE), gerando acetato e colina (Esquema 2). A sinapse química é encerrada e a colina formada será transportada novamente para o neurônio pré-sináptico para continuar o ciclo (Figura 2).<sup>15,17</sup>

Esquema 2 - Hidrólise da acetilcolina.

Figura 2 - Representação simplificada da sinapse colinérgica (adaptada de Bear *et al*).<sup>18</sup>

A hipótese colinérgica foi introduzida após estudos mostrarem déficits neocorticais na concentração da ChAT, redução da captação de colina e liberação

de ACh, fatores que confirmam a perda colinérgica pré-sináptica.<sup>19</sup> A partir de estudos com inibidores de enzimas colinesterases (ChEIs), que resultaram em melhora sintomática significativa em indivíduos acometidos pela DA, houve uma validação dessa hipótese que, atualmente, é a mais usada como estratégia de tratamento para a doença.<sup>16</sup>

### 3.3 ENZIMAS COLINESTERASES

A principal função biológica das enzimas colinesterases é terminar a transmissão do impulso nervoso na sinapse colinérgica por meio da hidrólise do neurotransmissor acetilcolina.<sup>20</sup> Existem duas enzimas capazes de realizar essa função: a acetilcolinesterase (EC 3.1.1.7) e a butirilcolinesterase (BuChE, EC 3.1.1.8). A AChE atua no sistema nervoso central e periférico, enquanto a BuChE tem maior atividade no fígado, intestino, coração e pulmão.<sup>21</sup> Devido às diferenças estruturais das enzimas, a AChE chega a ser  $10^{13}$  vezes mais ativa na hidrólise da ACh do que a BuChE.<sup>22</sup> Porém, estudos mostraram que, com o avanço da DA, a atividade da AChE no cérebro diminui pela metade, enquanto a da BuChE aumenta 120%, tendo assim um papel crítico na hidrólise da acetilcolina em estágios mais avançados da doença.<sup>23</sup>

As duas enzimas têm estruturas parecidas no sítio ativo. Ambas as cavidades enzimáticas são compostas por dois sítios principais: o sítio catalítico ativo (*catalytic active site* - CAS) e o sítio aniônico periférico (*peripheral anionic site* - PAS) e têm o formato de um “gargalo” fundo e estreito de aproximadamente 20 Å. O CAS se encontra ao fundo da cavidade, enquanto o PAS está localizado na entrada da cavidade.<sup>24,25</sup> Outros subsítios importantes para o processo catalítico também são encontrados dentro da cavidade do sítio ativo das enzimas. Eles são o subsítio aniônico, o bolso acila e a cavidade do oxiânion.<sup>26</sup>

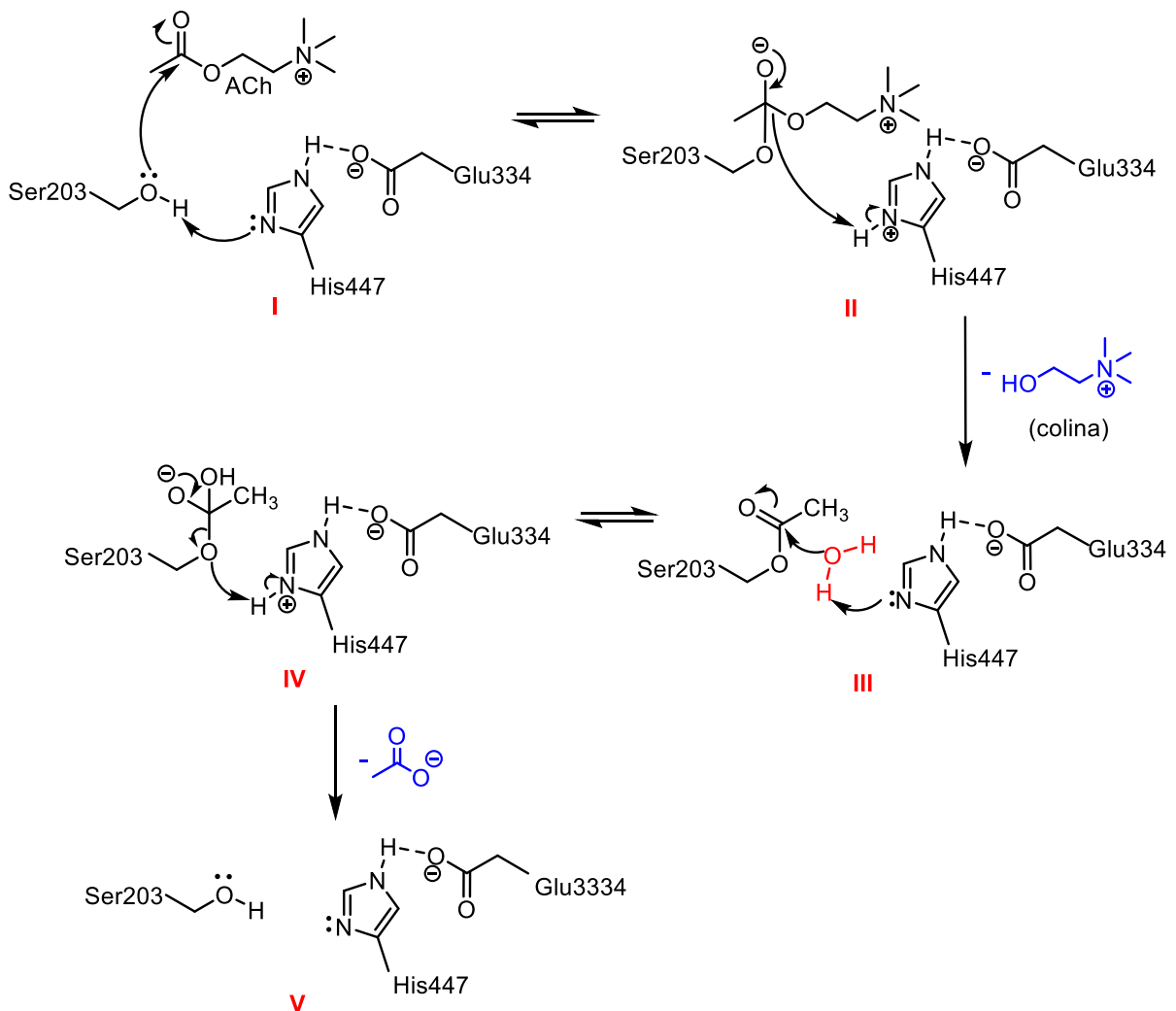
A interação do substrato (ACh) com a enzima se dá primeiramente no PAS, em que a ligação da ACh com os resíduos de aminoácidos presentes leva ao aumento da eficácia catalítica, pois o substrato fica “preso” no caminho para o sítio ativo.<sup>26</sup> O sítio aniônico se liga ao nitrogênio quaternário presente na ACh, principalmente por meio de interações cátion- $\pi$ , guiando o substrato para o sítio ativo. O bolso acila, ou sítio de ligação acila, é responsável pela seletividade da enzima, já que é nesse sítio que se encontra a porção acila do substrato durante a catálise, no CAS.<sup>21,25</sup> A cavidade do oxiânion fornece doadores de ligação de





A hidrólise da acetilcolina (Esquema 3) acontece no CAS, onde existe uma tríade catalítica que consiste nos aminoácidos serina (Ser), histidina (His) e glutamato (Glu).<sup>24</sup> O mecanismo de hidrólise da acetilcolina inicia pelo ataque nucleofílico do oxigênio da serina à carbonila da ACh. A histidina atua como uma base, capturando o próton da serina, enquanto que o glutamato estabiliza o estado de transição formado através de interações eletrostáticas. Após o ataque, é formado o intermediário tetraédrico **II**, que após a restituição da carbonila libera a colina, formando o intermediário **III**. A próxima etapa é a desacetilação da serina, que ocorre pelo ataque de uma molécula de água, assistida pela histidina e o glutamato, formando o intermediário tetraédrico **IV**, que após a restituição da carbonila, restitui a tríade catalítica, liberando acetato. Esse acetato deixará o sítio catalítico para que o ciclo possa ser repetido.<sup>15,28</sup>

Esquema 3 - Mecanismo de hidrólise do neurotransmissor acetilcolina catalisado pela enzima acetilcolinesterase (adaptado de Patrick).<sup>15</sup>

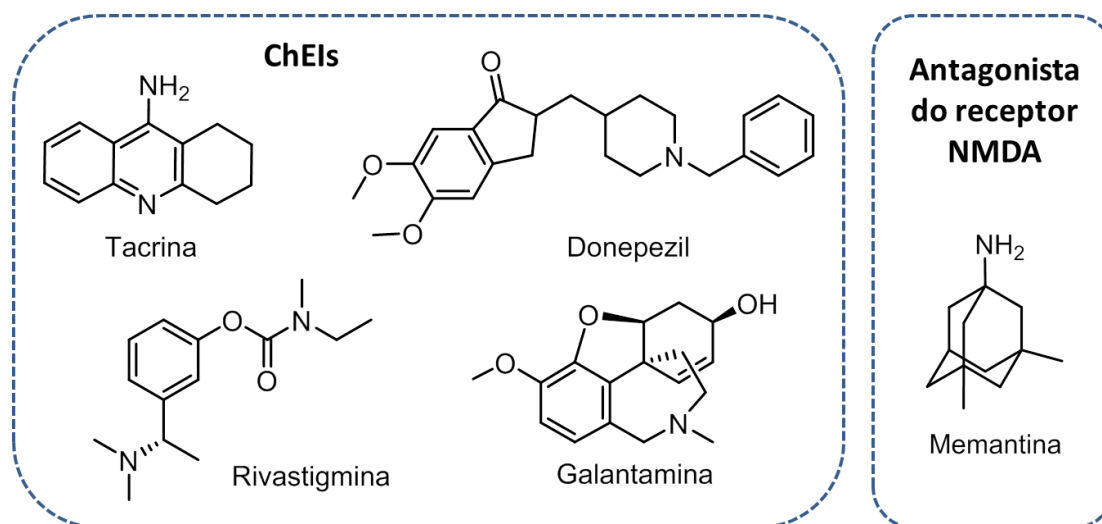


### 3.4 ESTRATÉGIA DE TRATAMENTO

Atualmente não existe cura para a DA, mas existem tratamentos que visam minimizar os sintomas da doença e melhorar a qualidade de vida dos indivíduos acometidos por ela. A estratégia de tratamento sintomático mais usado é a restauração dos níveis do neurotransmissor acetilcolina pelo uso de ChEIs. Assim, o neurotransmissor permanece na fenda sináptica por mais tempo, aumentando a estimulação pós-sináptica durante a sinapse colinérgica.<sup>5,16</sup>

A tacrina (9-amino-1,2,3,4-tetra-hidroacridina; AChE  $IC_{50}^a = 450$  nM, BuChE  $IC_{50} = 626$  nM)<sup>29</sup> foi o primeiro fármaco aprovado pela FDA para o tratamento da doença de Alzheimer, em 1993, comercializada sob os nomes Cognex<sup>®</sup> e Tacrinal<sup>®</sup>.<sup>30</sup> Esse composto é um inibidor de colinesterase reversível e não seletivo, ou seja, tem a mesma capacidade de inibição para a AChE e a BuChE, porém seu uso foi descontinuado devido à sua hepatotoxicidade.<sup>31,32</sup> Além da tacrina, outros quatro fármacos foram aprovados para o tratamento da DA, sendo três desses inibidores de colinesterases: Donepezil, Galantamina e Rivastigmina, e um deles antagonista do receptor *N*-metil-D-aspartato - NMDA: Memantina (Figura 5).<sup>3</sup>

Figura 5 - Fármacos aprovados para o tratamento da DA.



O Donepezil foi aprovado pela FDA, em 1996, e é um inibidor reversível e seletivo de colinesterases (AChE  $IC_{50} = 323$  nM, BuChE  $IC_{50} = 12800$  nM)<sup>29</sup>, comercializado como Aricept<sup>®</sup>, podendo ser usado nas fases leve à moderada ou moderada à severa da DA, dependendo da quantidade administrada do fármaco.<sup>16,31,33</sup> A Rivastigmina foi aprovada em 2000 pela FDA e é um inibidor

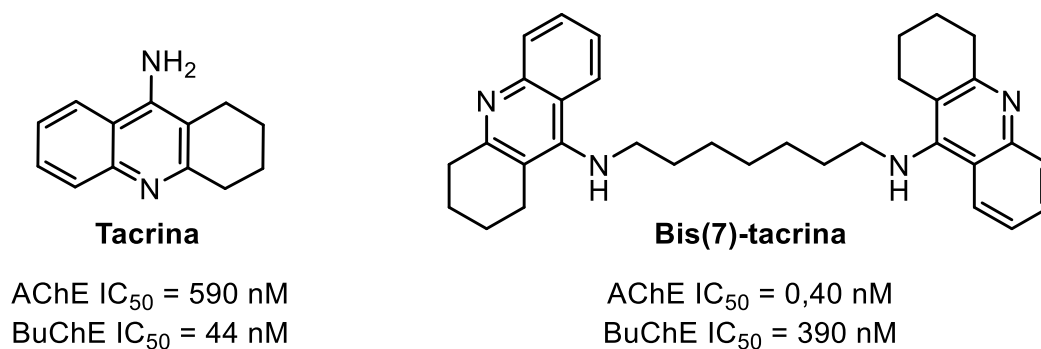
<sup>a</sup>Concentração do composto necessária para inibir 50% da atividade enzimática.

pseudo-irreversível e seletivo (AChE  $IC_{50}$  = 4760 nM, BuChE  $IC_{50}$  = 238 nM)<sup>29</sup>, comercializado como Exelon<sup>®</sup>, usado nas fases leve à moderada e severa da DA. O interessante desse fármaco é a possibilidade de uso transdérmico na forma de adesivo, o que facilita a administração e diminui os efeitos colaterais.<sup>16,31,34</sup> A Galantamina foi aprovada em 2001 e é um inibidor reversível e seletivo (AChE  $IC_{50}$  = 5000 nM, BuChE  $IC_{50}$  = 59200 nM)<sup>29</sup>, sendo ainda um modulador alostérico dos receptores nicotínicos de ACh. Ela é comercializada sob os nomes Razadyne<sup>®</sup> ou Reminyl<sup>®</sup> e é usada na fase leve à moderada da DA.<sup>16,31,35</sup>

### 3.5 COMPOSTOS DO TIPO BIS-TACRINA

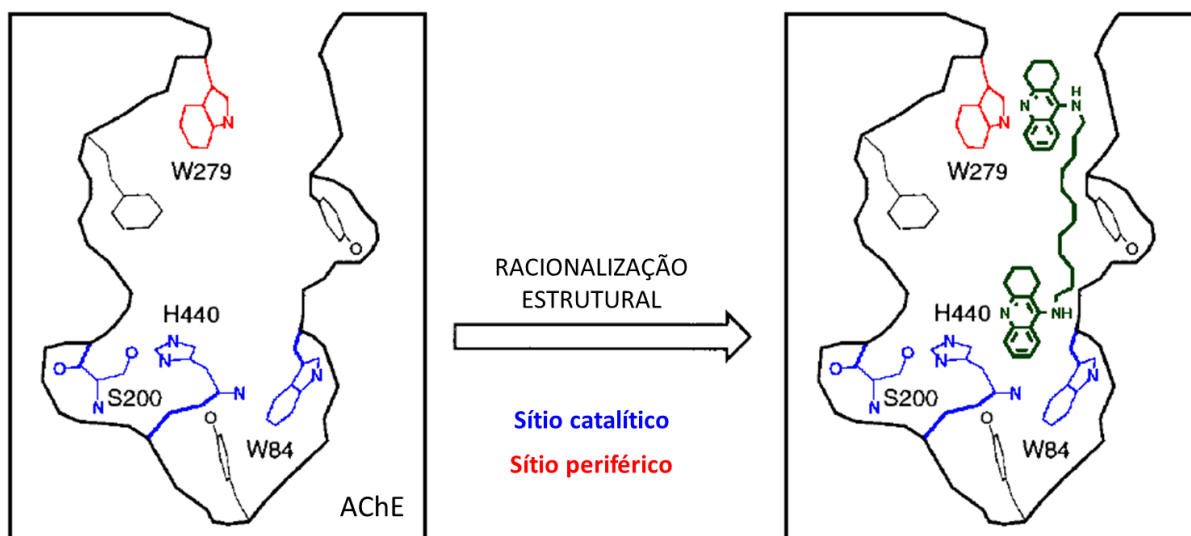
Após a aprovação da tacrina, Pang e colaboradores sintetizaram dímeros bis(n)-tacrina (n = 7-10), com o objetivo de obter inibidores mais potentes e seletivos para a AChE por meio da interação desses compostos com o PAS e o CAS da enzima. Os quatro compostos sintetizados corresponderam às expectativas, sendo que o bis(7)-tacrina teve o melhor resultado, pois apresentou ser mil vezes mais potente e dez mil vezes mais seletivo para a AChE do que a tacrina (Figura 6).<sup>36</sup>

Figura 6 - Estrutura e capacidade de inibição da tacrina e do bis(7)-tacrina.



Os estudos computacionais realizados mostraram que a cadeia espaçadora metilênica com sete carbonos do composto bis(7)-tacrina faz com que a distância entre os dois núcleos tacrina seja de aproximadamente 18 Å. Como esse valor é muito próximo da distância entre o CAS e o PAS da AChE, 16 Å, a dupla interação enzimática é a mais efetiva entre os quatro dímeros da série (Figura 7).<sup>36</sup>

Figura 7 - Representação da dupla interação enzimática de um dímero bis(n)-tacrina (adaptado de Pang *et al.*).<sup>36</sup>

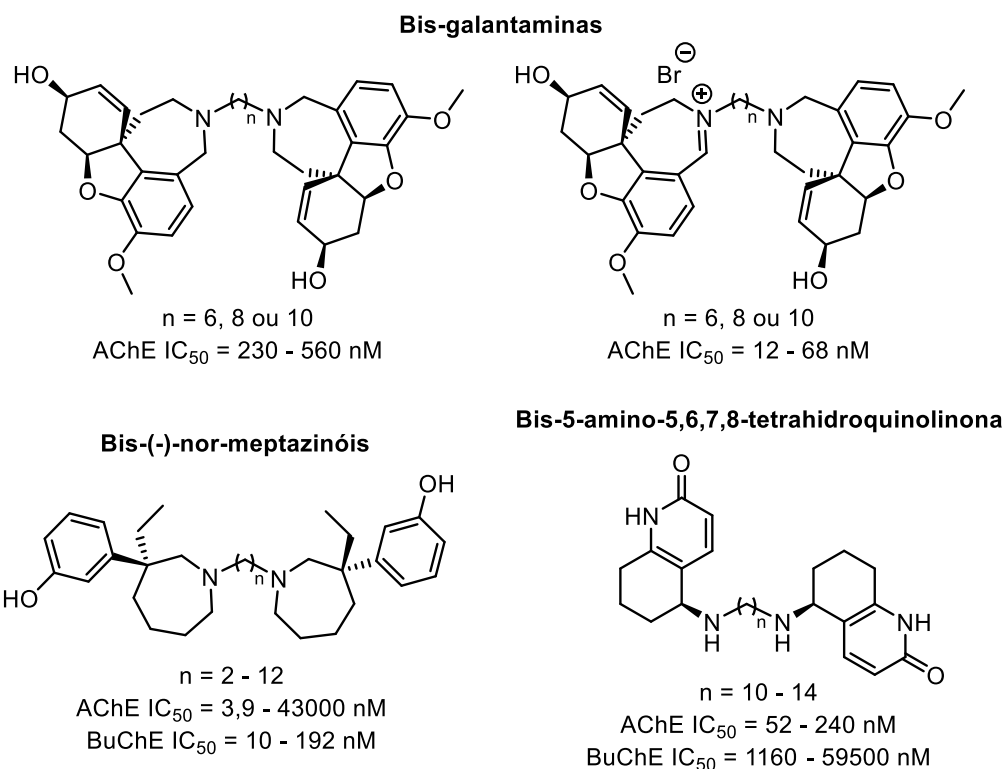


### 3.6 DÍMEROS CONTENDO DIFERENTES NÚCLEOS ESTRUTURAIIS

A partir dos estudos com as bis(n)-tacrinas, compostos contendo núcleos farmacológicos separados por uma cadeia alquílica estão sendo sintetizados e testados como inibidores das ChEs, buscando a dupla interação enzimática para que haja maior eficácia da restauração dos níveis de acetilcolina.

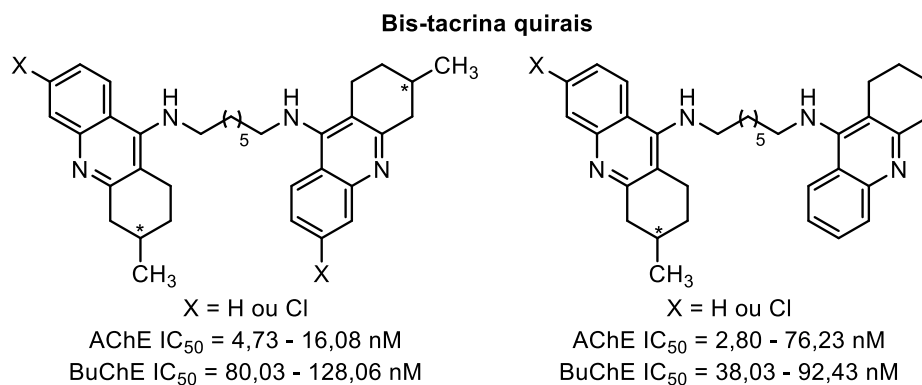
Na Figura 8 estão representadas três séries desses compostos. A série de dímeros bis-galantamina apresentou inibição da AChE na escala nanomolar, sendo que os heterodímeros contendo um núcleo galantamina e um sal de galantamínio foram muito mais potentes do que os homodímeros que continham apenas o núcleo galantamina.<sup>37</sup> Os compostos bis(-)-nor-meptazinóis apresentaram uma boa inibição da BuChE, porém a inibição da AChE variou muito com o aumento da cadeia alquílica. Os compostos com cadeia alquílica de sete a doze carbonos tiveram ótimos resultados, sendo que o dímero com nove carbonos apresentou a melhor inibição (AChE  $IC_{50} = 3,9$  nM). Já os compostos com cadeia alquílica menor ( $n = 2-6$ ) apresentaram inibição moderada à ruim.<sup>38</sup> Em contrapartida, a série de dímeros bis-5-amino-5,6,7,8-tetrahydroquinolinona apresentou uma boa inibição da AChE, porém a inibição da BuChE piorou, à medida que houve o aumento da cadeia alquílica.<sup>39</sup>

Figura 8 - Exemplos de dímeros inibidores de colinesterases.



O nosso grupo de pesquisa realizou a síntese de uma série de dímeros bis-tacrina quirais com cadeia alquílica espaçadora de sete carbonos (Figura 9). Os resultados mostraram que os compostos sintetizados apresentaram ótima inibição enzimática, tanto para a AChE quanto para a BuChE. Nesse trabalho foi possível verificar que houve uma seletividade quanto à inibição das ChEs para os enantiômeros. Nas duas séries, de homodímeros e de heterodímeros, os compostos (S,S) e (S) foram mais ativos que os compostos (R,R) e (R) para X = H e os compostos (R,R) e (R) foram mais ativos que os compostos (S,S) e (S) para X = Cl.<sup>40</sup>

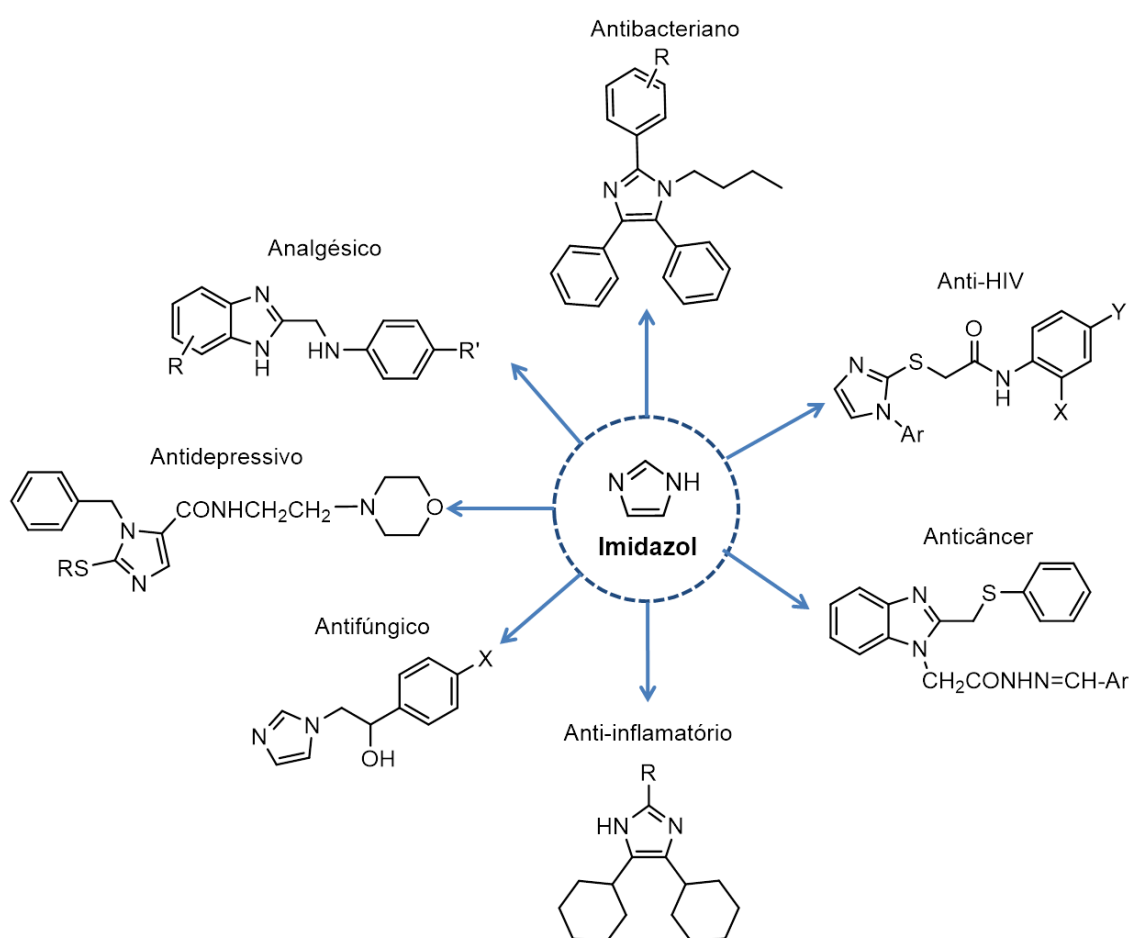
Figura 9 - Dímeros bis(7)-tacrina quirais sintetizados pelo grupo de pesquisa.



### 3.7 O NÚCLEO IMIDAZOL E SUA IMPORTÂNCIA FARMACOLÓGICA

O núcleo imidazol (1,3-diaza-2,4-ciclopentadieno, Figura 10) é um heterociclo aromático que faz parte de vários compostos biológicos, tais como o aminoácido histidina, a histamina, a vitamina B-12, as bases nitrogenadas dos ácidos nucleicos, entre outros.<sup>41</sup> Além disso, esse núcleo está presente na estrutura de inúmeros compostos que apresentam atividade anticâncer,<sup>42</sup> anti-HIV,<sup>43</sup> anti-inflamatória,<sup>44</sup> antidepressiva,<sup>45</sup> analgésica,<sup>46</sup> antifúngica,<sup>47</sup> antibacteriana,<sup>48</sup> entre outras (Figura 10).<sup>49-51</sup>

Figura 10 - Estrutura do núcleo imidazol e derivados que apresentam atividade biológica.

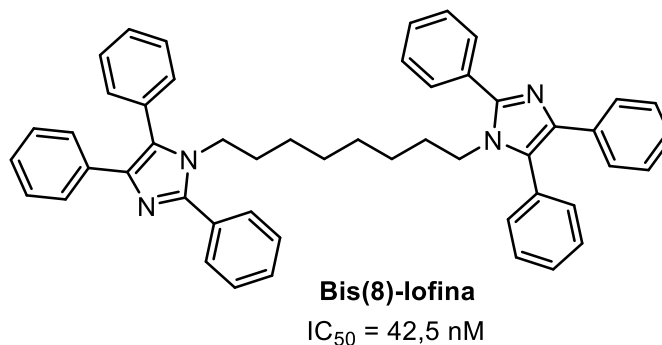


A lofina (2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol) é um derivado do imidazol, tendo presentes grupos fenilas nas posições 2, 4 e 5 do anel. Esse núcleo é interessante, pois as fenilas podem interagir com os resíduos de aminoácidos aromáticos das ChEs por meio de interações do tipo *stacking*, podendo potencializar a inibição das enzimas.

Em trabalhos realizados previamente pelo grupo de pesquisa, foram sintetizadas três séries de compostos contendo o núcleo lofina. A primeira série foi

de cinco dímeros bis(n)-lofina ( $n = 6-10$ ), sendo que o composto bis(8)-lofina apresentou inibição da AChE na escala de concentração nanomolar (Figura 11).<sup>52</sup>

Figura 11 - Dímero bis(8)-lofina sintetizado pelo grupo de pesquisa.



Além dos dímeros da lofina, nosso grupo sintetizou uma série de híbridos tacrina-lofina (Figura 12). Foram sintetizados 23 híbridos que apresentaram inibição da AChE e da BuChE na escala nanomolar. Desses, apenas os compostos com a cadeia metilênica espaçadora de sete e oito carbonos apresentaram inibição da AChE, porém quase todos os compostos apresentaram inibição da BuChE.<sup>52</sup> Utilizando a lofina como núcleo base, também foram sintetizados 18 híbridos lofina-benzilamina (Figura 12). Esses híbridos apresentaram boa atividade e seletividade de inibição para a BuChE. Para o híbrido lofina(6)-2-cloro-benzilamina, que teve a melhor atividade de inibição, foi realizado um estudo de *docking* molecular para entender a interação das ChEs com o composto (Figura 13). Esse estudo mostrou que em ambas as enzimas a porção lofina está localizada no fundo do “gargalo” da enzima e tem diversas interações do tipo  $\pi$ -*stacking*. Já a porção benzilamina interage com os resíduos de aminoácidos do PAS.<sup>53</sup>

Figura 12 - Estrutura dos híbridos tacrina-lofina e lofina-benzilamina.

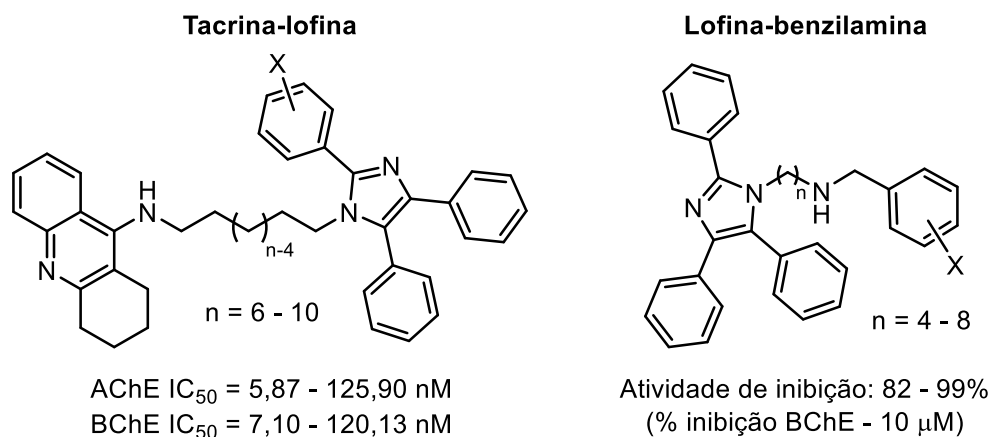
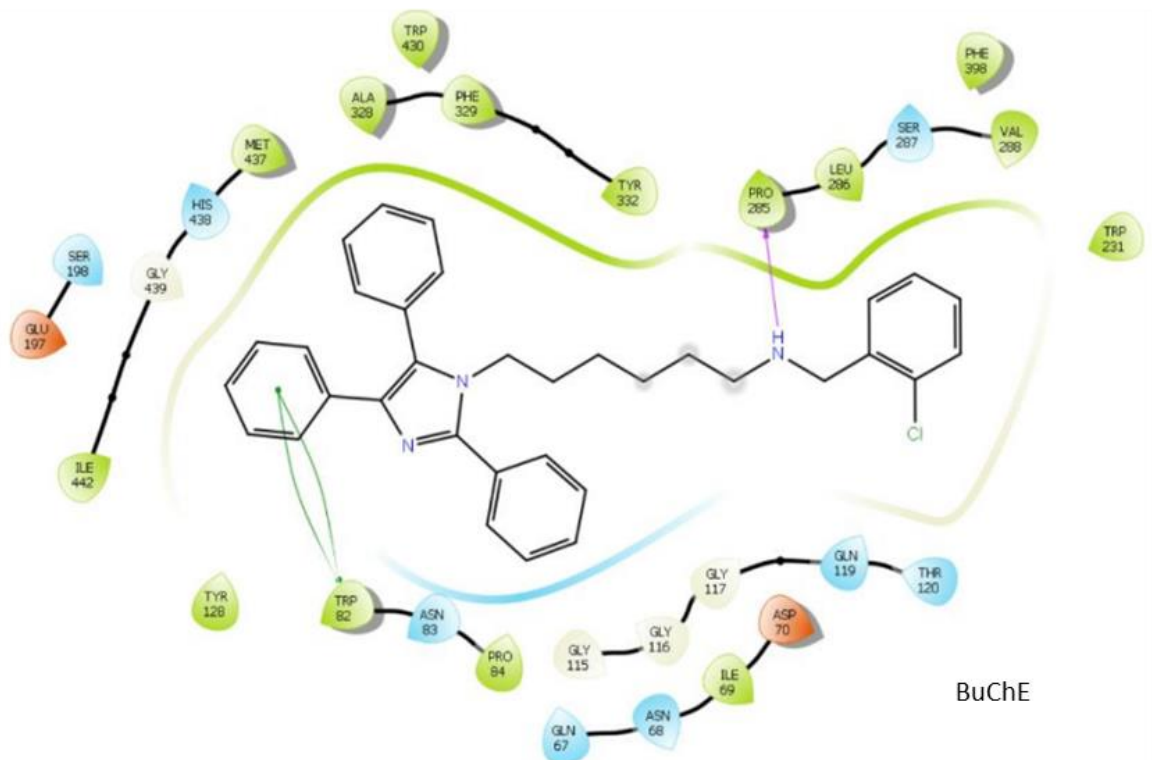
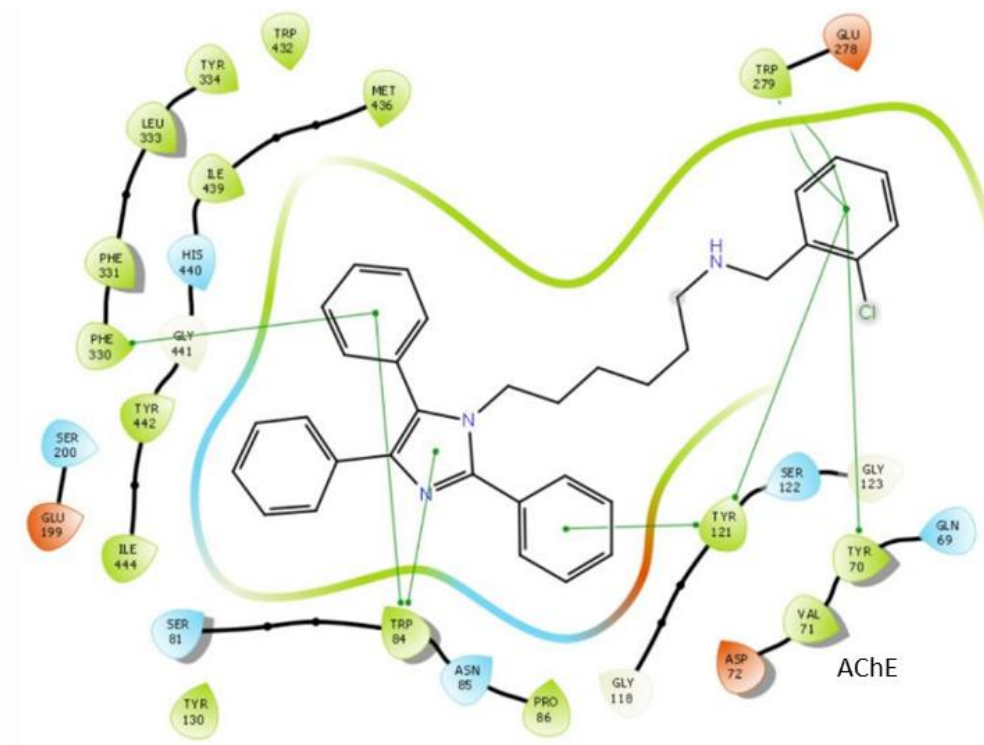


Figura 13 - Docking molecular do híbrido lofina(6)-2-cloro-benzilamina.



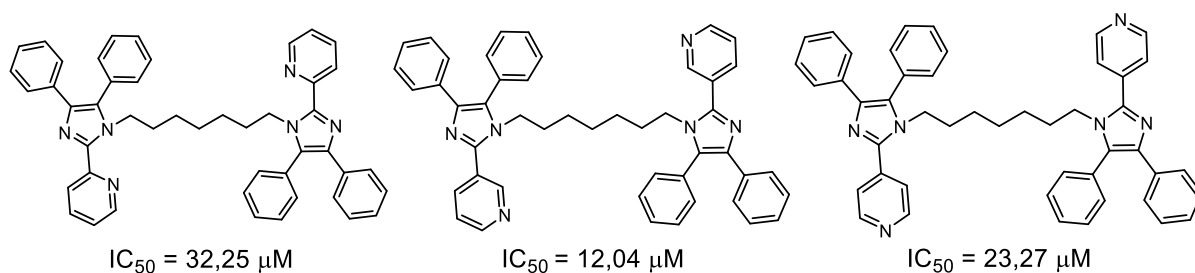
Tendo em vista os resultados obtidos pelos trabalhos realizados pelo nosso grupo de pesquisa, a lofina se mostra um importante núcleo para a síntese de inibidores das ChEs.



#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados de inibição das ChEs para os homodímeros bis(*n*)-lofina, o nosso grupo de pesquisa realizou a síntese de homodímeros bis(*n*)-lofina piridínicos (*n* = 7 e 8) com o intuito de melhorar os parâmetros farmacocinéticos do composto bis(8)-lofina (AChE IC<sub>50</sub> = 42,5 nM).<sup>52</sup> Os compostos foram obtidos a partir de uma reação de condensação tetracomponente entre as 1,*n*-alcanodiaminas, a benzila, o acetato de amônio e os *n*-piridinacarboxaldeídos, utilizando forno de micro-ondas, sendo realizado um estudo para a otimização das condições reacionais. Os resultados mostraram inibição seletiva dos dímeros bis(7)-lofina piridínicos para a BuChE e os dímeros bis(8)-lofina piridínicos não apresentaram inibição para as ChEs (Figura 14).

Figura 14 - Dímeros bis(7)-lofina piridínicos.

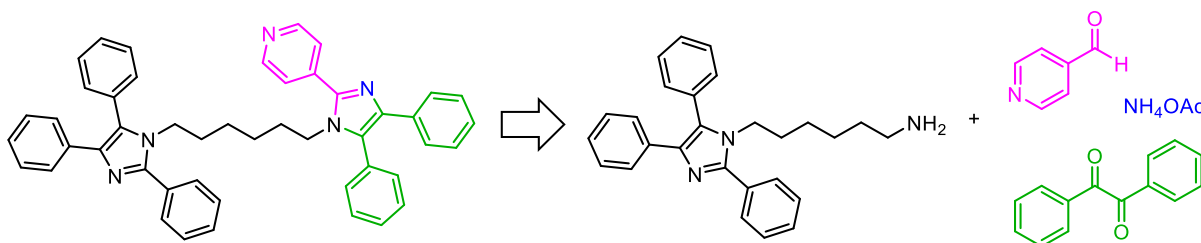


Devido ao fato de os dímeros com cadeia metilênica espaçadora de sete carbonos apresentarem melhores resultados de inibição das ChEs, é preciso investigar o comportamento de compostos do tipo bis(*n*)-lofina piridínicos com cadeia espaçadora de seis carbonos também. Por esse motivo, neste trabalho foram sintetizados heterodímeros bis(6)-lofina piridínicos.

Inicialmente, foi realizado um estudo da influência do catalisador na reação tetracomponente de obtenção da *N*-hexanoaminolofina, que é intermediária na preparação dos heterodímeros bis(6)-lofina piridínicos sintetizados. Além disso, foi feito um modelo de metilação do nitrogênio piridínico nas butil-lofinas piridínicas para ser aplicado nos heterodímeros bis(6)-lofina piridínicos de interesse. Os produtos metilados permitirão estudar novas interações enzima-substrato, tais como as interações cátion- $\pi$ . Além disso, os compostos iônicos apresentam maior caráter hidrofílico, uma propriedade importante para o aumento da solubilidade das amostras em meio aquoso, melhorando assim a realização dos ensaios biológicos de interesse, assim como as propriedades farmacocinéticas dos compostos.

A retróssíntese proposta para os dímeros sintetizados nesse trabalho é mostrada na Figura 15.

Figura 15 - Retrossíntese proposta para esse trabalho.

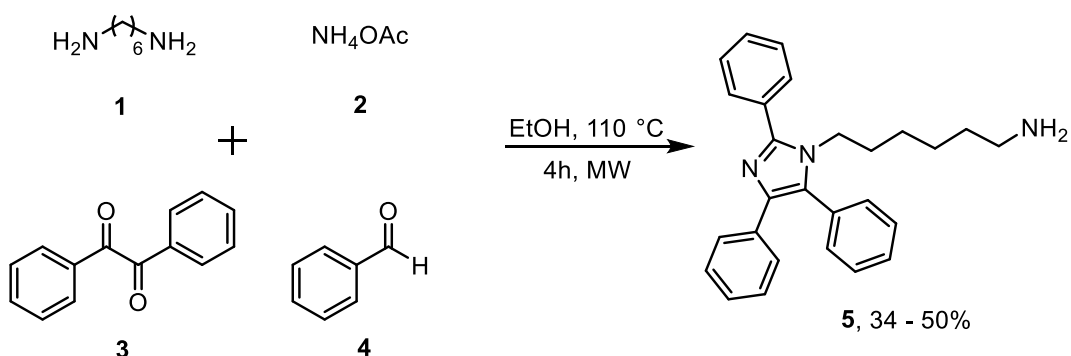


Os dímeros são obtidos a partir da reação tetracomponente entre a benzila, o acetato de amônio, os *n*-piridinacarboxaldeídos e o intermediário *N*-hexanoaminolofina. Esse intermediário, por sua vez, é obtido através de uma reação de condensação tetracomponente entre a benzila, o acetato de amônio, o benzaldeído e a 1,6-hexanodiamina.

#### 4.1 SÍNTESE DA *N*-HEXANOAMINOLOFINA

A *N*-hexanoaminolofina **5** foi sintetizada em uma etapa, via reação de condensação tetracomponente entre a 1,6-hexanodiamina **1**, o acetato de amônio **2**, a benzila **3** e o benzaldeído **4**, utilizando forno de micro-ondas (MW, Esquema 4). A reação foi realizada nessa condição, pois sem o uso do forno de micro-ondas são necessárias duas etapas adicionais de proteção e desproteção do grupo amino.

Esquema 4 - Reação de obtenção da *N*-hexanoaminolofina.



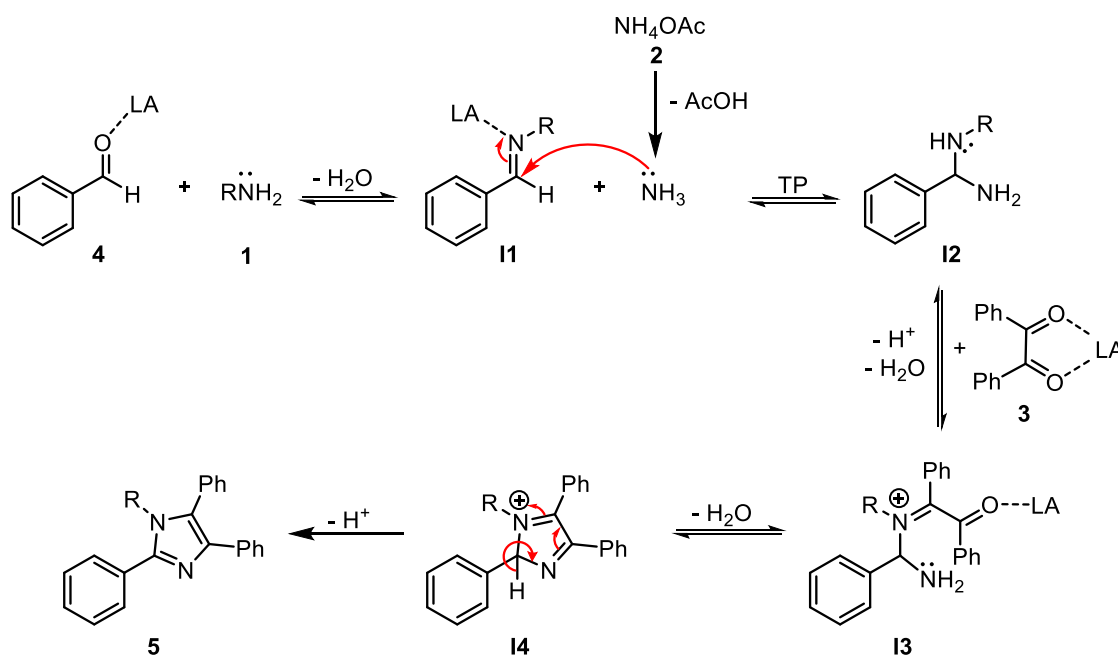
Foi realizado um estudo sobre a influência dos ácidos de Lewis (LA)  $\text{InCl}_3$ ,  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{CeCl}_3$  e  $\text{FeCl}_3$ , atuando como catalisadores dessa reação. Os rendimentos obtidos, após purificação por cromatografia em coluna, são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Influência do catalisador para o rendimento da reação de condensação tetracomponente.

Catalisador	Rendimento (%)
InCl <sub>3</sub>	50
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	41
CeCl <sub>3</sub>	44
SnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	34
Sem LA	47

O melhor rendimento foi com o InCl<sub>3</sub> como catalisador, assim como observado em estudos anteriores.<sup>52,54</sup> Tendo em vista o mecanismo proposto para a reação de condensação tetracomponente estudada (Esquema 5), observa-se que o LA ativa os reagentes e intermediários da reação. O benzaldeído **4** sofre um ataque nucleofílico da amina primária **1**, levando a formação da imina **I1**, liberando água. Após, a imina sofre um ataque nucleofílico da amônia gerada *in situ* a partir do acetato de amônio **2**, gerando a diamina **I2**. Uma das carbonilas da benzila **3** sofrerá um ataque nucleofílico pelo grupo amino secundário de **I2**, levando à formação do imínio **I3**, com eliminação de água. O ataque nucleofílico intramolecular do grupo amino à carbonila leva à formação do intermediário **I4**, seguido da abstração de um próton e posterior aromatização do anel formando o imidazol tetrasubstituído **5**.

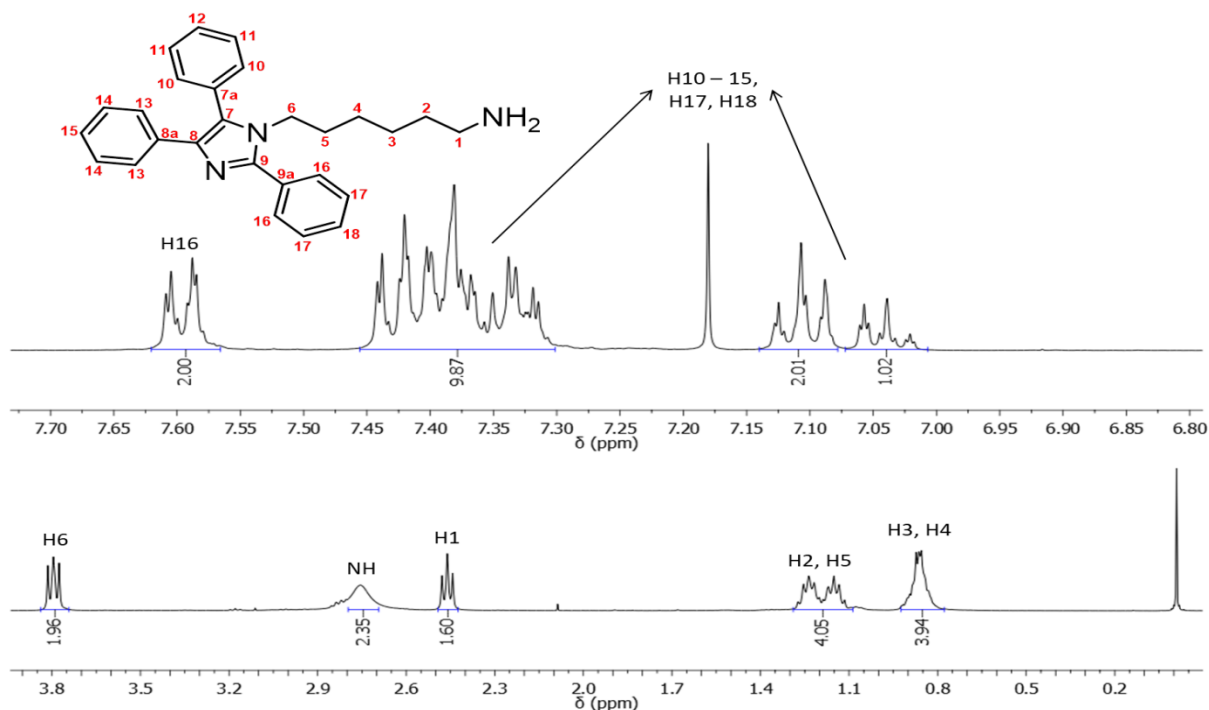
Esquema 5 - Mecanismo proposto para a reação de condensação tetracomponente (adaptado de Das Sharma, *et al*).<sup>54</sup>



Pelo fato dos rendimentos obtidos para os ácidos de Lewis  $\text{InCl}_3$ ,  $\text{CeCl}_3$  e  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  serem muito semelhantes ao rendimento obtido para a reação realizada sem catalisador, é possível que esses ácidos não tenham apresentado efeito catalítico nas condições estudadas. Como o  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  apresentou um rendimento baixo, pode ser que houve o efeito inverso ao esperado e, ao invés de catalisar a reação, esse ácido de Lewis esteja prejudicando alguma etapa do mecanismo. Tendo em vista que o rendimento da reação sem o uso de catalisador foi semelhante ao obtido utilizando  $\text{InCl}_3$ , essa condição foi escolhida para a síntese dos demais compostos.

Assim, foi possível obter o intermediário *N*-hexanoaminolofina a partir do uso da 1,6-hexanodiamina como um dos componentes da reação tetracomponente, que foi realizada em forno de micro-ondas e sem a necessidade de catalisador. Esse resultado é muito interessante, pois a obtenção do núcleo lofínico via reação tetracomponente, sem o uso de catalisador e com o uso de micro-ondas, é limitado ao uso dos componentes alquilamina, benzilamina ou arilamina.<sup>55-57</sup>

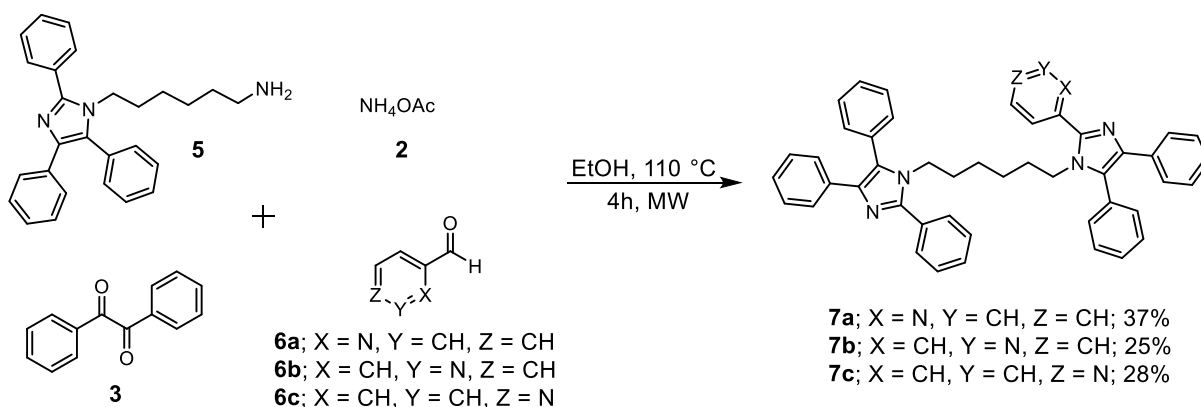
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da *N*-hexanoaminolofina **5** é apresentado na Figura 16. Observam-se dois tripletos no espectro, ambos com  $J = 7,6$  Hz e com integral para dois hidrogênios. O primeiro, em 3,80 ppm, corresponde aos hidrogênios H6, que estão mais desblindados por estarem próximos ao núcleo lofina. O segundo, em 2,47 ppm, corresponde aos H1. O simpleto largo em 2,79 ppm é atribuído aos  $\text{NH}_2$ . Os demais hidrogênios alifáticos são observados como dois multipletos na região de 0,79 - 1,31 ppm, e os hidrogênios aromáticos são observados como quatro multipletos na região de 7,01 - 7,63 ppm.

Figura 16 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **5**.

#### 4.2 SÍNTESE DAS BIS-LOFINAS PIRIDÍNICAS

As bis(6)-lofinas piridínicas **7a - c** foram sintetizadas a partir da reação entre o composto intermediário *N*-hexanoaminolofina **5**, o acetato de amônio **2**, a benzila **3** e os *n*-piridinacarboxaldeídos **6a - c** (Esquema 6). Essa reação foi realizada a 110 °C, durante 4 horas, em forno de micro-ondas, na potência 350 W, utilizando etanol como solvente. Não foi necessária a presença de catalisador, de acordo com os resultados obtidos no estudo citado anteriormente. Os rendimentos, após purificação por cromatografia em coluna, foram de 25 - 37%.

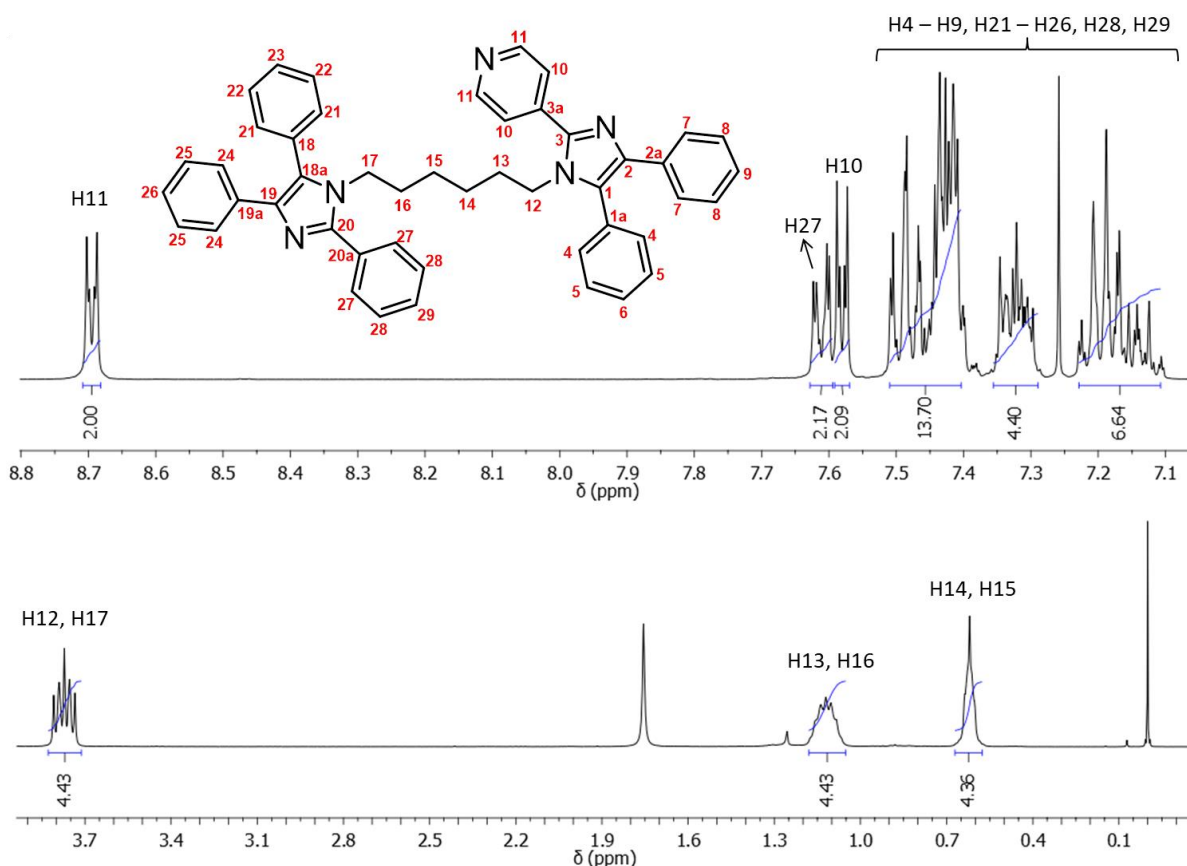
Esquema 6 - Reação de obtenção dos heterodímeros bis(6)-lofina.



A purificação desses compostos foi mais trabalhosa, pois foram necessárias duas cromatografias em coluna para a obtenção dos dímeros puros. A primeira purificação por cromatografia em coluna foi realizada em Hexano:AcOEt como fase móvel, com eluição por gradiente. Com exceção do composto **7a**, que foi obtido puro, foi verificado a partir dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos outros dois dímeros, **7b** e **7c**, que ainda haviam sinais correspondentes aos aldeídos de partida. Portanto foi realizada uma segunda cromatografia em coluna em  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  como fase móvel, com eluição por gradiente.

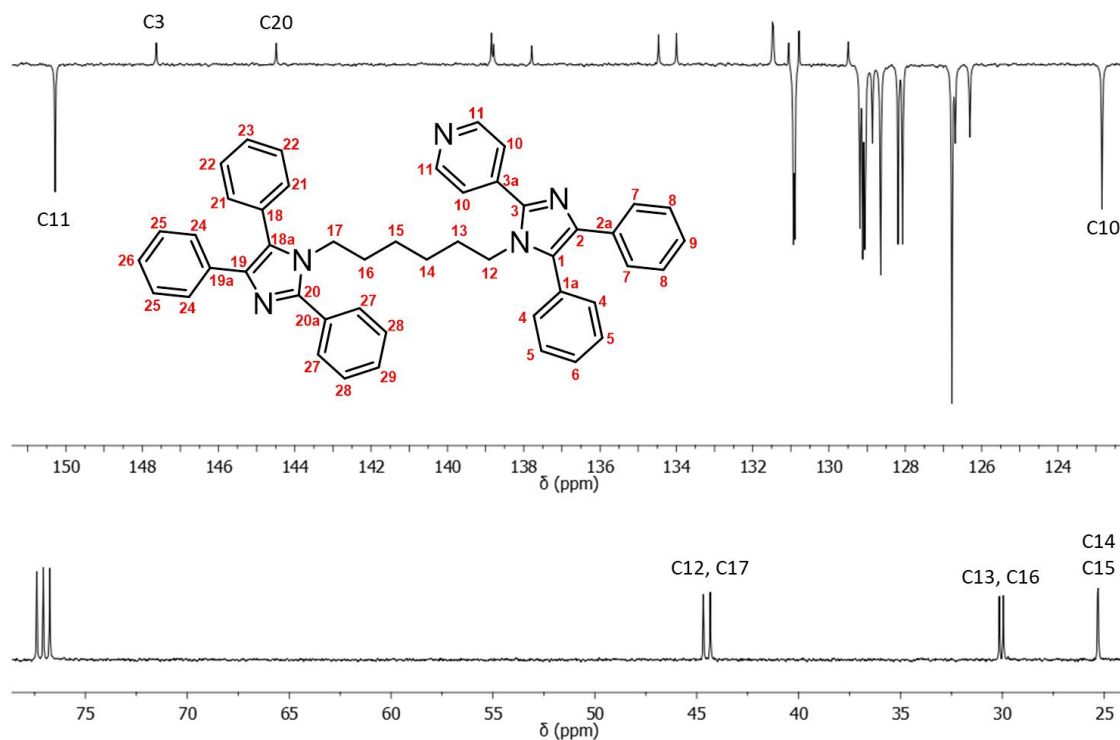
O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **7c** é apresentado na Figura 17. Observa-se um multipletto com integral para 2H na região de 8,71 - 8,68 ppm, correspondente aos H11 do anel piridínico da lofina. Os H27 e H10 são observados como dois multipletos nas regiões de 7,63 - 7,59 ppm e 7,59 - 7,57 ppm, respectivamente. Os demais hidrogênios aromáticos são observados como três multipletos na região de 7,10 - 7,52 ppm. Os hidrogênios alifáticos são observados como três multipletos na região de 0,57 - 3,83 ppm.

Figura 17 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **7c**.



O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  APT do composto **7c** é apresentado na Figura 18. Nele destacam-se os sinais, em ppm: 150,2 (C11); 147,6 (C20); 144,4 (C3); 122,8 (C10); 44,6 e 44,3 (C12, C17); 30,1 e 29,9 (C13, C16); 25,3 e 25,3 (C14, C15).

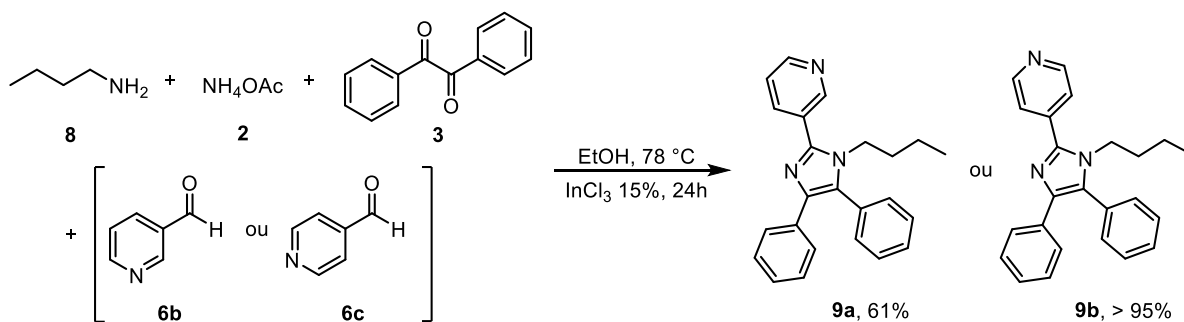
Figura 18 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT, 100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **7c**.



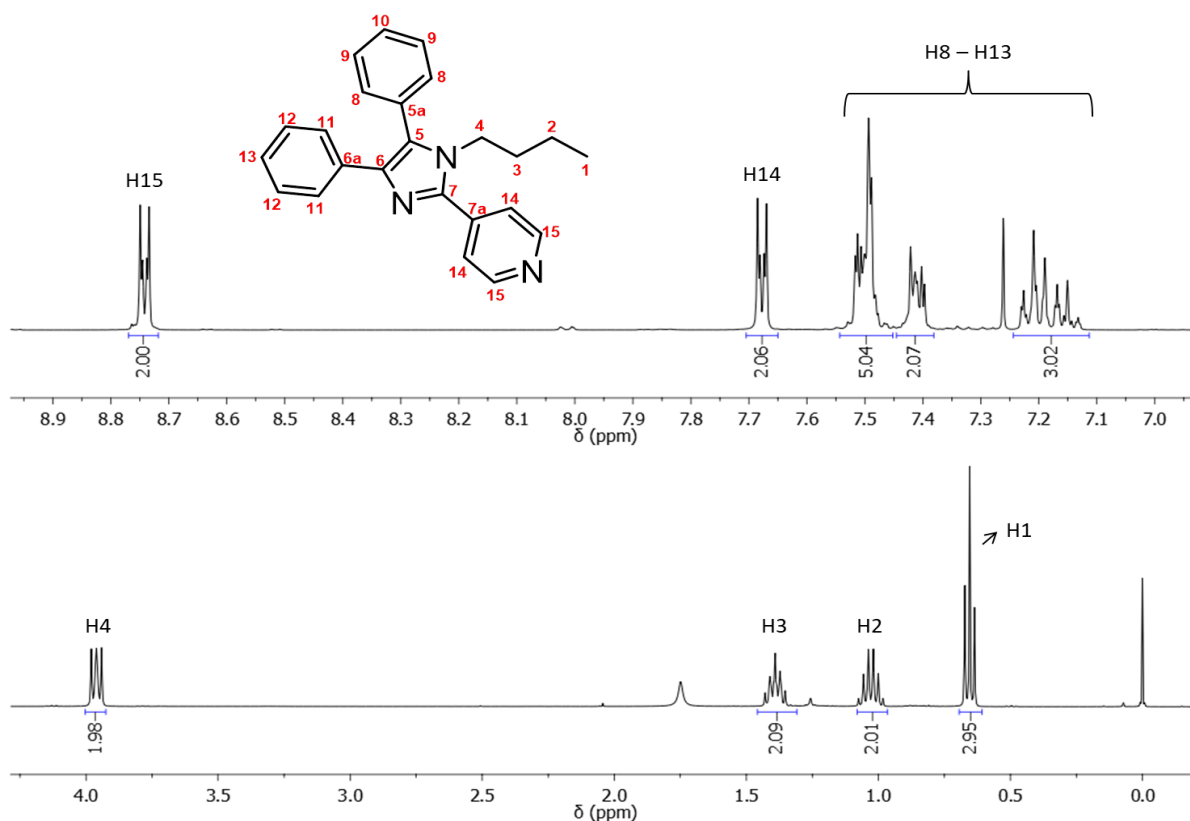
#### 4.3 SÍNTESE DAS BUTIL-LOFINAS PIRIDÍNICAS

Com o objetivo de estudar reações de derivatização no anel piridínico das bis(6)-lofinas sintetizadas, foram sintetizadas as butil-lofinas piridínicas como substrato modelo. As butil-lofinas piridínicas **9a** e **9b** foram obtidas através da reação de condensação tetracomponente entre a butilamina **8**, o acetato de amônio **2**, a benzila **3** e os aldeídos piridínicos **6b - c**, utilizando tricloreto de índio ( $\text{InCl}_3$ , 15%) como catalisador (Esquema 7).<sup>52</sup> Os rendimentos, após purificação por cromatografia em coluna, foram de 61 e 98%.

Esquema 7 - Reação de obtenção das butil-lofinas piridínicas.



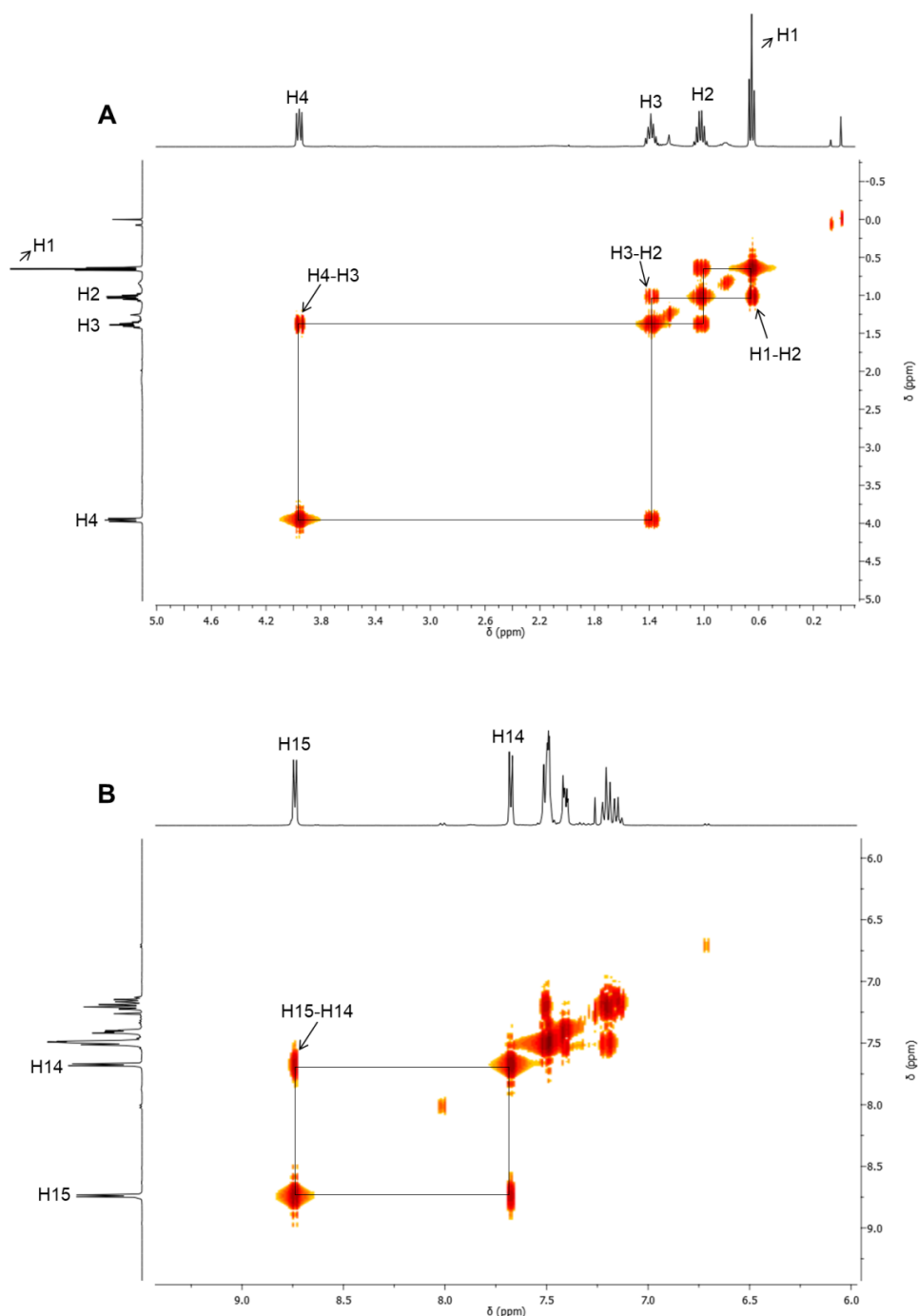
O espectro de RMN de <sup>1</sup>H do composto **9b** é apresentado na Figura 19. Observam-se dois multipletos com integral para dois hidrogênios na região de maior frequência. O primeiro, em 8,74 ppm, corresponde aos H15 e o segundo, em 7,68 ppm, aos H14. Os demais hidrogênios aromáticos são observados como três multipletos na região de 7,12 - 7,53 ppm. Os tripletos, ambos com  $J = 7,6$  Hz e com integral para dois hidrogênios, em 3,96 e 0,65 ppm, correspondem ao H4 e ao H1, respectivamente. Os outros hidrogênios alifáticos são observados como dois multipletos na região de 0,94 - 1,43 ppm.

Figura 19 – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do composto **9b**.



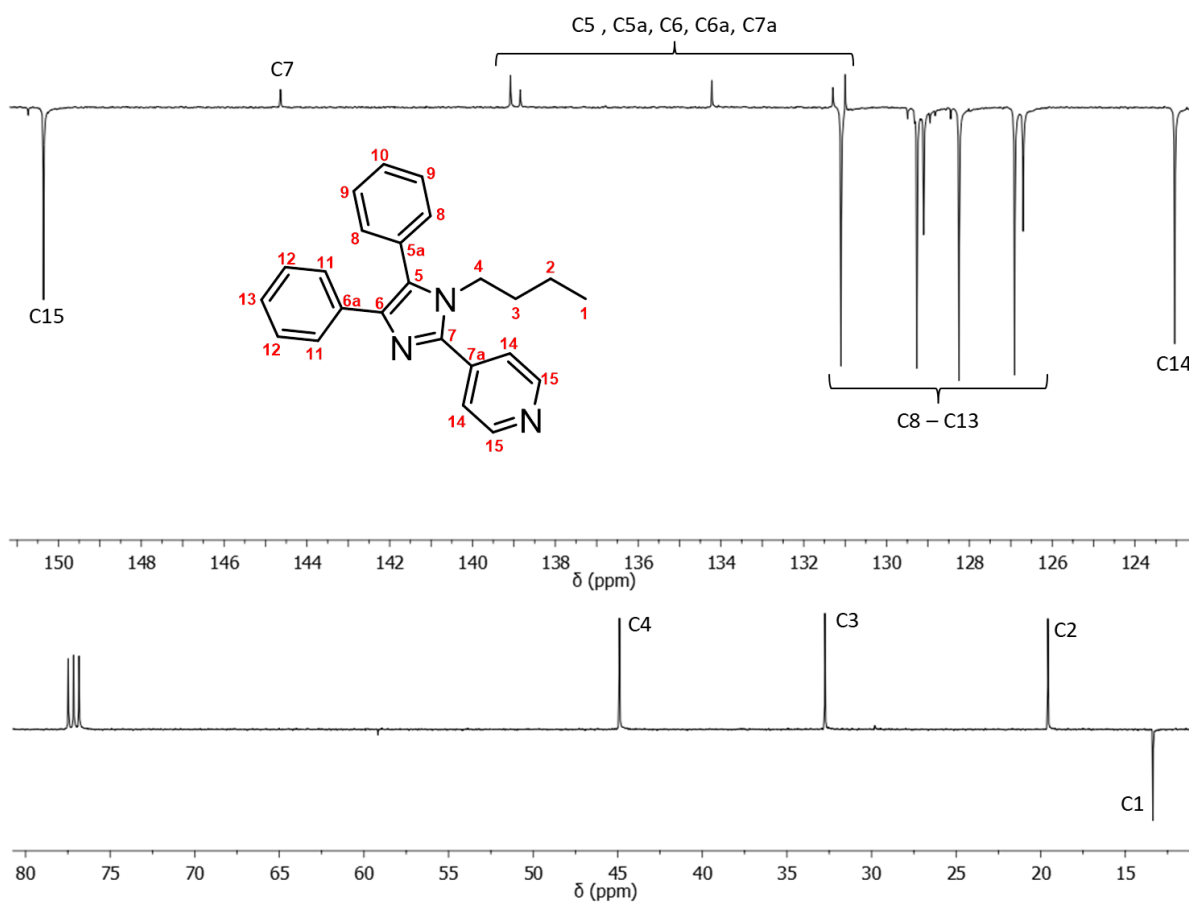
A atribuição dos sinais dos hidrogênios foi feita através do espectro de RMN bidimensional homonuclear  $^1\text{H}$ -COSY do composto **9b** (Figura 20). Conhecendo o sinal do H4, que é observado na *N*-hexanoaminolofina **5**, verificam-se as seguintes correlações: H4-H3, H3-H2, H1-H2. Também se verifica o acoplamento dos hidrogênios aromáticos H15-H14 do anel piridínico.

Figura 20 - Espectro de RMN bidimensional  $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **9b** - Em **A** é apresentada a ampliação da região de 0 a 5,0 ppm. Em **B** é apresentada a ampliação da região de 6,0 a 10,0 ppm.



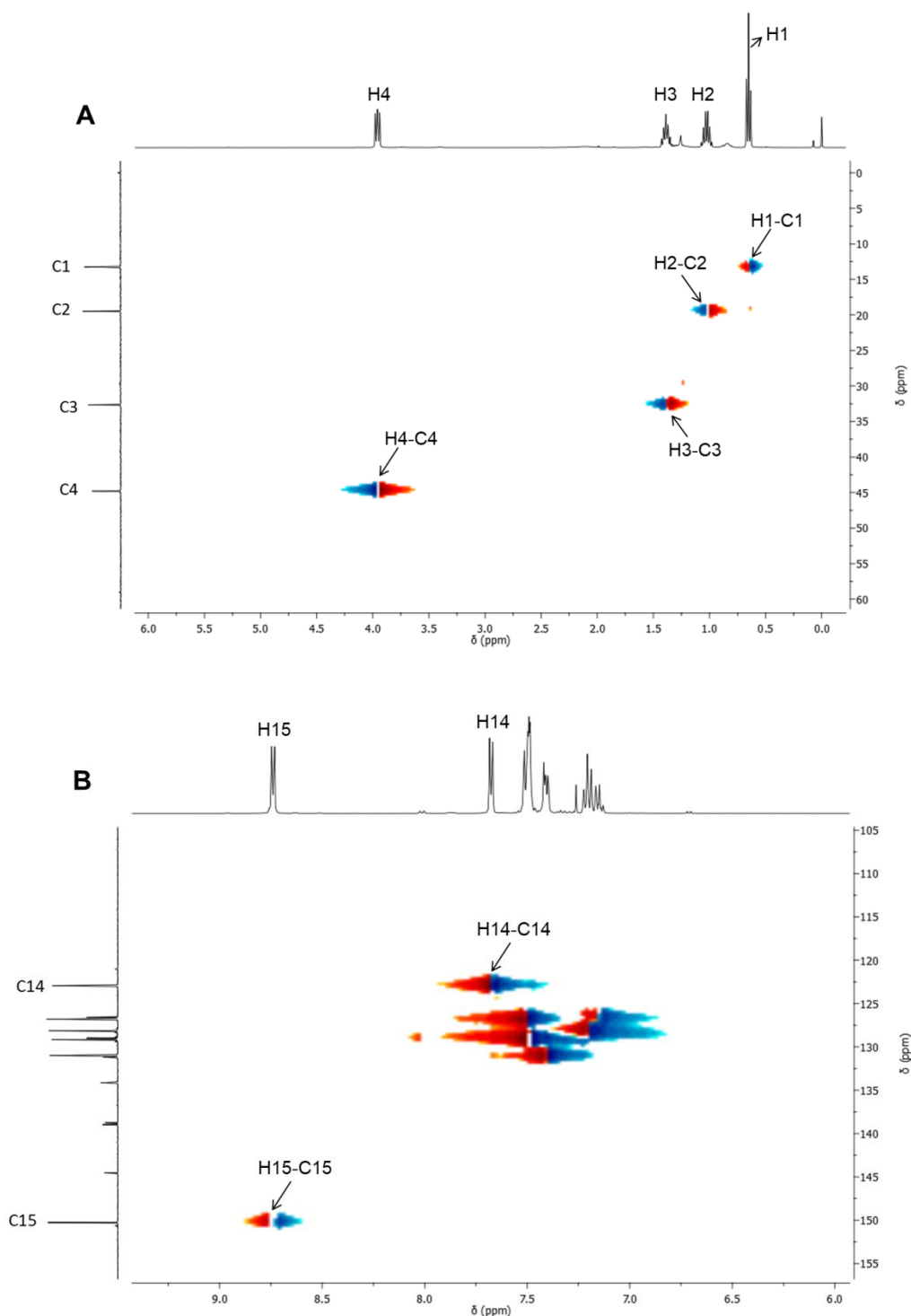
O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  APT do composto **9b** é apresentado na Figura 21. Nele destacam-se os sinais, em ppm: 150,3 (C15); 144,6 (C7); 123,0 (C14); 44,9 (C4); 32,7 (C3); 19,5 (C2); 13,2 (C1).

Figura 21 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do composto **9b**.



A interpretação dos sinais do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  foi feita utilizando o espectro de RMN bidimensional heteronuclear HSQC do composto **9b** (Figura 22). Na Figura 18A, verificam-se as seguintes correlações: C1-H1, C2-H2, C3-H3, C4-H4. Na Figura 18B é possível determinar os acoplamentos C14-H14 e C15-H15.

Figura 22 - Espectro de RMN bidimensional  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **9b**. Em **A** é apresentada a ampliação da região de 0 a 6,0 ppm. Em **B** é apresentada a ampliação da região de 6,0 a 10,0 ppm.

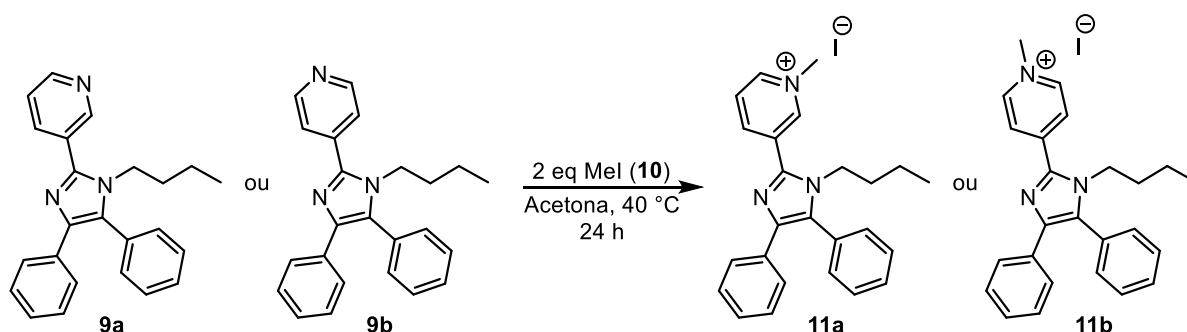


#### 4.4 REAÇÃO DE METILAÇÃO DAS BUTIL-LOFINAS PIRIDÍNICAS

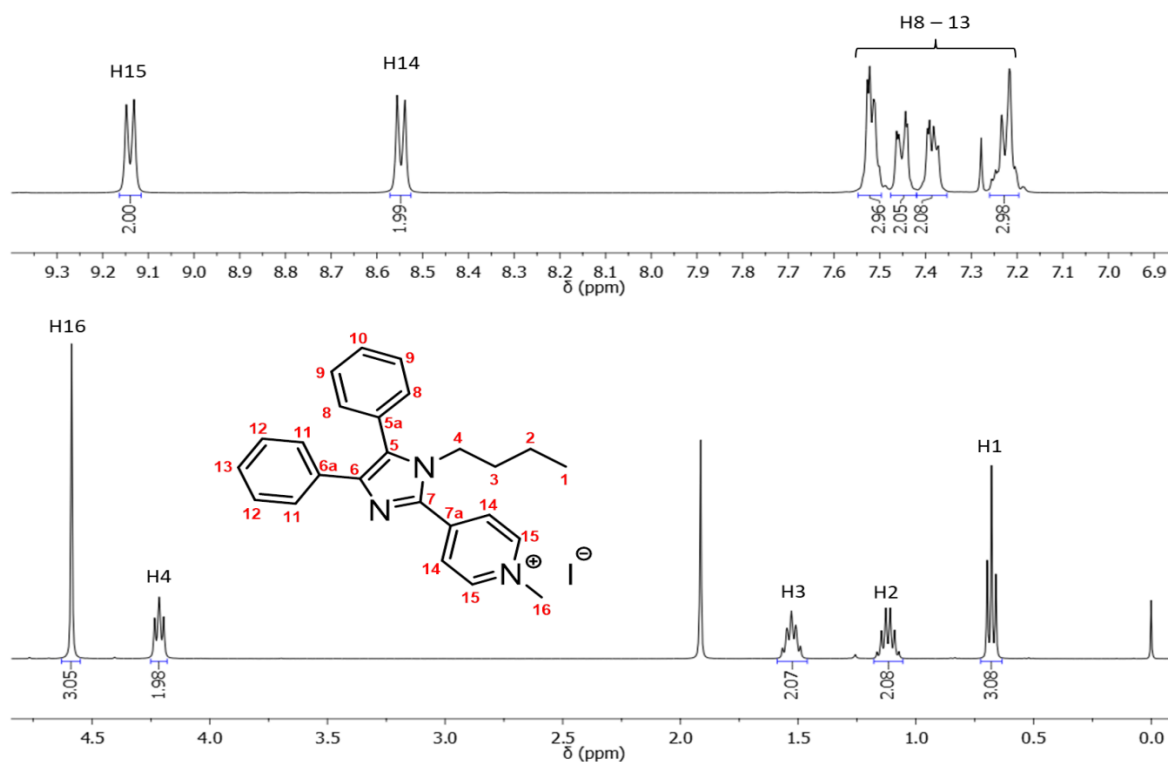
A metilação das butil-lofinas piridínicas **9a - b** foi realizada como modelo para a posterior metilação dos heterodímeros bis(6)-lofina de interesse. A reação foi feita sob atmosfera inerte, usando um equivalente das butil-lofinas piridínicas **9a** e **9b** e

dois equivalentes de iodometano (Mel, **10**). A mistura foi deixada sob agitação, a 0 °C, durante 3 horas.<sup>58</sup> Como não ocorreu a reação nessas condições, foram adicionados mais 2 equivalentes de Mel e a temperatura foi elevada para 40 °C. Deixou-se a reação sob refluxo e atmosfera inerte por mais 18 horas (Esquema 8). As reações foram monitoradas a partir de cromatografia em camada delgada, sendo observada a conversão completa dos materiais de partida. Foi realizada a recristalização dos compostos em metanol.

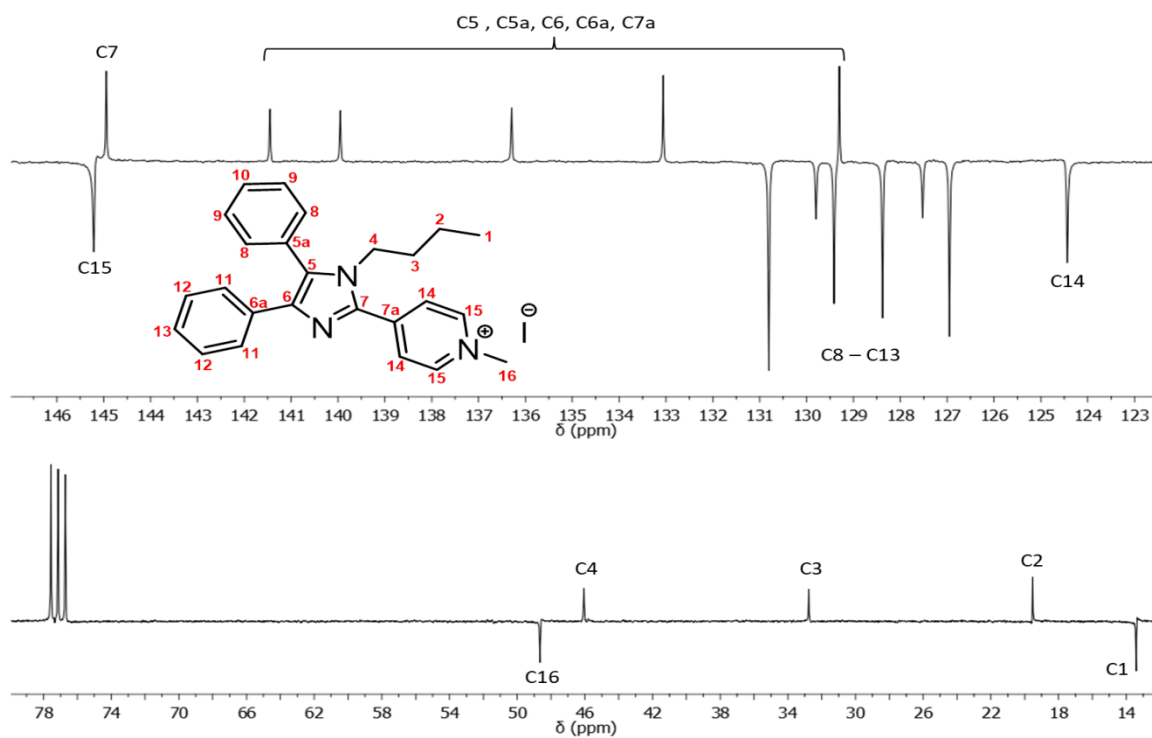
Esquema 8 - Reação de metilação das butil-lofinas piridínicas.



O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **11b** é apresentado na Figura 23. Observa-se que os sinais correspondentes aos H15 e H14, dois dupletos com  $J = 6,8$  Hz em 9,14 ppm e 8,55 ppm, respectivamente, são mais desblindados quando comparados aos do composto não metilado **9b**. Os demais hidrogênios aromáticos são observados como quatro multipletos na região de 7,18 - 7,55 ppm. O simpleto observado em 4,79 ppm com integral para três hidrogênios corresponde aos H16 da metila ligada ao nitrogênio piridínico. Os tripletos correspondentes aos H1 e H4, ambos com  $J = 7,4$  Hz, estão ligeiramente mais desblindados quando comparados aos do composto não metilado **9b**. O mesmo ocorre para os demais hidrogênios alifáticos, que são observados como dois multipletos na região de 1,05 - 1,61 ppm.

Figura 23 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **11b**.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  APT do composto **11b** é apresentado na Figura 24. Nele destacam-se os sinais, em ppm: 145,2 (C15); 144,9 (C7); 124,4 (C14); 48,6 (C16); 46,0 (C4); 32,7 (C3); 19,5 (C2); 13,4 (C1).

Figura 24 - Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (APT, 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do composto **11b**.

## 5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizados três heterodímeros bis(6)-lofina piridínicos, a partir de uma reação de condensação tetracomponente entre a *N*-hexanoaminolofina, a benzila, o acetato de amônio e os *n*-piridinacarboxaldeídos, com rendimentos de 25 - 37%. Considerando o alto valor agregado dos produtos obtidos, a síntese realizada mostrou-se eficiente, pois envolve poucas etapas reacionais. Para a obtenção dos dímeros sintetizou-se o intermediário *N*-hexanoaminolofina, através de uma reação de condensação tetracomponente, utilizando o forno de micro-ondas. Foi realizado um estudo quanto à influência de ácidos de Lewis como catalisadores, a fim de determinar a melhor condição reacional. Observou-se que a reação sem catalisador apresentou um bom rendimento, sendo essa condição escolhida para a síntese dos intermediários. Por não haver a necessidade do uso de catalisador, a síntese acaba sendo mais barata, visto que o  $\text{InCl}_3$ , ácido de Lewis que apresentou o melhor rendimento, tem um alto custo. Estudos anteriores para a obtenção do núcleo lofínico, via reação tetracomponente com o uso de micro-ondas, são limitados ao uso dos componentes alquilamina, benzilamina ou arilamina. Neste trabalho estendeu-se o uso de micro-ondas na obtenção de três heterodímeros bis(6)-lofina piridínicos, usando-se 1,*n*-alcanodiaminas. Ainda foram obtidos compostos butil-lofínicos piridínicos para o estudo visando ao modelo de metilação do nitrogênio piridínico no núcleo lofina. A condição reacional utilizada foi com um excesso de iodometano e refluxo a 40 °C.

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  APT. Os dímeros sintetizados foram obtidos com pureza adequada para serem encaminhados para a realização do ensaio de inibição das enzimas AChE e BuChE, que será feito com a colaboração da doutoranda Brunella Biscussi do *Laboratorio de Productos Naturales da Universidad Nacional del Sur*.

Como perspectivas para a continuação do trabalho, pretende-se realizar a metilação dos heterodímeros bis(6)-lofina piridínicos, obtendo-se três novos heterodímeros.

## 6 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e serão caracterizados por infravermelho. Os compostos sólidos terão seu ponto de

fusão determinado. A nomenclatura foi escrita baseando-se no programa *ChemDraw Ultra* 14.0 (*ChemBioOffice* 2014), considerada a tradução do inglês.

## 6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

### 6.1.1 Solventes e reagentes

Na purificação por cromatografia em coluna foi utilizada como fase estacionária sílica gel 60 Å (70 - 230 mesh), comprada da Acros. Para a cromatografia por camada delgada (CCD), utilizaram-se placas de alumínio com 0,2 mm de sílica gel 60F-254, comprada da Macherey-Nagel. A trietilamina P.A., utilizada na fase móvel para cromatografia, comprada da Aldrich, e os demais solventes P.A., utilizados nas reações e nas purificações, pela Nuclear. A acetona foi deixada sob agitação com CaCO<sub>3</sub>, em atmosfera inerte e à temperatura ambiente durante 24 horas, seguida de destilação sob atmosfera inerte.

### 6.1.2 Micro-ondas

As reações foram conduzidas no forno de micro-ondas CEM, modelo MARS6, utilizando os frascos MARSXPress, com capacidade de 10 mL. O programa de temperatura utilizado consistiu em uma rampa de aquecimento de 15 minutos para alcançar 110 °C, seguido de 1 hora de reação, com agitação magnética.

### 6.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C foram feitos em uma solução de CDCl<sub>3</sub>, em um espectrômetro Varian VNMRS, modelo INOVA, 300 MHz e 75,5 MHz, respectivamente, e no espectrômetro Bruker BioSpin, 400 MHz e 100 MHz. O tempo de relaxação em ambas as análises foi de 1,0 segundo e os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são apresentados em partes por milhão (ppm), a partir do tetrametilsilano (TMS,  $\delta = 0,00$  ppm) como padrão interno no RMN-<sup>1</sup>H e a partir do solvente CDCl<sub>3</sub> ( $\delta = 77,16$  ppm) no RMN-<sup>13</sup>C. As multiplicidades são representadas por s (simpleto), d (duplete), t (triplete), m (multiplete), dd (duplete de dupletos), ddd (duplo duplete de dupletos) ou td (triplete de dupletos). A constante de acoplamento (*J*) é dada em Hz.

## 6.2 PROCEDIMENTO PARA A PREPARAÇÃO DA 6-(2,4,5-TRIFENIL-1H-IMIDAZOL-1-IL)HEXAN-1-AMINA (5)

A mistura de 1,6-hexanodiamina (1 mmol), acetato de amônio (1mmol), benzila (1 mmol), benzaldeído (1 mmol), catalisador (0,15 mmol, quando necessário) e etanol (3,5 mL) foi adicionada em um frasco compatível com o uso do forno de micro-ondas e iniciou-se o programa de temperatura. Esse programa foi repetido três vezes, a fim de completar 4 horas de reação. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado em rotaevaporador. O óleo obtido foi dissolvido em DCM (20 mL) e lavado com uma mistura 1:1 de água e solução saturada de NaCl (2 x 20 mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente evaporado em rotaevaporador. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel, empregando-se como mistura eluente CHCl<sub>3</sub>:MeOH:NH<sub>4</sub>OH, na proporção (98:1,5:0,5) com eluição por gradiente até (80:19,5:0,5). Óleo amarelo; rendimento: 34 - 50%; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7,63 – 7,58 (m, 2H); 7,47 – 7,31 (m, 10H); 7,15 – 7,09 (m, 2H); 7,08 – 7,01 (m, 1H); 3,80 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 2,79 (s, 2H); 2,47 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H); 1,31 – 1,10 (m, 4H); 0,94 – 0,79 (m, 4H); RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  147,5; 137,5; 134,4; 131,4; 131,3; 130,8; 129,4; 129,0; 128,9; 128,7; 128,5; 127,9; 126,6; 126,1; 44,4; 41,7; 32,9; 30,1; 25,8; 25,7.

## 6.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DAS N-(4,5-DIFENIL-1-(6-(2,4,5-TRIFENIL-1H-IMIDAZOL-1-IL)HEXIL)-1H-IMIDAZOL-2-IL)PIRIDINAS (7a - c)

A mistura de 6-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)hexan-1-amina (0,45 mmol), acetato de amônio (0,45 mmol), benzila (0,45 mmol), n-piridinacarboxaldeído (0,45 mmol) e etanol (3,5 mL) foi adicionada em um frasco compatível com o uso do forno de micro-ondas e iniciou-se o programa de temperatura. Esse programa foi repetido três vezes, a fim de completar 4 horas de reação. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado em rotaevaporador.

### 6.3.1 2-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)hexil)-1H-imidazol-2-il)piridina (7a)

O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel, empregando-se como mistura eluente Hexano:AcOEt, na proporção (90:10) com eluição por gradiente até (0:100). Sólido amarelo; rendimento: 37%; RMN-<sup>1</sup>H (400



MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,48 (ddd,  $J = 4,8; 2,0; 0,9$  Hz, 1H); 8,35 – 8,31 (m, 1H); 7,77 (td,  $J = 7,6; 2,0$  Hz, 1H); 7,66 – 7,61 (m, 2H); 7,54 – 7,48 (m, 4H); 7,47 – 7,39 (m, 9H); 7,37 – 7,30 (m, 4H); 7,23 – 7,10 (m, 7H); 4,29 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H); 3,78 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H); 1,38 – 1,27 (m, 2H); 1,24 – 1,13 (m, 2H); 0,81 – 0,70 (m, 4H); RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  151,0; 148,2; 147,6; 144,0; 137,9; 137,7; 136,6; 134,5; 131,6; 131,5; 131,4; 131,2; 131,1; 130,9; 129,8; 129,5; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,7; 128,6 (2C); 128,1; 128,0; 126,8; 126,7; 126,3; 126,2; 123,4; 122,4; 45,0; 44,5; 30,5; 30,1; 25,5; 25,4.

### 6.3.2 3-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (7b)

O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel, empregando-se como mistura eluente Hexano:AcOEt:MeOH, na proporção (85:15:0) com eluição por gradiente até (0:90:10), seguido de uma segunda cromatografia, utilizando como fase móvel CHCl<sub>3</sub>:MeOH, na proporção (100:0) com eluição por gradiente até (95:5). Óleo amarelo; rendimento: 25%; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,97 (dd,  $J = 2,0; 0,8$  Hz, 1H); 8,70 (dd,  $J = 4,9; 2,0$  Hz, 1H); 8,10 – 8,05 (m, 1H); 7,54 – 7,39 (m, 9H); 7,24 – 7,11 (m, 3H); 3,92 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H); 1,41 – 1,30 (m, 2H); 1,07 – 0,93 (m, 2H); 0,64 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H); RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  149,7; 149,3; 147,6; 144,3; 138,5; 137,7; 136,6; 134,4; 134,1; 131,4 (2C); 131,0; 130,9 (2C); 130,2; 129,5; 129,1 (2C); 129,0; 128,9; 128,8; 128,6 (2C); 128,1; 128,0; 127,7; 126,8; 126,7; 126,5; 126,3; 123,5; 44,6; 44,3; 30,1; 29,9; 25,3; 25,3.

### 6.3.3 4-(4,5-difenil-1-(6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)-1*H*-imidazol-2-il)piridina (7c)

O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel, empregando-se como mistura eluente Hexano:AcOEt, na proporção (70:30) com eluição por gradiente até (0:100), seguido de uma segunda cromatografia, utilizando como fase móvel CHCl<sub>3</sub>:MeOH, na proporção (97:3). Sólido amarelo; rendimento: 28%; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,71 – 8,68 (m, 2H); 7,63 – 7,59 (m, 2H); 7,59 – 7,57 (m, 2H); 7,52 – 7,39 (m, 13H); 7,36 – 7,29 (m, 4H); 7,24 – 7,10 (m, 6H); 3,83 – 3,72 (m, 4H); 1,18 – 1,06 (m, 4H); 0,68 – 0,57 (m, 4H); RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  150,2; 147,6; 144,4; 138,8; 138,7; 137,7; 134,4; 134,0; 131,4 (2C); 131,0; 130,9;

130,8; 130,7; 129,4; 129,1 (2C); 129,0; 128,8; 128,6; 128,1; 128,0; 126,7; 126,6; 126,3; 122,8; 44,6; 44,3; 30,1; 29,9; 25,3; 25,3.

#### 6.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DAS *N*-(1-BUTIL-4,5-DIFENIL-1*H*-IMIDAZOL-2-IL)PIRIDINAS (**9a - b**)

A mistura de *n*-butilamina (1 mmol), acetato de amônio (1 mmol), benzila (1 mmol), *n*-piridinacarboxaldeído (1 mmol),  $\text{InCl}_3$  (0,15 mmol) e etanol (3 mL) foi refluxada a 80 °C por 12 h. Após esse tempo, adicionou-se mais 1 mmol de *n*-piridinacarboxaldeído, de benzila e de acetato de amônio. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel, utilizando como mistura eluente Hexano:AcOEt:Et<sub>3</sub>N, na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (0:99:1).

##### 6.4.1 3-(1-butyl-4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**9a**)

Sólido amarelo claro; rendimento: 61%; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,95 (dd,  $J = 2,2; 0,8$  Hz, 1H); 8,68 (dd,  $J = 4,9; 1,7$  Hz, 1H); 8,09 – 8,05 (m, 1H); 7,55 – 7,39 (m, 8H); 7,24 – 7,11 (m, 3H); 3,90 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H); 1,41 – 1,29 (m, 2H); 1,05 – 0,94 (m, 2H); 0,62 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H); RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  149,7; 149,5; 144,4; 138,5; 136,8; 134,3; 131,1; 131,0; 130,4; 129,2; 128,9; 128,2; 127,8; 126,8; 126,5; 123,6; 44,7; 32,7; 19,5; 13,3.

##### 6.4.2 4-(1-butyl-4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)piridina (**9b**)

Sólido amarelo claro; rendimento: > 95%; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8,74 (m, 2H); 7,68 (m, 2H); 7,53 – 7,47 (m, 5H); 7,44 – 7,38 (m, 2H); 7,24 – 7,12 (m, 3H); 3,96 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H); 1,43 – 1,34 (m, 2H); 1,10 – 0,94 (m, 2H); 0,65 (t,  $J = 7,6$  Hz, 3H); RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  150,3; 144,6; 139,0; 138,8; 134,2; 131,3; 131,1; 131,0; 129,2; 129,1; 128,2; 126,9; 126,7; 123,0; 44,9; 32,7; 19,5; 13,2.

#### 6.5 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PREPARAÇÃO DOS IODETOS DE *N*-(1-BUTIL-4,5-DIFENIL-1*H*-IMIDAZOL-2-IL)1-METILPIRIDIN-1-IO (**11a - b**)

A mistura de *n*-(1-butyl-4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)piridina (0,5 mmol) e iodometano (1 mmol), em acetona seca, foi refluxada a 40 °C e mantido sob atmosfera inerte por 18 horas. Ao fim do tempo reacional, o solvente foi evaporado em rotaevaporador.

**6.5.1 Iodeto de 3-(1-butil-4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)1-metilpiridín-1-io (11a)**

Sólido amarelo; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9,42 – 9,37 (m, 2H); 8,88 (d,  $J$  = 8,3 Hz, 1H); 8,31 – 8,25 (m, 1H); 7,53 – 7,50 (m, 3H); 7,48 – 7,41 (m, 4H); 7,26 – 7,19 (m, 3H); 4,73 (s, 3H); 4,21 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 2H); 1,52 – 1,38 (m, 2H); 1,12 – 1,03 (m, 2H); 0,67 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H).

**6.5.2 Iodeto de 4-(1-butil-4,5-difenil-1*H*-imidazol-2-il)1-metilpiridín-1-io (11b)**

O produto bruto foi recristalizado em metanol. Sólido amarelo escuro; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9,14 (d,  $J$  = 6,8 Hz, 2H); 8,55 (d,  $J$  = 6,8 Hz, 2H); 7,55 – 7,50 (m, 3H); 7,45 (dd,  $J$  = 7,7; 1,7 Hz, 2H); 7,41 – 7,34 (m, 2H); 7,25 – 7,18 (m, 3H); 4,59 (s, 3H); 4,21 (t,  $J$  = 7,4 Hz, 2H); 1,61 – 1,45 (m, 2H); 1,18 – 1,05 (m, 2H); 0,68 (t,  $J$  = 7,4 Hz, 3H); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  145,2; 144,9; 141,4; 139,9; 136,3; 133,0; 130,8; 129,8; 129,4; 129,3; 128,4; 127,5; 126,9; 124,4; 48,6; 46,0; 32,7; 19,5; 13,4.

## REFERÊNCIAS

1. SCHELTENS, P. *et al.* Alzheimer's disease. **Lancet**, v. 388, p. 505-517, 2016.
2. QUERFURTH, H. W.; LAFERLA, F. M. Mechanisms of disease: Alzheimer's Disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 362, n. 4, p. 329-344, 2010.
3. ALZHEIMER'S, A. 2018 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimers & Dementia**, v. 14, n. 3, p. 367-425, 2018.
4. DALVI, A. Alzheimer's Disease. **Dis. Mon.**, v. 58, n. 12, p. 666-677, 2012.
5. MASTERS, C. L. *et al.* Alzheimer's disease. **Nat. Rev. Dis. Primers**, v. 1, p. 1-18, 2015.
6. BARTUS, R. T. *et al.* The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. **Science**, v. 217, n. 4558, p. 408-417, 1982.
7. GREENAMYRE, J. T. *et al.* Glutamate transmission and toxicity in Alzheimer's disease. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 12, n. 4, p. 421-430, 1988.
8. HARDY, J. A.; HIGGINS, G. A. Alzheimer's disease - The amyloid cascade hypothesis. **Science**, v. 256, n. 5054, p. 184-185, 1992.
9. LAMBERT, M. P. *et al.* Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A beta(1-42) are potent central nervous system neurotoxins. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 95, n. 11, p. 6448-6453, 1998.
10. HANE, F.; LEONENKO, Z. Effect of Metals on Kinetic Pathways of Amyloid- $\beta$  Aggregation. **Biomolecules**, v. 4, p. 101-116, 2014.
11. DE FALCO, A. *et al.* Alzheimer's disease: Etiological hypotheses and treatment perspectives. **Quim. Nova**, v. 39, n. 1, p. 63-80, 2016.
12. DU, X. G.; WANG, X. Y.; GENG, M. Y. Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. **Transl. Neurodegener.**, v. 7, p. 7, 2018.
13. AN, Y. H. *et al.* Main hypotheses, concepts and theories in the study of Alzheimer's disease. **Life. Sci. J.**, v. 5, n. 4, p. 1-5, 2008.
14. TERRY, A. V.; BUCCAFUSCO, J. J. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: Recent challenges and their implications for novel drug development. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 306, n. 3, p. 821-827, 2003.
15. PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2013. 816 p.
16. HAMPEL, H. *et al.* The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. **Brain**, v. 141, p. 1917-1933, 2018.

17. BRUNTON, L.; KNOLLMAN, B. C.; CHABNER, B. A. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 12th ed. New York: McGraw-Hill Education, 2011. 1808 p.
18. BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neuroscience: exploring the brain**. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. ISBN 9780781760034
19. FRANCIS, P. T. *et al.* The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v. 66, n. 2, p. 137-147, 1999.
20. DVIR, H. *et al.* Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. **Chem. Biol. Interact.**, v. 187, n. 1-3, p. 10-22, 2010.
21. ÇOKUĞRAŞ, A. N. Butyrylcholinesterase: Structure and Physiological Importance. **Turk. J. Biochem.**, v. 28, p. 54-61, 2003.
22. PAN, L. *et al.* Design, synthesis and evaluation of isaindigotone derivatives as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 18, n. 13, p. 3790-3793, 2008.
23. LI, Q. *et al.* Recent progress in the identification of selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 132, p. 294-309, 2017.
24. SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase - new roles for an old actor. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 2, n. 4, p. 294-302, 2001.
25. DARVESH, S.; HOPKINS, D. A.; GEULA, C. Neurobiology of butyrylcholinesterase. **Nat. Rev. Neurosci.**, v. 4, n. 2, p. 131-138, 2003.
26. JOHNSON, G.; MOORE, S. W. The peripheral anionic site of acetylcholinesterase: Structure, functions and potential role in rational drug design. **Curr. Pharm. Des.**, v. 12, n. 2, p. 217-225, 2006.
27. ROSENBERRY, T. L. *et al.* Comparison of the binding of reversible inhibitors to human butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase: A crystallographic, kinetic and calorimetric study. **Molecules**, v. 22, n. 12, p. 21, 2017.
28. ZHANG, Y. K.; KUA, J.; MCCAMMON, J. A. Role of the catalytic triad and oxyanion hole in acetylcholinesterase catalysis: An ab initio QM/MM study. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 124, n. 35, p. 10572-10577, 2002.
29. RAKONCZAY, Z. Potencies and selectivities of inhibitors of acetylcholinesterase and its molecular forms in normal and Alzheimer's disease brain. **Acta Biol. Hung.**, v. 54, n. 2, p. 183-189, 2003.
30. CRISMON, M. L. Tacrine - 1st drug approved for Alzheimer's disease. **Ann. Pharmacother.**, v. 28, n. 6, p. 744-751, 1994.
31. IBACH, B.; HAEN, E. Acetylcholinesterase inhibition in Alzheimer's disease. **Curr. Pharm. Des.**, v. 10, n. 3, p. 231-251, 2004.

32. WATKINS, P. B. *et al.* Hepatotoxic effects of Tacrine administration in patients with Alzheimer's disease. **JAMA**, v. 271, n. 13, p. 992-998, 1994.
33. SHINTANI, E. Y.; UCHIDA, K. M. Donepezil: An anticholinesterase inhibitor for Alzheimer's disease. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, v. 54, n. 24, p. 2805-2810, 1997.
34. POLINSKY, R. J. Clinical pharmacology of rivastigmine: A new-generation acetylcholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. **Clin. Ther.**, v. 20, n. 4, p. 634-647, 1998.
35. PEARSON, V. E. Galantamine: A new Alzheimer drug with a past life. **Ann. Pharmacother.**, v. 35, n. 11, p. 1406-1413, 2001.
36. PANG, Y. P. *et al.* Highly potent, selective, and low cost bis-tetrahydroaminacrine inhibitors of acetylcholinesterase - Steps toward novel drugs for treating Alzheimer's disease. **J. Biol. Chem.**, v. 271, n. 39, p. 23646-23649, 1996.
37. GUILLOU, C. *et al.* Potent acetylcholinesterase inhibitors: Design, synthesis and structure-activity relationships of alkylene linked bis-galanthamine and galanthamine-galanthaminium salts. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 10, n. 7, p. 637-639, 2000.
38. XIE, Q. *et al.* Bis-(-)-nor-meptazinols as novel nanomolar cholinesterase inhibitors with high inhibitory potency on amyloid-beta aggregation. **J. Med. Chem.**, v. 51, n. 7, p. 2027-2036, 2008.
39. CARLIER, P. R. *et al.* Dimerization of an inactive fragment of huperzine A produces a drug with twice the potency of the natural product. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 39, n. 10, p. 1775-1777, 2000.
40. LOPES, J. P. B. *et al.* Chiral bistacrine analogues: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity and a molecular modeling approach. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 28, n. 11, p. 2218-2228, 2017.
41. VERMA, A.; JOSHI, S.; SINGH, D. Imidazole: Having Versatile Biological Activities. **J. Chem.**, v. 2013, p. 1-12, 2013.
42. LIU, T. *et al.* Synthesis and evaluation of 2-(2-(phenylthiomethyl)-1H-benzimidazol-1-yl)acetohydrazide derivatives as antitumor agents. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 22, n. 9, p. 3122-3125, 2012.
43. ZHAN, P. *et al.* Synthesis and biological evaluation of imidazole thioacetanilides as novel non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 17, n. 16, p. 5775-5781, 2009.
44. PURATCHIKODY, A.; DOBLE, M. Antinociceptive and antiinflammatory activities and QSAR studies on 2-substituted-4,5-diphenyl-1H-imidazoles. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 15, n. 2, p. 1083-1090, 2007.
45. HADIZADEH, F. *et al.* Synthesis and antidepressant activity of N-substituted imidazole-5-carboxamides in forced swimming test model. **Iran. J. Pharm. Res.**, v. 7, n. 1, p. 29-33, 2008.

46. ACHAR, K. C. S.; HOSAMANI, K. M.; SEETHARAMAREDDY, H. R. In-vivo analgesic and anti-inflammatory activities of newly synthesized benzimidazole derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 45, n. 5, p. 2048-2054, 2010.
47. DE VITA, D. *et al.* Synthesis and antifungal activity of a new series of 2-(1*H*-imidazol-1-yl)-1-phenylethanol derivatives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 49, p. 334-342, 2012.
48. JAIN, A. K. *et al.* Synthesis and antibacterial evaluation of 2-substituted-4,5-diphenyl-N-alkyl imidazole derivatives. **Asian Pac. J. Trop. Med.**, v. 3, n. 6, p. 471-474, 2010.
49. DE LUCA, L. Naturally occurring and synthetic imidazoles: Their chemistry and their biological activities. **Curr. Med. Chem.**, v. 13, n. 1, p. 1-23, 2006.
50. NARASIMHAN, B.; SHARMA, D.; KUMAR, P. Biological importance of imidazole nucleus in the new millennium. **Med. Chem. Res.**, v. 20, n. 8, p. 1119-1140, 2011.
51. MUMTAZ, A. *et al.* Imidazole and its derivatives as potential candidates for drug development. **Bangladesh J. Pharmacol.**, v. 11, n. 4, p. 756-764, 2016.
52. DA COSTA, J. S. *et al.* Synthesis of tacrine-lophine hybrids via one-pot four component reaction and biological evaluation as acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 62, p. 556-563, 2013.
53. CESCHI, M. A. *et al.* **Molécula híbrida contendo núcleos imidazólicos, arílicos e benzílicos, composição farmacêutica, Processo desintese e seus usos.** Brasil. BR10201702760, 20 dez. 2017.
54. DAS SHARMA, S.; HAZARIKA, P.; KONWAR, D. An efficient and one-pot synthesis of 2,4,5-trisubstituted and 1,2,4,5-tetrasubstituted imidazoles catalyzed by  $\text{InCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . **Tetrahedron Lett.**, v. 49, n. 14, p. 2216-2220, 2008.
55. GELENS, E. *et al.* Efficient library synthesis of imidazoles using a multicomponent reaction and microwave irradiation. **Mol. Divers.**, v. 10, p. 17-22, 2006.
56. HASANINEJAD, A. *et al.* Catalyst-free one-pot four component synthesis of polysubstituted imidazoles in neutral ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium bromide. **J. Comb. Chem.**, v. 12, p. 844-849, 2010.
57. KIDWAI, M. *et al.* An efficient synthesis of 2,4,5-trisubstituted and 1,2,4,5-tetrasubstituted-1*H*-imidazoles. **Bull. Korean. Chem. Soc.**, v. 26, n. 12, p. 2051-2053, 2005.
58. MOHAMMED, M. *et al.* Synthesis, docking studies and pharmacological evaluation of imidazole analogues of arecoline. **Int. J. Curr. Pharm. Res.**, v. 6, n. 1, p. 22-26, 2014.