

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**SÍNTESE DE INIBIDORES DAS ENZIMAS COLINESTERASES CONTENDO OS
NÚCLEOS LOFINA E BENZILAMINA**

Dissertação de Mestrado

VIKTOR SARAIVA CÂMARA

Porto Alegre, Abril de 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

VIKTOR SARAIVA CÂMARA

**SÍNTESE DE INIBIDORES DAS ENZIMAS COLINESTERASES CONTENDO OS
NÚCLEOS LOFINA E BENZILAMINA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de mestre em Química

Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi
Orientador

Porto Alegre, Abril de 2018

CIP - Catalogação na Publicação

Saraiva Camara, Viktor
SÍNTESE DE INIBIDORES DAS ENZIMAS COLINESTERASES
CONTENDO OS NÚCLEOS LOFINA E BENZILAMINA / Viktor
Saraiva Camara. -- 2018.
97 f.
Orientador: Marco Antonio Ceschi.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de
Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Síntese Orgânica. 2. Inibidores de
Colinesterases. 3. Lofina. I. Ceschi, Marco Antonio,
orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Agradecimentos

Aos meus pais Márcio e Saionara, por todo afeto, carinho e dedicação.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi, pela excelente orientação durante todo o tempo no laboratório.

Ao Dr. João Paulo Bizarro Lopes, pelo conhecimento passado, pela ajuda, colaboração no trabalho e companheirismo.

A Ana Julia por todo o apoio nesse trabalho.

A todos os amigos do grupo de síntese do K-215.

Aos amigos do laboratório K-206, por todos os momentos divertidos.

Agradeço especialmente a Natalí, por todos esses anos que estamos juntos.

Sumário

Lista de Figuras.....	VII
Lista de Esquemas.....	VIII
Lista de Abreviaturas.....	IX
Resumo	X
Abstract	XI
1 Introdução.....	1
2 Fundamentação Teórica	3
2.1 Hipótese da cascata do amiloide.....	3
2.2 Hipótese da proteína tau	4
2.3 Hipótese Colinérgica	6
2.4 Enzimas colinesterases.....	9
2.4.1 Estrutura das enzimas colinesterases	10
2.5 Inibidores de colinesterases	13
2.6 Memantina: Antagonista de receptores NMDA.....	18
2.7 Híbridos multialvo no tratamento da DA	20
2.8 Núcleo imidazol e Lofina	21
3 Objetivos	25
3.1 Objetivo Geral	25
3.2 Objetivos Específicos	25
4 Resultados e Discussão.....	26
4.1 Síntese das <i>N</i> -alquilaminolofinas	27
4.2 Síntese das <i>N</i> -alquilaminolofinas utilizando micro-ondas	31
4.3 Síntese dos híbridos lofina-benzilamina	32
4.3.1 Caracterização espectroscópica do híbrido 15a	35
4.4 Avaliação da atividade de inibição dos compostos sobre a AChE e BuChE.....	40
4.5 Estudo de modelagem molecular do híbrido 17c	44
5 Conclusões	48
6 Procedimento Experimental	49
6.1 Materiais e Métodos	49

6.1.1 Procedimento geral para a preparação do (<i>n</i> -alquilamino)carbamato de <i>tert</i> -butila. ...	49
6.1.2 Procedimento geral para a preparação do (<i>n</i> -(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)alquil)carbamato de <i>tert</i> -butila (7a-e).	50
6.1.3 Procedimento geral para a preparação da <i>n</i> -(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)alcano-1-amina (P1; 13a-e).....	51
6.1.4 Procedimento para a preparação da 6-(2,4,5-trifenil-1 <i>H</i> -imidazol-1-il)hexan-1-amina utilizando micro-ondas (P2; 13c).	52
6.1.5 Procedimento geral para a preparação dos híbridos lofina-benzilamina (15-19)	53
7 Referências	59
Anexos	68
Tabela de aminoácidos	69
Espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C dos Híbridos 15-19	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fármacos aprovados para o tratamento da DA.	2
Figura 2: Imidazol e lofina	2
Figura 3: Representação simplificada da proteólise da APP.	4
Figura 4: Processo de hiperfosforilação da tau.....	5
Figura 5: Compostos em fases clínicas de teste, que tem como alvo a proteína tau.	6
Figura 6: Estrutura do neurotransmissor acetilcolina.	7
Figura 7: Representação esquemática da sinapse colinérgica no sistema nervoso central ...	8
Figura 8: Cavidade enzimática da AChE.	11
Figura 9: Cavidade do oxianion, tríade catalítica e sítio aniônico da AChE.....	12
Figura 10: A) Cavidade enzimática da acetilcolinesterase humana (PDB 4EY4). B) Cavidade enzimática da butirilcolinesterase humana (PDB 1P0I).	13
Figura 11: Compostos aprovados pela FDA para o tratamento da DA	14
Figura 12: Representação simplificada da dupla interação do dímero bis(7)-tacrina	16
Figura 13: Fenserina e 4'-isopropilfenserina.....	18
Figura 14: Inibidores seletivos da BuChE contendo a tacrina como base.....	18
Figura 15: Mecanismo de ação da memantina.	19
Figura 16: Exemplos de compostos híbridos.	21
Figura 17: Tianeptina (Stablon®) e híbridos tacrina-tianeptina.	21
Figura 18: Compostos imidazólicos.	22
Figura 19: Retrossíntese do híbrido lofina-benzilamina.	26
Figura 20: Características estruturais do núcleo benzilamina.	27
Figura 21: Espectro de RMN de ¹ H do composto 7a	29
Figura 22: Espectro de RMN de ¹ H do composto 13a	31
Figura 23: Espectro de RMN de ¹ H do composto 15a	35
Figura 24: Espectro de RMN bidimensional ¹ H- ¹ H COSY do composto 15a	36
Figura 25: Espectro de RMN de ¹³ C APT do composto 15a	37
Figura 26: Espectro de RMN bidimensional ¹ H- ¹³ C HSQC do composto 15a	38
Figura 27: Ampliação da região de 6,95 a 7,35 ppm do espectro de RMN de ¹ H composto 17e	39
Figura 28: Espectro de RMN de ¹³ C APT do composto 17e	40
Figura 29: Representação simplificada do princípio do método de Ellman.	42
Figura 30: Modo de ligação previsto para o composto 17c com a AChE (2CKM).	45
Figura 31: Modo de ligação previsto para o composto 17c com a BuChE (5K5E)	46

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Etapada da biossíntese do neurotransmissor acetilcolina.....	7
Esquema 2: Reação de hidrólise da acetilcolina pela AChE.....	9
Esquema 3: Síntese de análogos quirais da tacrina..	15
Esquema 4: Síntese dos bis(n)-tacrina.....	15
Esquema 5: Síntese dos análogos quirais do bis(7)-tacrina.	17
Esquema 6: Reação de quimioluminescência da lofina.	23
Esquema 7: Reação multicomponente de Radziszewski.....	24
Esquema 8: Derivados imidazólicos sintetizados por Das Sharma <i>et.al.</i>	24
Esquema 9: Reação de Proteção das 1,n-alcanodiaminas.....	27
Esquema 10: Reação de condensação tetracomponente.....	28
Esquema 11: Proposta de mecanismo da reação de condensação tetracomponente.	29
Esquema 12: Reação de desproteção do grupo amino.	30
Esquema 13: Síntese do intermediário <i>N</i> -alquilaminolofina utilizando micro ondas.....	31
Esquema 14: Síntese dos híbridos lofina-benzilamina.....	33
Esquema 15: Redução de aldeídos e do íon imínio.....	34
Esquema 16: Tentativa de síntese do híbrido 17a utilizando NaBH ₃ CN.	34
Esquema 17: Reações envolvidas no método de Ellman..	41

LISTA DE ABREVIATURAS

δ	Deslocamento Químico
ν	Número de Onda
A β	Beta Amilóide
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
Acetil-CoA	Acetil-coenzima A
AICD	Domínio Intracelular de Amiloide
APP	Proteína Precursora do Amiloide
APT	<i>Attached Proton Test</i>
BACE-1	<i>Beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1</i>
BuChE	Butirilcolinesterase
CAS	Sítio Ativo Catalítico
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
ChAT	Colina Acetiltransferase
ChE	Colinesterase
ChEI	Inibidor de Enzima Colinesterase
COSY:	<i>Correlation Spectroscopy</i>
DA	Doença de Alzheimer
DCM	Diclorometano
DNTB	Ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
hAChE	Acetilcolinesterase Humana
hBuChE	Butirilcolinesterase Humana
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
MAO	Monoamino Oxidase
NMDA	<i>N</i> -metil-D-aspartato
PAS	Sítio periférico aniônico
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SNC	Sistema nervoso central
S _N Ar	Substituição Nucleofílica Aromática
TNB	Ácido 5-mercapto-2-nitrobenzóico
UV-Vis	Espectroscopia na Região do UV-visível

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa progressiva que resulta na perda irreversível das funções cerebrais. Uma estratégia para o tratamento paliativo é restaurar os níveis do neurotransmissor acetilcolina utilizando fármacos inibidores das enzimas colinesterases (ChEI). Nesse contexto a tacrina foi o primeiro fármaco aprovado nos EUA pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento da DA. Os análogos dímeros da tacrina, conhecidos como bis(n)-tacrina, mostraram maior eficiência na inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) comparativamente ao fármaco tacrina, devido à ação simultânea em dois sítios da enzima, catalítico (CAS) e periférico (PAS). Atualmente, vários compostos híbridos contendo dois ou mais núcleos farmacológicos tem sido sintetizados e testados como ChEI buscando interagir simultaneamente com o CAS e o PAS da enzima e também conferindo outras atividades biológicas importantes frente ao caráter multifatorial da DA. Dentre os núcleo farmacológicos existentes, o núcleo imidazol ocupa uma posição de destaque, estando presente em diversas moléculas bioativas. A lofina, um derivado imidazólico, apresenta propriedades farmacológicas muito interessantes, tornando a lofina uma plataforma de interesse para a síntese de novos fármacos para o tratamento da DA.

Utilizando-se a estratégia de hibridização molecular, neste trabalho foram sintetizados híbridos lofina-benzilamina. Os híbridos foram sintetizados através da reação de aminação redutiva entre as *N*-alquilaminolofinas e aldeídos aromáticos. Esses híbridos apresentaram atividade como ChEIs, com seletividade para a butirilcolinesterase (BuChE). Para melhor entender o modo de ligação dos híbridos com a enzima, foram realizados cálculos de modelagem molecular. Os estudos de *docking* mostraram que a porção lofina interage no fundo da cavidade enzimática, através de interações do tipo π - π *stacking*. Devido a ausência de resíduos aromáticos no PAS da BuChE, o núcleo benzilamina interage no bolso acila no CAS da enzima. Como visto nesse trabalho, o bolso acila é uma região da enzima que pode ser explorado para o desenvolvimento de fármacos seletivos para a BuChE.

Palavras chave: Inibidores de colinesterase; Lofina; Aminação redutiva.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder that causes irreversible loss of brain functions. A strategy for palliative treatment of AD is restore acetylcholine levels, using cholinesterase inhibitors (ChEI). Tacrine was the first drug approved in USA for the treatment of AD. Dimers of tacrine, known as bis(n)-tacrine, showed more efficient inhibitions of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) compared with tacrine, due to simultaneous action on two sites of the enzyme, catalytic active site (CAS) and peripheral anionic site (PAS). Currently, several hybrids have been synthesized and tested as ChEI. These hybrids seek to interact simultaneously with CAS and PAS and also interact with another factor of the disease. Lophine is an imidazole derivative which presents important pharmacological properties. In this way, lophine can be a nucleus for the synthesis of novel compounds for the treatment of Alzheimer's disease.

In this work, a novel series of lophine-benzilamine hybrids were synthesized. The hybrids were synthesized through reductive amination reaction, between *N*-alkylaminelophine and aromatic aldehydes. These hybrids showed activity as ChEIs, with selectivity for BuChE. According to the docking results, the lophine moiety is located at the bottom of the gorge forming diverse stacking interactions. Due to the absence of aromatic residues forming PAS in the BuChE structure, the benzylamine moiety is located at the acyl pocket of the enzyme. As seen in this work, the acyl pocket can be explored for the design of selective BuChE inhibitors.

1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, correspondendo a cerca de 60 a 80 % dos casos. A idade é o maior fator de risco da DA, sendo observada, principalmente, em pacientes com 65 anos ou mais.¹ De acordo com o *World Alzheimer Report 2016*, 47 milhões de pessoas no mundo vivem com a demência. Estima-se que esse número aumente para mais de 131 milhões até 2050. A DA tem um impacto muito grande na economia também, apresentando um custo mundial estimado em 818 bilhões de dólares anualmente, valor que chegará à casa do trilhão de dólares em 2018.² A grande maioria dos casos confirmados da DA tem causas desconhecidas.

Embora desconhecidas as causas da DA, disfunções neuropatológicas como atrofia do córtex cerebral, degeneração neurovascular, diminuição das sinapses, presença de placas senis extracelulares formadas pelo peptídeo β -amiloide ($A\beta$) e emaranhados neurofibrilares intracelulares da proteína tau são observadas.³ A formação e o acúmulo dessas proteínas anormais (Ex. proteína β -amiloide) resulta em danos oxidativo e inflamatórios, levando a disfunções sinápticas.⁴

O estágio inicial da DA é caracterizado pela perda da memória recente. Ansiedade, mudança de personalidade e depressão também podem ocorrer nos primeiros anos da doença. Após alguns anos, são observados sinais de disfunções cerebrais como problemas de fala, disfunções sensoriais e problemas motores, o que dificultam a habilidade do paciente de executar tarefas do cotidiano. A DA causa a morte dos pacientes entre 3 e 9 anos após o diagnóstico.⁵

Atualmente, não há cura para a DA, porém existem estratégias de tratamento que visam amenizar os sintomas da doença. O principal tratamento consiste em inibir a atividade da acetilcolinesterase (AChE) e da butirilcolinesterase (BuChE), potencializando a sinapse e diminuindo os déficits cognitivos. A primeira droga aprovada nos Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento da DA foi a 9-amino-1,2,3,4-tetraidroacridina, a tacrina (Figura 1). A tacrina apresenta uma boa atividade na inibição das enzimas, porém, foi retirada do mercado por apresentar efeitos colaterais, como hepatotoxicidade.

Além da tacrina, outros quatro fármacos foram aprovados pela FDA para o tratamento da DA (Figura 1). Nenhum desses fármacos diminui o declínio cognitivo e são efetivos somente nos estágios iniciais da DA. Um dado bem alarmante é o fato de que, o último fármaco aprovado para o tratamento da DA foi a memantina em 2003.⁶

Desde então, todos os fármacos que foram desenvolvidos para o tratamento da DA não tiveram seus efeitos comprovados em fases clínicas.

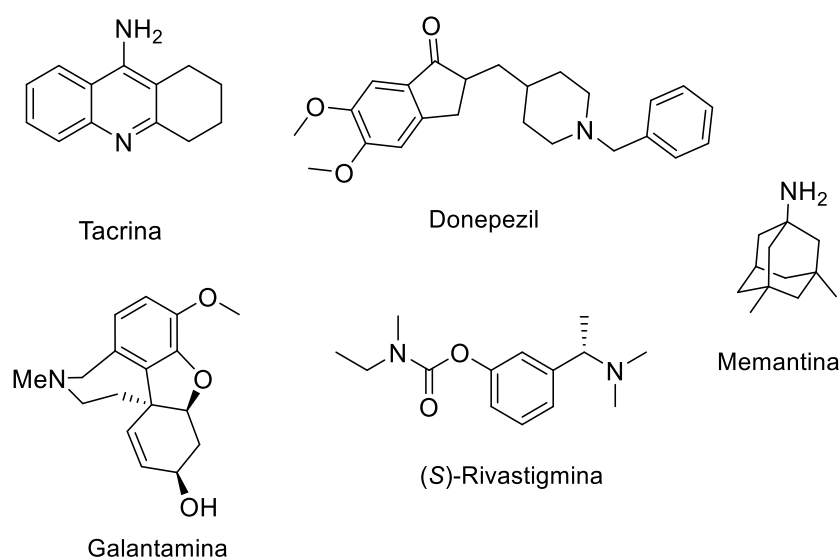


Figura 1: Fármacos aprovados para o tratamento da DA.

Tendo isso em vista, nosso grupo de pesquisa sintetiza compostos bioativos com potencial aplicação no tratamento desta doença. Dentre os compostos de nosso interesse estão os derivados imidazólicos. O núcleo imidazol (Figura 2) está presente em biomoléculas, como o aminoácido histidina, compostos de origem natural e fármacos. Um derivado imidazólicos de interesse do nosso grupo de pesquisa é o 2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol (lofina, Figura 2). Em trabalhos anteriores, a lofina se mostrou um núcleo interessante para a construção de moléculas para o tratamento da DA. O desenvolvimento de novos derivados da lofina é importante para consolidar o núcleo como um fragmento base para a síntese de novas moléculas bioativas.

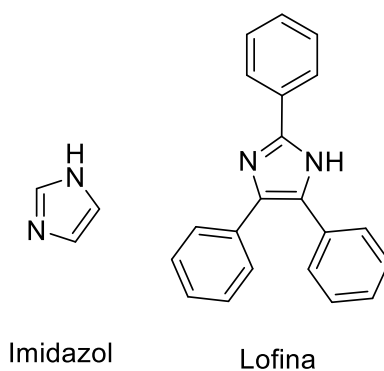


Figura 2: Imidazol e lofina

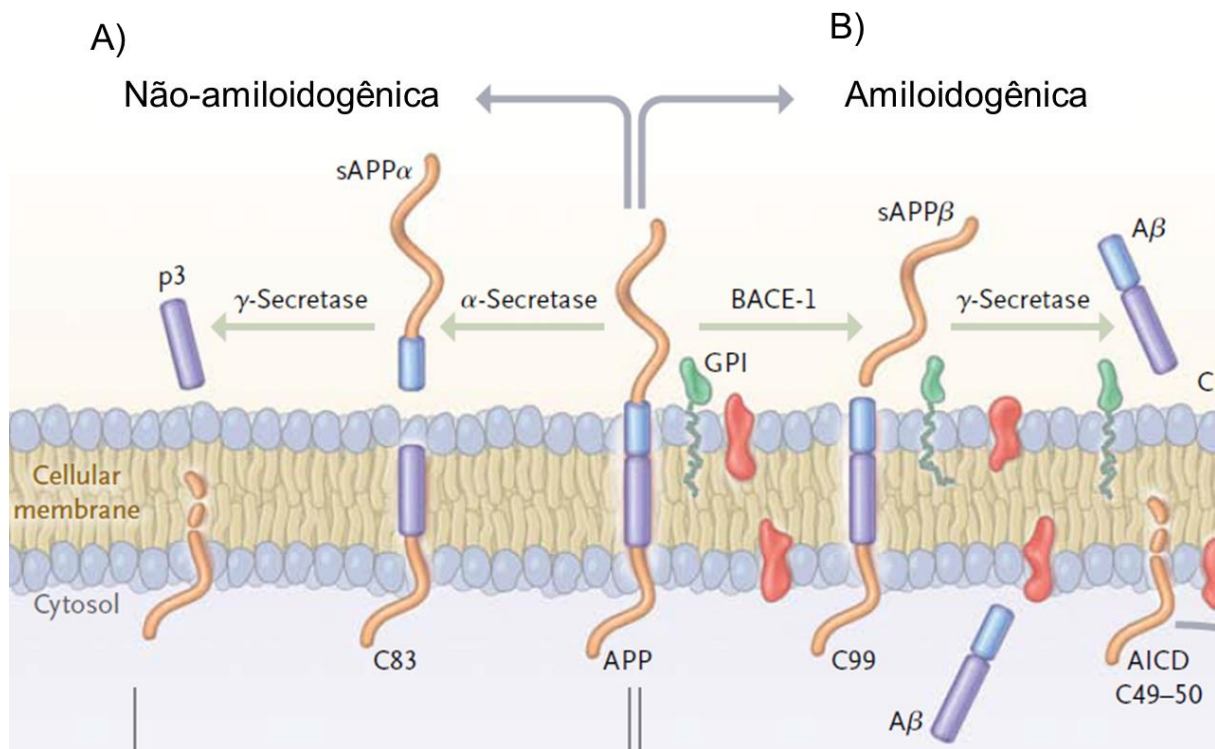
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Hipótese da cascata do amiloide

A hipótese da cascata do amiloide (ou hipótese A β) propõe que a patogênese inicial da DA se origina da deposição do peptídeo A β (placas senis).⁷ Os peptídeos A β são produtos naturais e apresentam entre 39 e 42 aminoácidos em sua sequência.⁸ Ele é formado a partir da proteólise da proteína precursora do amiloide (APP, em inglês) pela ação sequencial da BACE-1 (do inglês, *beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1*) e da γ -secretase.⁴ A APP é uma proteína transmembrana e sua função ainda não é completamente entendida. Entretanto, estudos mostraram que ela desempenha um papel fundamental no desenvolvimento do cérebro, na memória e na plasticidade sináptica.⁹

A Figura 3 apresenta uma representação simplificada do processo de proteólise da APP. Esse processo pode ocorrer por duas rotas: a rota não-amiloidogênica e a rota amiloidogênica. A rota não-amiloidogênica começa com a clivagem do APP pela α -secretase, levando a formação do sAPP α (do inglês, *secreted Amyloid Protein- α*) no meio extracelular e um fragmento carboxi-terminal, ou C-terminal, contendo 83 aminoácidos (C83) no domínio transmembrana. Em seguida, o C83 é digerido pela γ -secretase, liberando o fragmento P3 no meio extracelular, restando o domínio intracelular de amiloide (AICD). A rota amiloidogênica inicia com a clivagem do APP pela BACE-1, liberando o sAPP β no meio extracelular. O fragmento C-terminal contendo 99 aminoácidos (C99) é clivado pela γ -secretase, gerando o peptídeo A β e o AICD.⁴ A clivagem realizada pela γ -secretase pode ocorrer após os aminoácidos 38, 40 ou 42. A posição onde ocorre a clivagem é muito importante, tendo em vista, que o A β 42 é o peptídeo que tem maior potencial de oligomerizar e formar as placas senis.¹⁰

Segundo a hipótese do amiloide, mudanças no metabolismo do A β ocasionam um desequilíbrio entre produção, liberação e agregação do peptídeo. Como consequência, há um aumento dos níveis do A β 42, induzindo a formação de fibrilas do peptídeo, que se agregam formando as placas senis. Tais placas causam neurotoxicidade e induzem alterações na proteína tau, levando a morte das células neuronais e neurodegeneração.¹¹



Fonte: Adaptado de Querfurth *et al.*, 2010⁴

Figura 3: Representação simplificada da proteólise da APP. A) Rota não-amiloidogênica. B) Rota amiloidogênica.

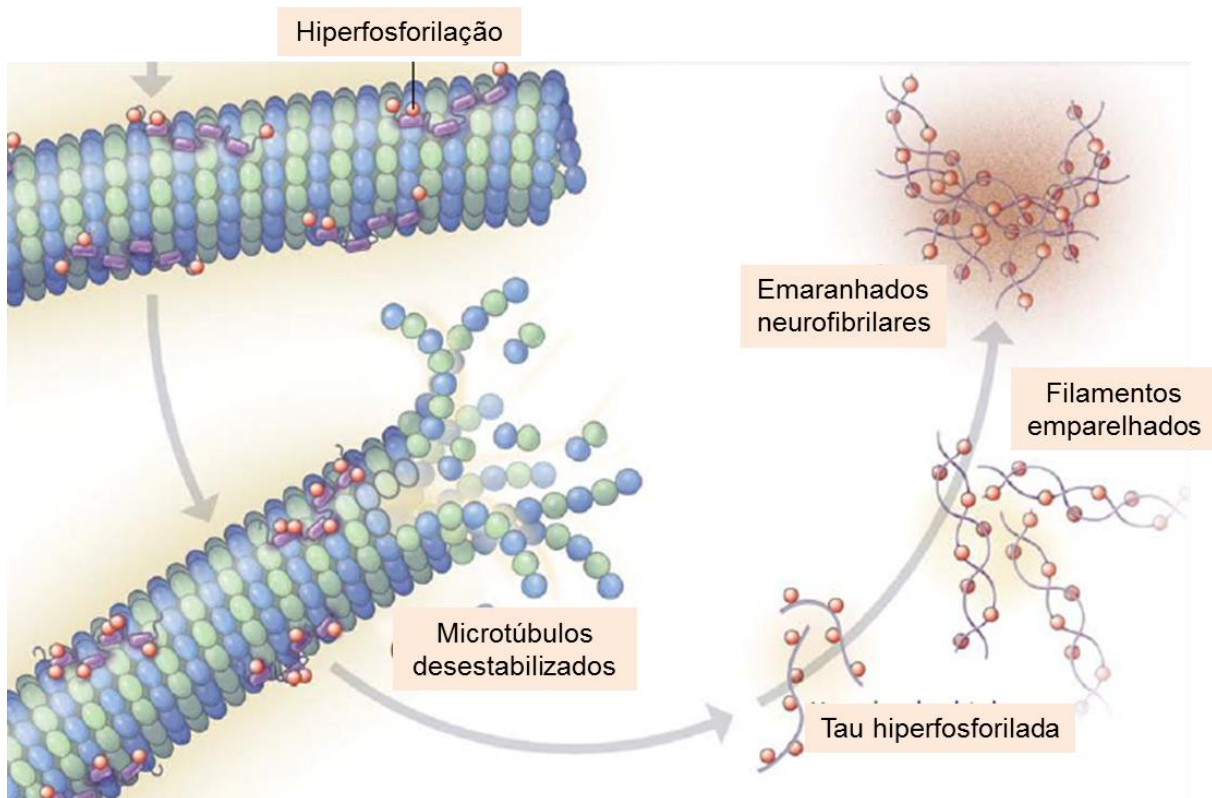
Desde que foi apresentada, a mais de 25 anos atrás, a hipótese da cascata do amiloide é a principal explicação para a patogênese da DA. As terapias baseadas nessa hipótese têm como alvo diminuir os níveis de A β no cérebro.¹² Atualmente, nenhum composto que visa diminuir os níveis de A β foi aprovado em fase clínica 3.¹³ Eles não foram capazes de reduzir significativamente os déficits cognitivos dos pacientes.¹¹ O Solanezumab, um anticorpo que se liga a A β , foi desenvolvido para auxiliar na liberação da A β do interior da célula. Entretanto, o Solanezumab também falhou em produzir efeitos benéficos aos pacientes em fase clínica 3.¹⁴

Tendo em vista que todas as tentativas de tratar a DA, tendo como alvo o A β , falharam, a comunidade científica passou a questionar a hipótese do amiloide. Além disso, descobertas recentes indicam que o fator determinante para o desenvolvimento da DA pode ser a proteína tau.¹¹

2.2 Hipótese da proteína tau

A proteína tau é a principal proteína associada aos microtúbulos (componente do citoesqueleto) de um neurônio normal. Sua função é de agrupar as tubulinas para formar os microtúbulos, estabilizando sua estrutura.¹⁵ Na DA e outras doenças

neurodegenerativas, a proteína tau é hiperfosforilada, um comportamento anormal, levando a desestabilização dos microtúbulos e liberação da proteína tau no meio celular. Os filamentos da tau hiperfosforilada se emparelham e posteriormente se agregam, formando os emaranhados neurofibrilares (Figura 4).^{4, 16} Assim como os depósitos de A β , os emaranhados neurofibrilares da proteína tau são citotóxicos.¹⁷ A quinase e a fosfatase são as enzimas responsáveis pela fosforilação e desfosforilação da proteína tau. Um desequilíbrio no funcionamento dessas enzimas leva a hiperfosforilação da proteína. Quando em condições fisiológicas normais, entre 2 e 3 resíduos da tau contêm grupos fosfatos. No caso de neuropatologia, esse número sobe para 9 grupos fosfatados.¹⁸



Fonte: Adaptado de Querfurth *et al.*, 2010⁴

Figura 4: Processo de hiperfosforilação da tau.

Diversas abordagens terapêuticas vêm sendo realizadas tendo como alvo o processo de hiperfosforilação da tau.¹⁹ Dois exemplos de composto que tem como alvo esse processo são apresentados na Figura 5. Uma das abordagens consiste na inibição da agregação da tau, evitando a formação dos emaranhados neurofibrilares. Algumas moléculas pequenas, como o corante azul de metileno,²⁰ estão sendo estudados como

inibidores da agregação da tau. Entretanto, esses compostos ainda não se mostraram efetivos em testes com humanos.²¹

Outra estratégia consiste na inibição das quinases. A inibição das enzimas quinases leva a uma diminuição da hiperfosforilação. Um exemplo de inibidor é o cloreto de lítio, que foi capaz de reduzir os níveis de oligômeros da tau insolúveis e os níveis de tau hiperfosforilada em experimentos modelos.²² Outro bom exemplo de inibidor de quinases é o composto K252a (produto natural, Figura 5), que também diminuiu os níveis de tau hiperfosforilada em testes com animais.²³ Embora tenham apresentado resultados em testes com animais modelos, nenhum inibidor de quinase apresentou eficácia em testes clínicos.²⁴ A utilização de anticorpos vem ganhando destaque na literatura. Diversas imunoterapias se encontram em fase de testes clínicos e são promissoras no tratamento da DA.²⁵

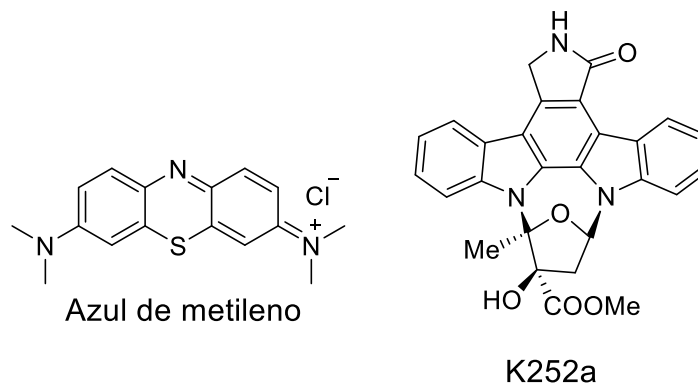


Figura 5: Compostos em fases clínicas de teste, que tem como alvo a proteína tau.

2.3 Hipótese Colinérgica

Os sintomas da DA, entre eles o mais pronunciado, a perda progressiva da memória, estão associados aos déficits na transmissão colinérgica, isto é, uma transmissão sináptica deficiente entre os neurônios colinérgicos (neurônios que utilizam a acetilcolina (ACh, Figura 6) como neurotransmissor) no sistema nervoso central (SNC).²⁶ A hipótese colinérgica postula que a perda das funções colinérgicas no sistema nervoso central contribui significativamente para o declínio cognitivo associado com a idade avançada e a DA. A hipótese colinérgica é a mais antiga hipótese sobre a DA. Os tratamentos baseados na hipótese colinérgica são paliativos, ou seja, eles visam atenuar os sintomas da DA, proporcionando uma melhor qualidade de vida ao paciente. Três dos quatro fármacos aprovados pelo FDA para o tratamento da DA tiveram como base para seu desenvolvimento a hipótese colinérgica.²⁷

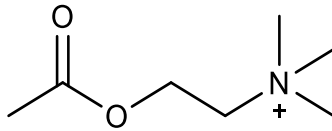
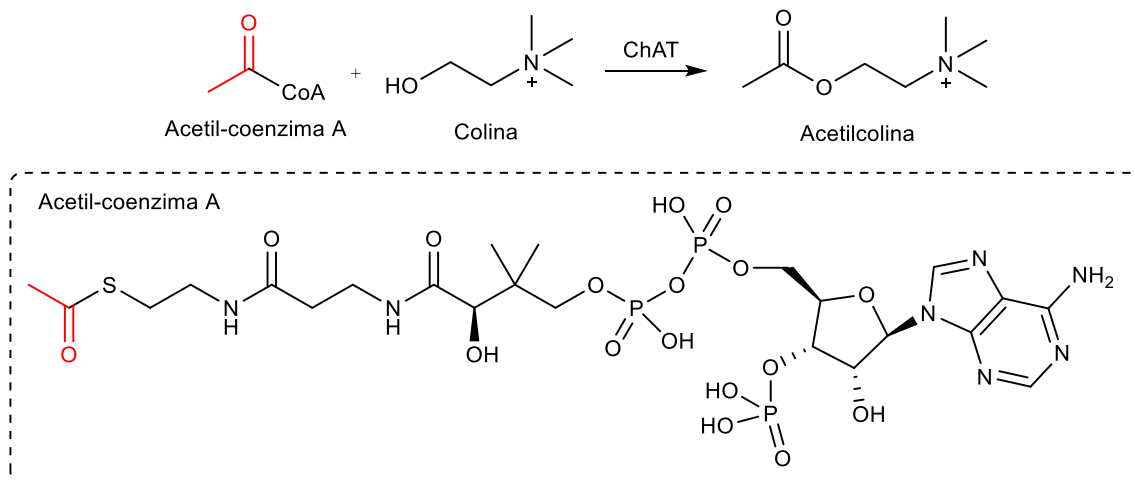


Figura 6: Estrutura do neurotransmissor acetilcolina.

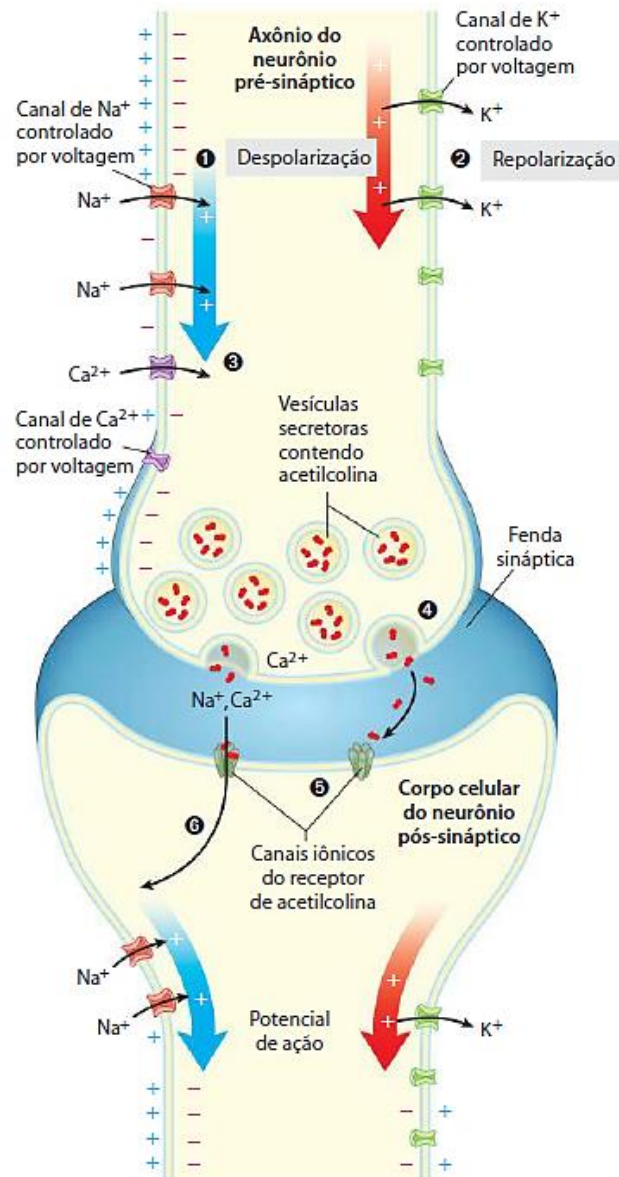
A sinapse colinérgica está relacionada com os principais processos cognitivos como a fala, memória e atenção. A sinapse ocorre na região chamada fenda sináptica, um espaço entre um neurônio pré-sináptico e um neurônio pós-sináptico. A síntese do neurotransmissor acetilcolina, através da reação entre a acetil-coenzima A (Acetil-CoA) e a colina, catalisada pela enzima colina acetiltransferase (ChAT) na zona ativa do neurônio pré-sináptico, inicia a sinapse colinérgica (Esquema 1). Após ser sintetizada, a ACh é armazenada em vesículas transportadoras.²⁸



Esquema 1: Etapa da biossíntese do neurotransmissor acetilcolina e estrutura da acetil-coenzima A.

Inicialmente, a membrana plasmática do neurônio pré-sináptico está polarizada, sendo o interior negativo. A estimulação deste neurônio causa um potencial de ação ao longo do axônio, ocasionando a abertura de canais iônicos de Na^+ , que são controlados por voltagem, gerando uma despolarização local e a consequente abertura dos canais de sódio adjacentes. Na membrana também há canais iônicos de K^+ . Esses canais são abertos uma fração de segundo após a passagem do potencial de ação, permitindo a saída de K^+ , formando um fluxo repolarizante da membrana que contrabalança com o fluxo despolarizante causado pela entrada de Na^+ . Portanto, a entrada de Na^+ e a saída de K^+ gera um potencial de ação unidirecional que chega a ponta do axônio onde há a presença de canais de Ca^{2+} . A entrada de Ca^{2+} é uma sinalização para a célula liberar a acetilcolina na fenda sináptica. Após liberada na fenda sináptica, a ACh se liga aos

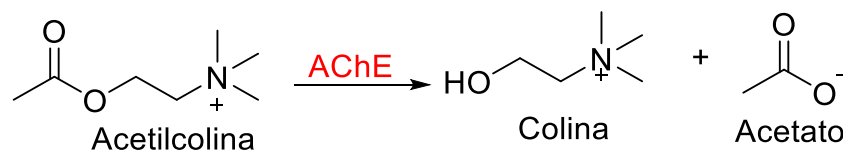
receptores específicos, que são canais iônicos, na membrana do neurônio pós-sináptico, promovendo a abertura desses canais e a entrada de íons Na^+ e Ca^{2+} na célula. A entrada desses íons promove a despolarização da membrana e ocasiona um novo impulso nervoso no neurônio pós-sináptico (Figura 7).^{29, 30}



Fonte: Nelson e Cox, 2011³⁰

Figura 7: Representação esquemática da sinapse colinérgica no sistema nervoso central: 1) Potencial de ação gerado pela despolarização da membrana celular; 2) Saída de K^+ , causando a repolarização da membrana; 3) Entrada de Ca^{2+} no meio celular; 4) Exocitose da acetilcolina; 5) Ligação da acetilcolina ao receptor; 6) Entrada de Ca^{2+} e Na^+ no neurônio pós-sináptico e geração de um novo potencial de ação.³⁰

Após a transmissão do impulso nervoso a ACh é hidrolisada por uma enzima ancorada na membrana, a acetilcolinesterase (AChE), produzindo colina e acetato, que são recaptados pelo neurônio pré-sináptico, encerrando a sinapse colinérgica (Esquema 2).³⁰ Em pacientes com a DA, observa-se um declínio das funções colinérgicas, contribuindo para as perdas cognitivas. O principal tratamento consiste em inibir reversivelmente a atividade da acetilcolinesterase (AChE) e da butirilcolinesterase (BuChE), potencializando a sinapse e diminuindo os déficits cognitivos.³¹



Esquema 2: Reação de hidrólise da acetilcolina pela AChE.

As hipóteses aqui apresentadas não são os únicos estudos sobre a DA. Diversas outras abordagens como disfunções mitocondriais, estresse oxidativo, homeostase de metais, neuroinflamações, etc, visam entender essa patologia.⁴

2.4 Enzimas colinesterases

As enzimas acetilcolinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) e butirilcolinesterase (BuChE, EC 3.1.1.8) são serino hidrolases amplamente encontradas em várias espécies animais.³² A acetilcolinesterase é encontrada no cérebro e nas junções neuromusculares e age em células pós-sinápticas, realizando a hidrólise da acetilcolina e encerrando a transmissão do impulso nervoso.³³ Esse processo é importante para que não ocorra acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica e uma consequente dessensibilização dos receptores colinérgicos, o que causa colapso no sistema nervoso, com perda do controle muscular, convulsão e falência respiratória. Além do seu papel na hidrólise da ACh, estudos identificaram que a AChE interage com as fibrilas do peptídeo A β , formando um complexo AChE-A β , que acelera a oligomerização do peptídeo A β .³⁴

A BuChE é sintetizada no fígado e é encontrada no plasma e no sistema nervoso. Assim como a AChE, a BuChE também é capaz de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina. Entretanto a AChE possui uma atividade da ordem de 10^{13} vezes maior que a atividade da BuChE para a hidrólise da acetilcolina, nas mesmas condições de temperatura e pH.³⁵ A função da BuChE não está bem esclarecida, porém, sabe-se que ela está envolvida no metabolismo de lipídios e em algumas doenças como danos no fígado, diabetes e na doença de Alzheimer.³⁶

No caso da DA, observou-se que em pacientes em estágio avançado, o nível de AChE no cérebro diminui entre 55 – 67 % dos valores normais, enquanto que o nível de BuChE aumenta cerca de 120 % do nível normal. Esse aumento da concentração de BuChE indica que a enzima assume a função da AChE na hidrólise da acetilcolina em estágios avançados do Alzheimer.³⁷ A progressão da DA também está associada a BuChE, sugerindo que a enzima contribui para a patogênese da doença.³⁸ Estudos recentes mostraram que a ausência da BuChE em cérebros de ratos modelos, levou a uma diminuição do depósito das placas A β , conservando as funções cerebrais em certas regiões.³⁹ Essas descobertas fazem com que inibidores seletivos da BuChE sejam considerados uma nova estratégia terapêutica para a DA, principalmente em estágios avançados onde a atividade da enzima aumenta consideravelmente.

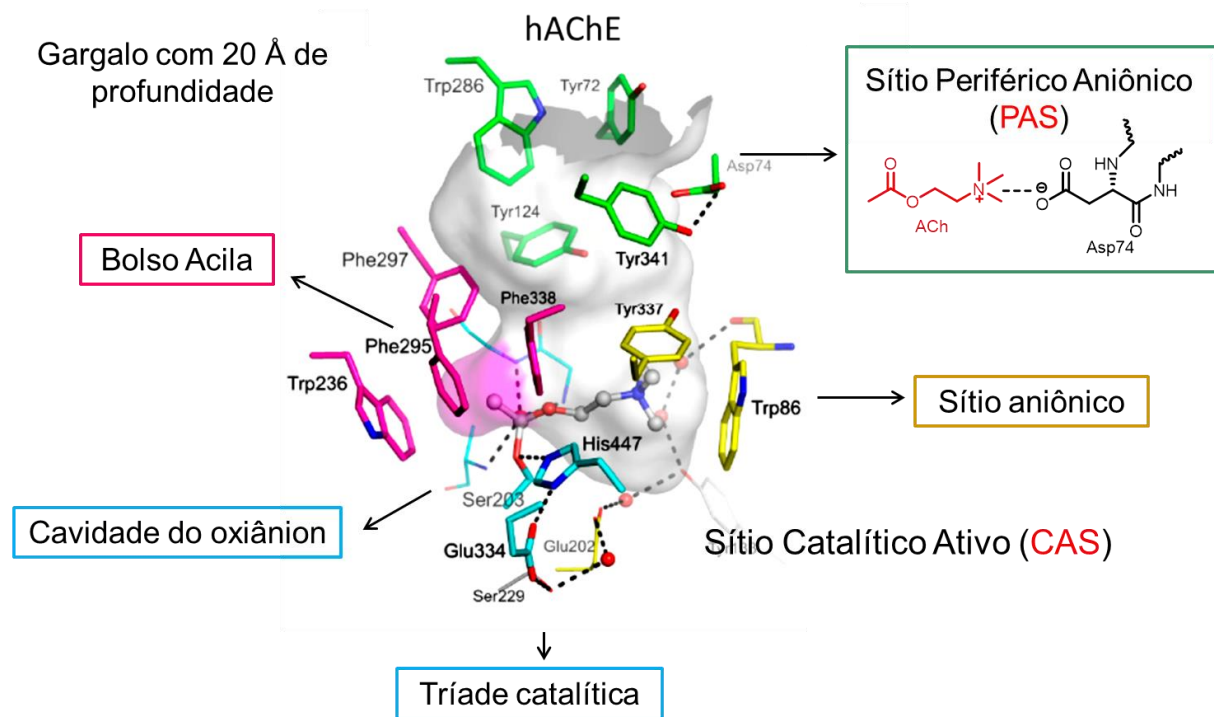
2.4.1 Estrutura das enzimas colinesterases

Relembrando, as colinesterases são responsáveis pela hidrólise da acetilcolina na sinapse colinérgica, principalmente a AChE, que possui uma alta atividade catalítica, com um número de *turnover* entre 1.000 e 10.000 s⁻¹.⁴⁰ Para atingir essa alta atividade catalítica, a cavidade enzimática da AChE conta com uma arquitetura perfeita para realizar a hidrólise da ACh. Ambas as colinesterases apresentam os mesmos sítios e subsítios, a diferença reside nos aminoácidos que os compõem.

Na Figura 8 é apresentada a cavidade enzimática da AChE, que tem a forma de um gargalo estreito e profundo de aproximadamente 20 Å.^{41, 42} Ela é composta de dois sítios: o sítio catalítico ativo (*catalytic active site* - CAS), ao fundo da cavidade enzimática, e o sítio aniônico periférico (*peripheral anionic site* – PAS), próximo à entrada da cavidade.⁴³ A função do PAS é capturar a acetilcolina no meio extracelular e direcioná-la para o interior da enzima. Para realizar essa função, o PAS conta com o aminoácido aspartato que apresenta uma carga negativa. Através de interações eletrostáticas, o Asp74 captura e direciona a ACh para o interior da cavidade enzimática.⁴⁴

A catálise enzimática ocorre quando os resíduos de aminoácidos, do sítio catalítico de uma enzima, conseguem interagir com o substrato, estabilizando o estado de transição da reação de hidrólise.³⁰ O CAS das colinesterases é dividido em quatro subsítios, que têm a função de estabilizar o estado de transição da hidrólise da ACh. São eles: o bolso acila, a cavidade do oxiânion, o sítio aniônico e a tríade catalítica. Os quatro subsítios atuam de forma sinérgica, diminuindo a energia do estado de transição, possibilitando a catálise.

O bolso acila, representado pela cor rosa na Figura 8, é formado pelos resíduos Phe295, Phe297 e Phe338. Esses resíduos aromáticos são volumosos e delimitam o espaço onde o grupo acila, da ACh, se acomodará.⁴⁵



Fonte: Adaptado de Rosenberry *et al.*, 2017⁴²

Figura 8: Cavidade enzimática da AChE.

A Figura 9 mostra com mais detalhes a cavidade do oxianion, o sítio aniônico e a tríade catalítica. A cavidade do oxianion é formada pelos nitrogênios, participantes da ligação peptídica, dos aminoácidos Gli121, Gli122 e Ala204. Através de ligações de hidrogênio, a carbonila da ACh interage com os hidrogênios ligados aos nitrogênios, estabilizando o intermediário de alta energia e o estado de transição da reação. Inicialmente, a Ala204 não interage com a carbonila. Porém, com o decorrer da reação e a formação do intermediário tetraédrico (formado quando a serina da tríade catalítica se adiciona na carbonila), uma ligação de hidrogênio entre a Ala204 e a ACh é formada.⁴⁶

O sítio aniônico é formado pelos aminoácidos Trp84, Glu199 e Phe330.⁴⁷ Esse sítio é responsável por acomodar o grupo amino quaternário da ACh. O principal resíduo desse sítio é o Trp84, pois ele interage com a carga positiva do grupo amino, através de interações do tipo cátion- π .⁴⁸ A tríade catalítica é composta pela Ser203, His447 e Glu334. Os três aminoácidos são os responsáveis por hidrolisar a ACh e atuam simultaneamente. A hidroxila da Ser203 atua como um nucleófilo, atacando a carbonila

da ACh. A histidina atua como uma base, abstraindo o próton da Ser203, aumentando sua nucleofilicidade. Por fim, o Glu334 estabiliza o estado de transição formado, através de interações eletrostáticas com a His447.^{33, 46}

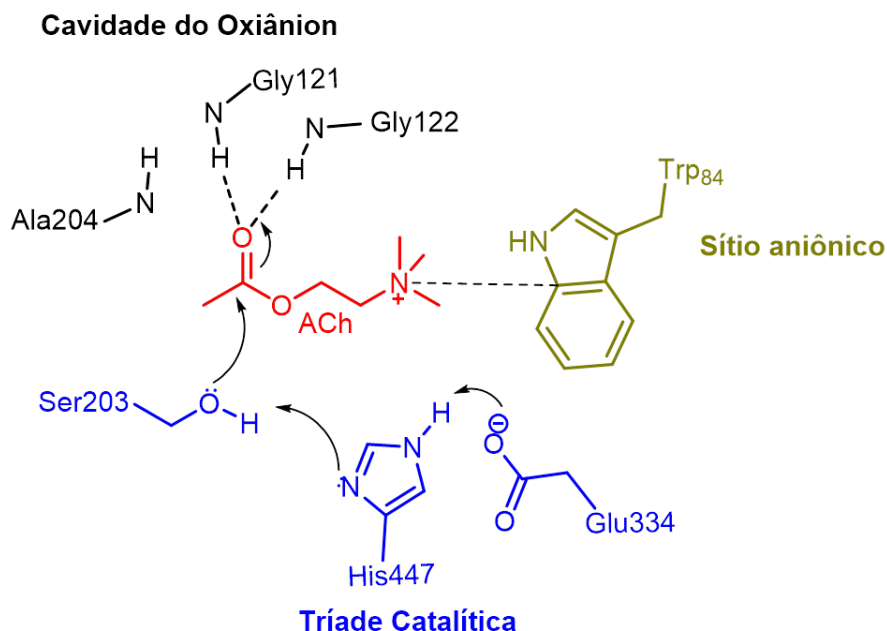
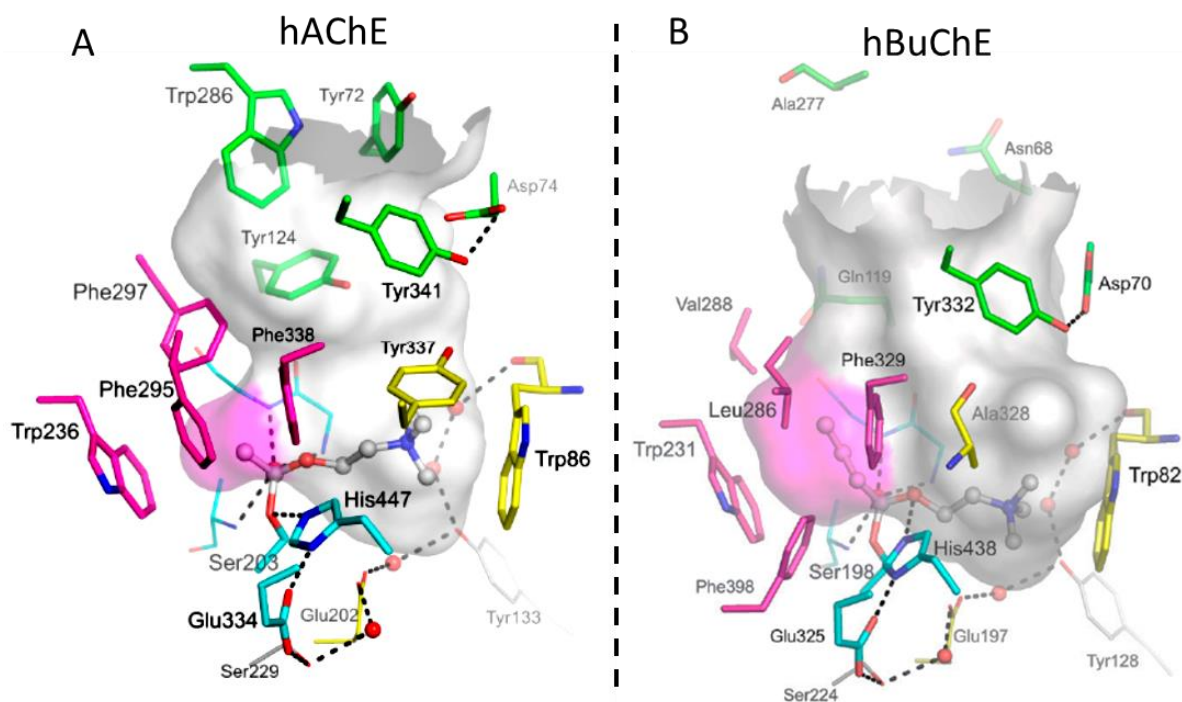


Figura 9: Cavidade do oxianion, tríade catalítica e sítio aniônico da AChE.

Como já dito, a BuChE apresenta os mesmos sítios e subsítios que a AChE, e por esse motivo ela também consegue hidrolisar a ACh. Na Figura 10 são apresentadas as estruturas da AChE e da BuChE humana para comparação. As duas colinesterases compartilham cerca de 65 % da sequência de aminoácidos.³⁷ A tríade catalítica das duas é a mesma. A principal diferença na cavidade enzimática reside na quantidade de resíduos aromáticos. Dos dez resíduos aromáticos presentes na AChE, somente quatro permanecem na BuChE. Os principais sítios afetados por essa diferença são o PAS e o bolso acila. No PAS, onde a AChE possui os resíduos triptofano, fenilalanina e duas tirosinas, a BuChE possui a alanina, valina, asparagina e glutamato, aminoácidos alifáticos que conferem maior flexibilidade à BuChE, possibilitando a interação com substratos mais volumosos.⁴²

No bolso acila, a BuChE apresenta a leucina e a valina, enquanto que a AChE conta com duas fenilalaninas. A presença desses dois aminoácidos menores no bolso acila da BuChE confere um espaço maior disponível no interior da enzima. Dessa forma, a BuChE consegue hidrolisar substratos maiores. O conhecimento das diferenças entre as estruturas das duas enzimas possibilita o planejamento de fármacos seletivos para a BuChE, em relação a AChE.⁴⁹



Fonte: Adaptado de Rosenberry *et al.*, 2017⁴²

Figura 10: A) Cavidade enzimática da acetilcolinesterase humana (PDB 4EY4). B) Cavidade enzimática da butirilcolinesterase humana (PDB 1P0I).

2.5 Inibidores de colinesterases

Os inibidores de colinesterases (ChEI) retardam a degradação da acetilcolina pela AChE (ou pela BuChE), causando um aumento da concentração da ACh na fenda sináptica, otimizando a disponibilidade do substrato para a comunicação entre os neurônios. Essa estratégia retarda a progressão dos sintomas decorrentes da disfunção cognitiva, permitindo ao paciente uma melhora na qualidade de vida.³ Atualmente, três dos quatro fármacos aprovados pelo FDA para o tratamento dos déficits cognitivos associados a DA (Figura 11) atuam como ChEI: Donepezil (Aricept®), (S)-Rivastigmina (Exelon®) e Galantamina (Razadyne®). O outro fármaco, a Memantina (Namenda XR®), é do tipo antagonista dos receptores de *N*-metil-D-aspartato (NMDA), e será abordado com mais detalhes no item 2.6. Embora amplamente utilizados, esses fármacos apresentam eficácia limitada e são efetivos no controle dos sintomas da DA somente nos estágios iniciais.⁵⁰

Os ChEIs utilizados na DA são inibidores reversíveis das enzimas. Ou seja, eles não causam a desativação da enzima, somente diminuem sua atividade. Compostos que inibem de forma irreversível as ChEs, como os organofosforados, são agentes neurotóxicos,⁴⁸ pois, como já mostrado, as ChEs exercem um papel fundamental no organismo e sua completa desativação leva a um colapso do sistema nervoso. Os

ChEIs reversíveis interagem no interior da cavidade enzimática, através de interações intermoleculares com os resíduos de aminoácidos da enzima. Dessa forma, impedem que a ACh seja hidrolisada pela enzima, diminuindo a atividade da enzima.

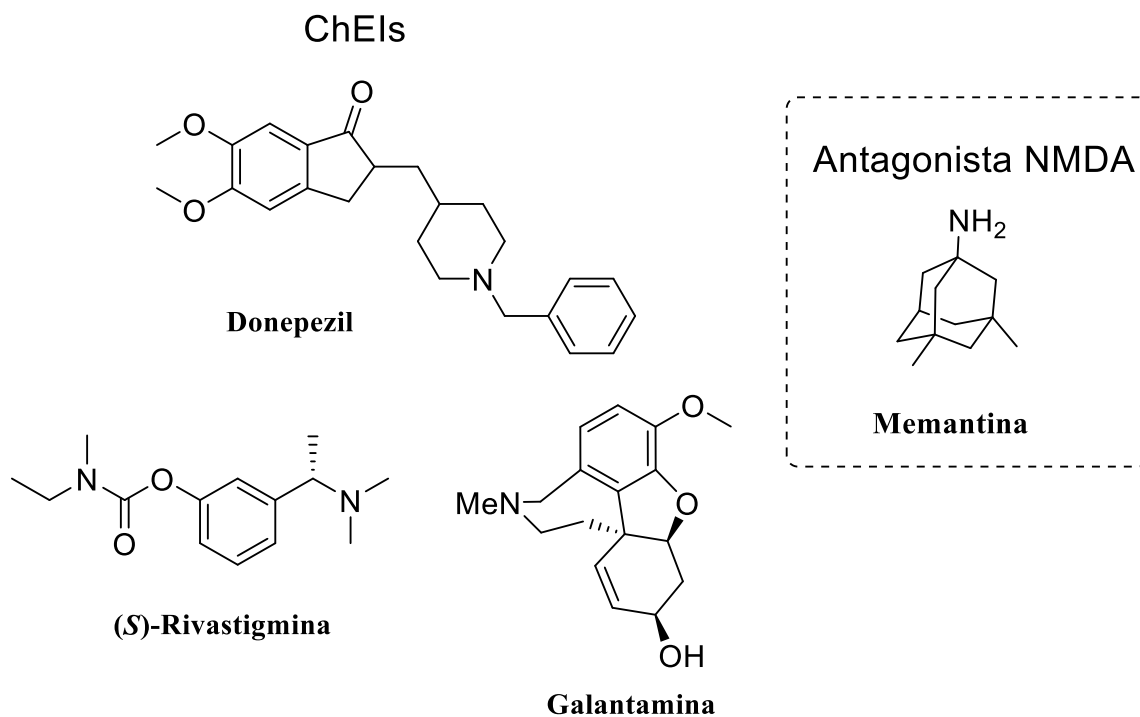
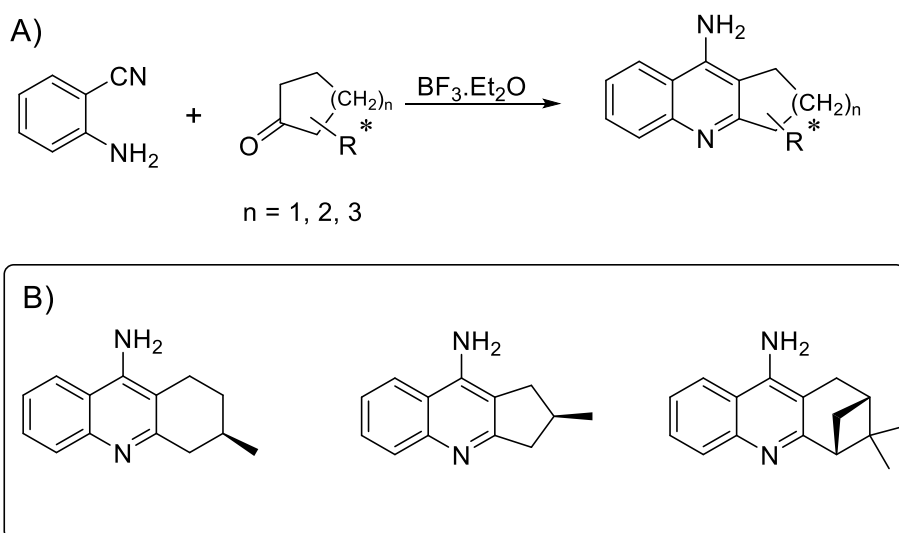


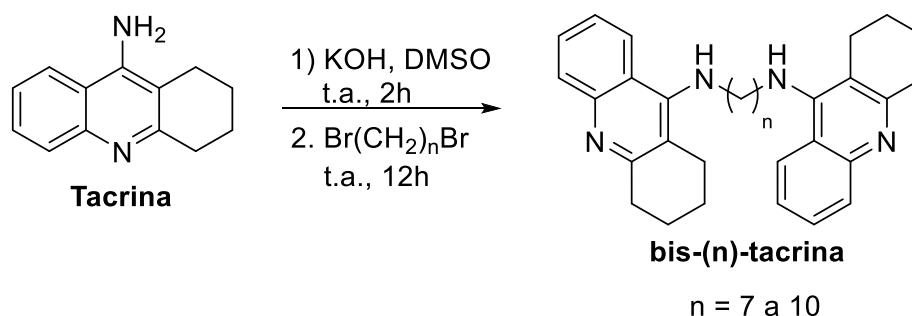
Figura 11: Compostos aprovados pela FDA para o tratamento da DA

Apesar de a tacrina estar em desuso, sua estrutura ainda é amplamente usada na síntese de novos compostos ChEI, com o objetivo de encontrar fármacos mais potentes e mais seguros.⁵¹⁻⁵³ Nosso grupo de pesquisa têm se envolvido na síntese de novos compostos com atividade inibitória das enzimas colinesterase, na busca por melhores protótipos de potenciais fármacos para o tratamento paliativo da doença de Alzheimer. Análogos quirais da tacrina foram sintetizados, a partir da reação de ciclocondensação de cetonas cíclicas quirais e a 2-aminobenzonitrila, e mostraram atividade anticolinesterase (Esquema 3).⁵⁴



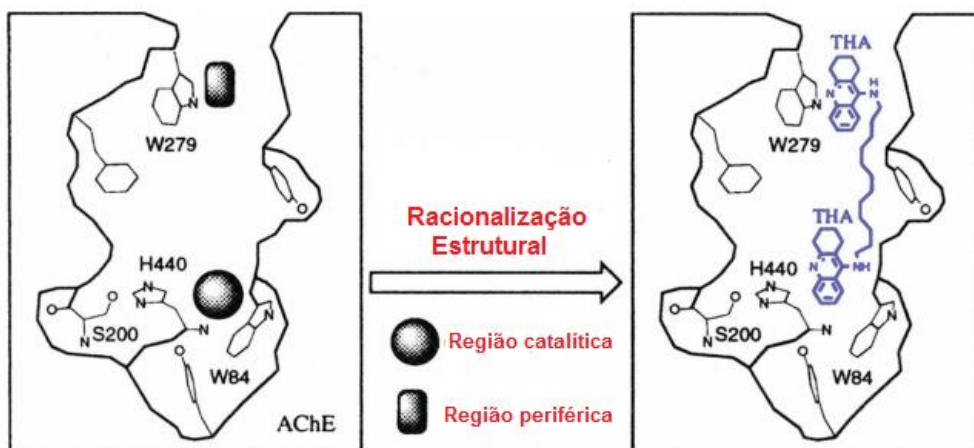
Esquema 3: A) Síntese de análogos quirais da tacrina. B) Exemplos de compostos sintetizados.

Em 1996, Pang e colaboradores sintetizaram compostos do tipo bis(n)-tacrina (Esquema 4), que são moléculas com duas unidades do núcleo tacrina ligadas por uma cadeia espaçadora de carbonos metilênicos.⁵⁵



Esquema 4: Síntese dos bis(n)-tacrina.

Os dímeros da tacrina são potenciais fármacos para o tratamento da DA, pois apresentam maior potencial de inibição e especificidade do alvo em decorrência da interação simultânea com o CAS e o PAS da AChE, Figura 12. Como o PAS da BuChE não contém resíduos aromáticos, os compostos bis(n)-tacrina apresentaram maior seletividade para a AChE em relação a BuChE. O bis(7)-tacrina foi cerca de mil vezes mais ativo para a inibição da AChE do que a tacrina. Estudos computacionais mostraram que a cadeia de sete metilenos confere ao híbrido uma distância de aproximadamente 18 Å entre os dois núcleos da tacrina. Esse valor está bem próximo do determinado para a distância entre o CAS e o PAS, que é de 16 Å.^{55,56}

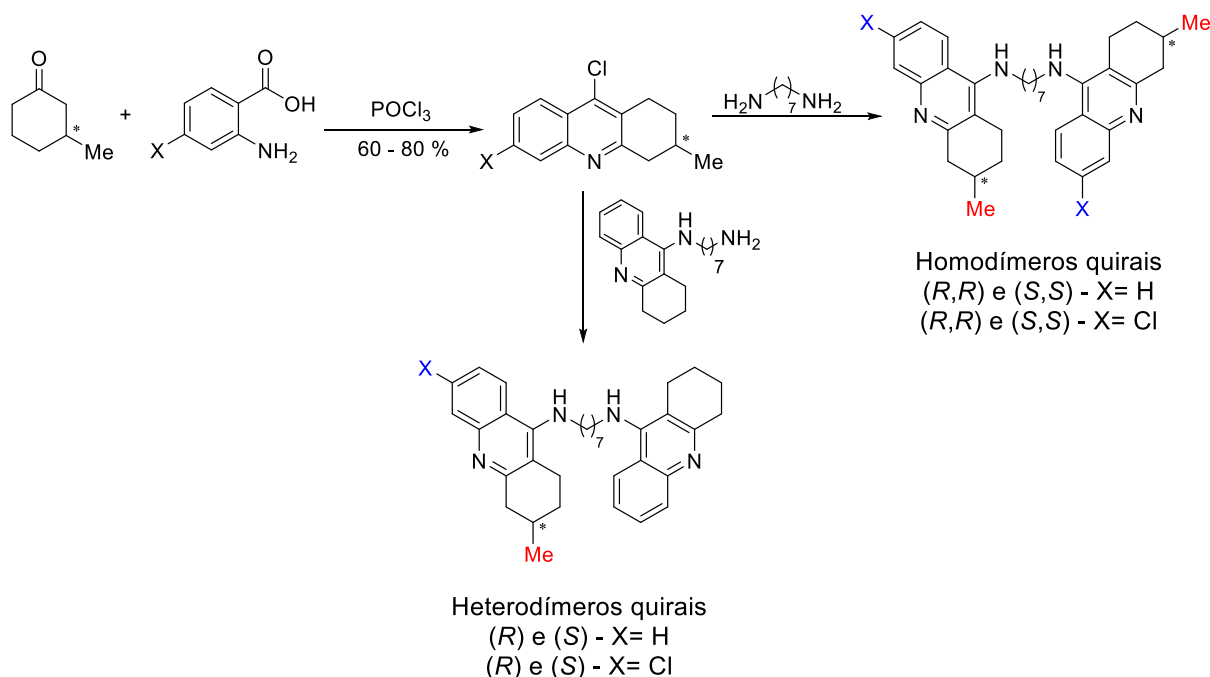


Fonte: Adaptado de Li *et al.*, 2009.⁵⁶

Figura 12: Representação simplificada da dupla interação do dímero bis(7)-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase.

Análogos quirais do bis(7)-tacrina foram sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa em suas duas séries enantioméricas, a partir da (*R*)-(+)- e da (*S*)-(-)-pulegona, e mostraram alta afinidade com as enzimas colinesterases (Esquema 5). A primeira etapa da síntese dos bis(7)-tacrina é a reação de condensação de Friedländer entre a (*R*) ou (*S*)-pulegona e o ácido antranílico.⁵⁷ Essa reação leva a formação da (*R*) ou (*S*)-9-cloro-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroacridina. A reação de substituição nucleofílica aromática (S_NAr) entre a (*R*) ou (*S*)-9-cloro-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroacridina e a heptanodiamina leva a formação dos heterodímeros da tacrina. Os homodímeros são formados pela mesma reação, entretanto, ao invés de usar a heptanodiamina, utiliza-se a 9-(1,7-diaminoeptil)-1,2,3,4-tetrahidroacridina.

Observou-se uma diferença na atividade de inibição das enzimas AChE e BuChE entre os antípodas ópticos, evidenciando diferentes afinidades nas interações AChE-inibidor quiral. Em relação a estereosseletividade da AChE, verificou-se que os compostos da série (*R*), homo e heterodímeros, com $X = Cl$ apresentaram maior atividade que os da série (*S*). No caso dos compostos com $X = H$, a estereosseletividade foi inversa, com os compostos da série (*S*) apresentando maior atividade que os da série (*R*). A diferença de atividade entre os estereoisômeros indica que há um grau de estereosseletividade no sítio ativo da AChE para os bis(7)-tacrina.⁵⁸



Esquema 5: Síntese dos análogos quirais do bis(7)-tacrina.

Devido a importância da BuChE na DA citada anteriormente, o desenvolvimento de inibidores seletivos para essa enzima vem ganhando destaque na literatura.⁵⁹⁻⁶¹ Tendo em vista que o bolso acila da BuChE tem mais espaço disponível, quando comparado ao da AChE, fármacos que ocupam esse espaço tendem a ser seletivos para a BuChE.³⁷ O modo como essa diferença se manifesta na seletividade AChE/BuChE pode ser observada quando comparado o IC_{50} dos dois ChEIs da Figura 13. O IC_{50} é a concentração mínima necessária para inibir 50 % da atividade da enzima. Dessa forma, quanto menor o IC_{50} maior será a atividade da molécula. A fenserina é um inibidor altamente seletivo para a AChE. A explicação para a seletividade reside no anel aromático ligado ao nitrogênio do grupo carbamato. Esse anel se encontra no bolso acila da AChE, interagindo fortemente com a Phe295 e com a Phe297, através de interações do tipo $\pi-\pi$ *stacking*. Como esses dois resíduos são substituídos pela Leu e pela Val na BuChE, tal interação não é possível de ocorrer. Entretanto, o análogo 4'-isopropilfenserina é altamente seletivo para a BuChE. A explicação reside na mesma região da enzima. A ausência das fenilalaninas na BuChE cria um espaço vazio no bolso acila, que permite melhor acomodar o substituinte isopropila. Esse espaço no bolso acila não existe na AChE e por isso, compostos com substituintes na posição 4' do anel tendem a ser seletivos para a BuChE.⁶²

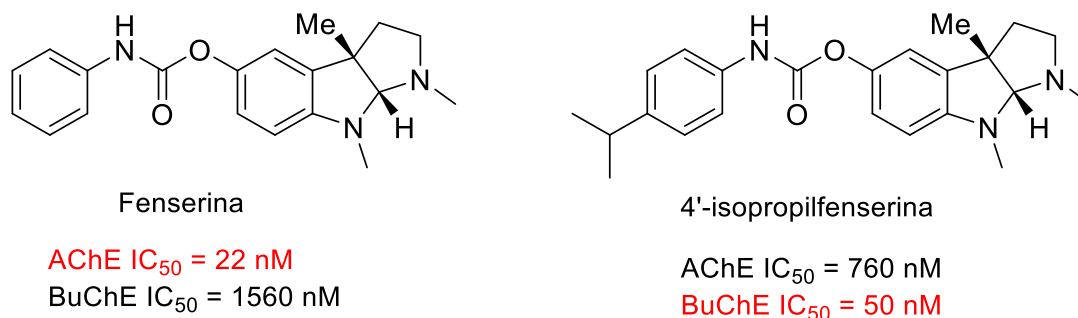


Figura 13: Fenserina e 4'-isopropilfenserina

Estudos identificaram que a tacrina apresenta maior atividade de inibição da BuChE do que da AChE. Portanto, a tacrina também é utilizada como base para a síntese de inibidores seletivos da BuChE.⁶³ Dois exemplos de inibidores seletivos para a BuChE que tem a estrutura da tacrina como base são mostrados na Figura 14.^{64, 65}

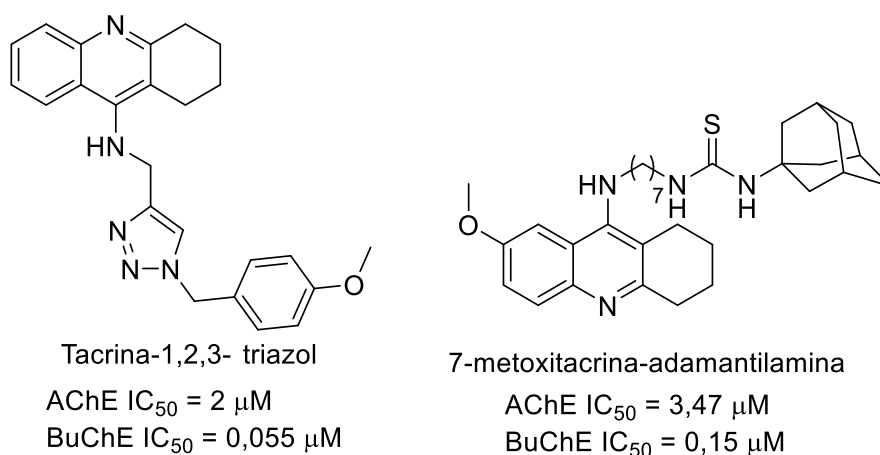


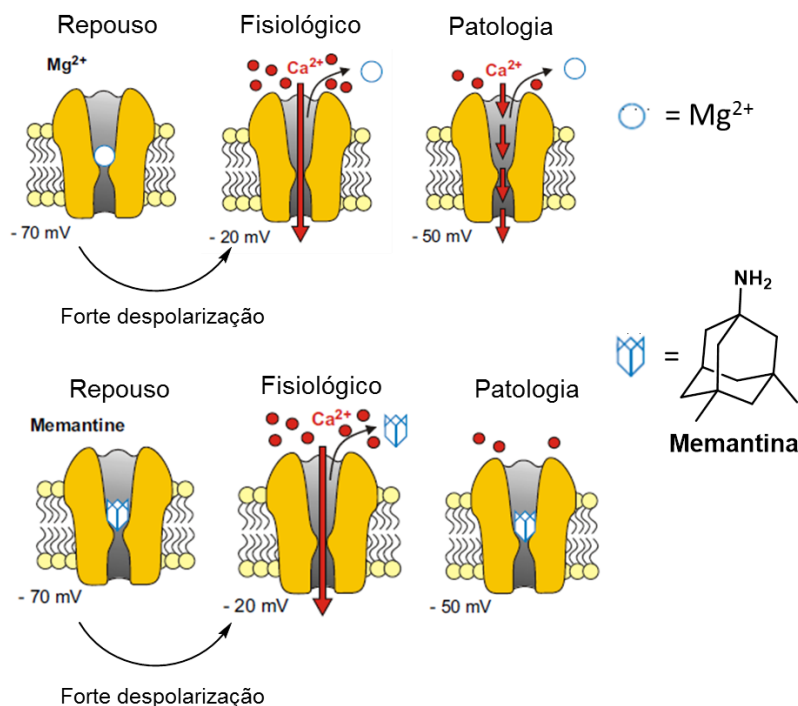
Figura 14: Inibidores seletivos da BuChE contendo a tacrina como base.

2.6 Memantina: Antagonista de receptores NMDA

A memantina foi aprovada em 2002 na união europeia (2003 EUA) para o tratamento da DA. Ela apresenta um mecanismo de ação diferente dos outros três fármacos utilizados no tratamento da DA. Enquanto os ChEIs atuam na sinapse colinérgica, a memantina atua como um antagonista dos receptores de *N*-metil-D-aspartato (NMDA) na sinapse glutamatérgica. A sinapse glutamatérgica é responsável pela neuroplasticidade do cérebro, ou seja, é responsável pela capacidade de aprendizado do cérebro. A sinapse glutamatérgica utiliza o L-glutamato como neurotransmissor e seu mecanismo não será abordado com detalhes neste trabalho. O importante de saber é que, similar ao que ocorre com a acetilcolina na sinapse colinérgica, o L-glutamato é liberado na fenda sináptica e se liga aos receptores de

NMDA. Ao se ligar aos receptores, que são canais iônicos, ocorre a abertura do canal permitindo a passagem de Ca^{2+} para o interior do neurônio pós-sináptico.⁶⁶

O mecanismo de ação da memantina está representado na Figura 15. O receptor de NMDA apresenta em seu interior Mg^{2+} que é responsável por bloquear a entrada de íons no interior da célula. A presença do L-glutamato e uma forte despolarização da membrana fazem com que o Mg^{2+} saia do interior do canal, permitindo a passagem de Ca^{2+} . Esse processo faz parte da condição fisiológica de um indivíduo saudável. No caso de uma patologia, como a DA, é sugerido que ocorra uma disfunção na homeostase do Mg^{2+} , que sai do interior do canal quando ocorre uma despolarização moderada da membrana. Dessa forma, ocorre um influxo livre de Ca^{2+} no interior do neurônio e uma consequente excitotoxicidade. A memantina atua de forma semelhante ao Mg^{2+} . Ela interage no interior do canal iônico, impedindo a entrada do Ca^{2+} em condições de repouso. O fator determinante para a atividade da memantina é que, quando ocorre a forte despolarização da membrana celular, a memantina sai do interior do canal, permitindo a passagem de Ca^{2+} , que é o processo natural. Porém, ao contrário do que ocorre com o Mg^{2+} em condições patológicas, aquela pequena despolarização que é suficiente para retirar o Mg^{2+} do canal, não é suficiente para retirar a memantina. Dessa forma, a memantina impede o influxo livre de Ca^{2+} , diminuindo a neurodegeneração causada por esse cátion.^{67, 68}



Fonte: Adaptado de Parsons *et al.*, 2007⁶⁷

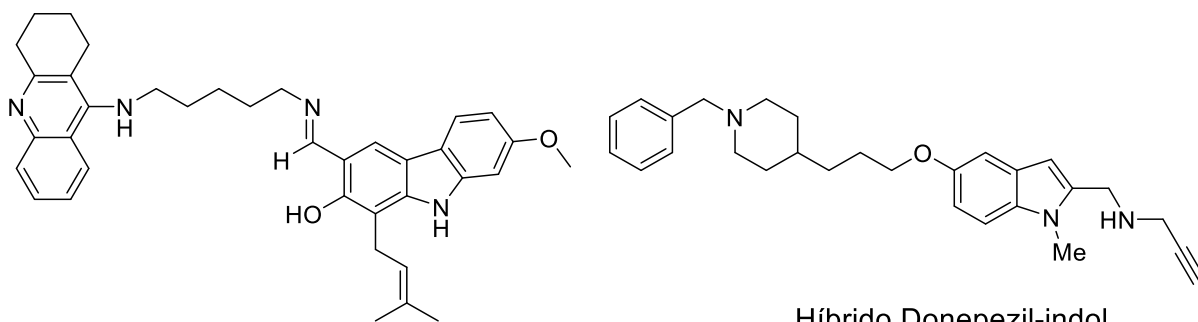
Figura 15: Mecanismo de ação da memantina.

2.7 Híbridos multialvo no tratamento da DA

A estratégia de hibridização molecular consiste na síntese de um composto que contenha dois ou mais núcleos farmacofóricos, com o intuito de que uma única molécula apresente interação com mais de um fator de uma determinada doença.⁶⁹ Essa estratégia é utilizada no caso de doenças multifatoriais, como a DA.⁷⁰ No caso da DA, os híbridos são planejados para atuarem como ChEIs e em algum outro fator da doença, por exemplo, como antioxidantes,⁷¹ inibidores da formação das placas A β ,⁷² Inibidores da monoamino oxidase (MAO),⁷³ neuroprotetores⁷⁴ e quelantes de metais.⁷⁵

Na Figura 16 são mostrados exemplos de compostos híbridos. A série de híbridos tacrina-carbazol apresentou atividade de inibição da AChE na faixa de concentração micromolar, com seletividade para a AChE. Além disso, o híbrido mais ativo da série apresentou atividade antioxidante, atuando dessa forma como um composto neuroprotetor contra o estresse oxidativo induzido pela H₂O₂.⁷⁶ Os híbridos donepezil-indol inibiram as enzimas AChE e BuChE e apresentaram atividade como inibidor da monoamino oxidase (MAO) A e B. A MAO é uma enzima que catalisa a degradação de monoaminas, gerando aldeídos, amônia e peróxido de hidrogênio. A inibição da MAO reduz a quantidade de espécies reativas de oxigênio, diminuindo os danos neuronais.⁷⁷ Híbridos tacrina-lofina, trabalho publicado pelo nosso grupo em 2013, também mostraram ser potentes inibidores das enzimas AChE e BuChE, sendo a maioria seletivos para a BuChE.⁷⁸ Embora os híbridos tacrina-lofina tenham apresentado uma excelente atividade anti-ChE, falta a realização de outras análises biológicas, para que esse híbrido possa ser considerado um composto multialvo e um possível candidato para o tratamento multifatorial da DA.

Recentemente nosso grupo de pesquisa sintetizou uma série de híbridos contendo o núcleo tacrina conectado a tianeptina (Figura 17). A tianeptina (Stablon®) é um fármaco disponível comercialmente e utilizada no tratamento da depressão. Os híbridos tacrina-tianeptina apresentaram IC₅₀ na concentração de nanomolar para inibição das ChEs. Vale ressaltar, a tianeptina não apresentou atividade como inibidor das ChEs. Verificou-se também que os compostos obtidos não afetaram a integridade celular e, além disso, foram capazes de reduzir a secreção basal da proteína S100B, cujo alto nível de secreção está associado a neuropatologias. Dessa série de híbridos destacam-se o composto com n = 3 e X = Cl, que foi seletivo para a AChE, e o composto com n = 4 e X = H, que foi seletivo para a BuChE. Esses dois compostos mostram a versatilidade dessa série de híbridos, pois em uma mesma série de compostos foi possível obter moléculas seletivas para as duas enzimas colinesterases.⁷⁹

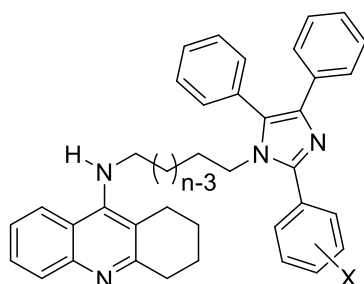


Híbrido Tacrina-carbazol

AChE IC₅₀ = 0,48 μM
BuChE IC₅₀ = 52,14 μM

Híbrido Donepezil-indol

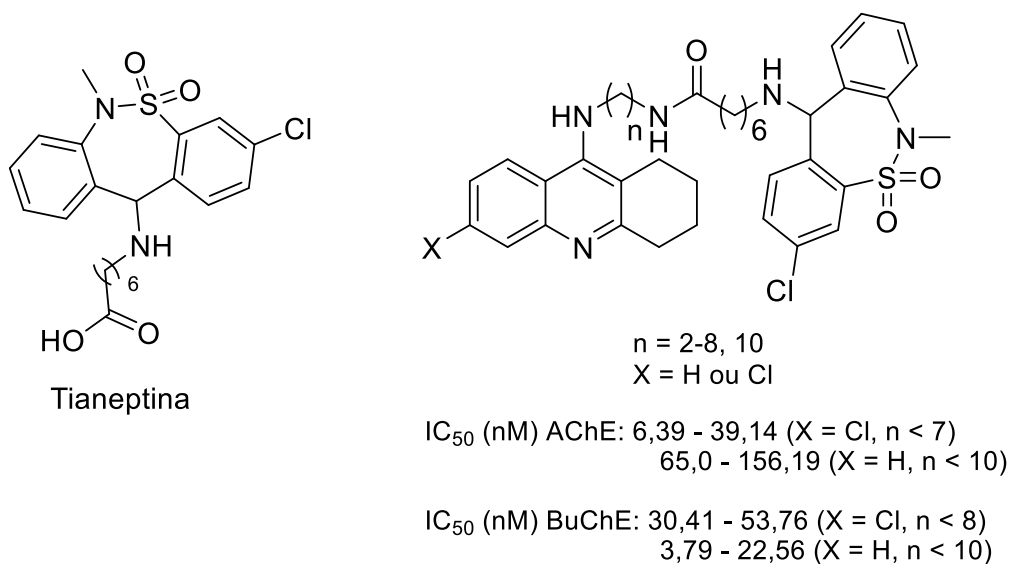
AChE IC₅₀ = 0,19 μM
BuChE IC₅₀ = 0,83 μM
MAO A IC₅₀ = 0,0055 μM
MAO B IC₅₀ = 0,15 μM



Híbridos tacrina-lofina

n = 6 a 10
X = H, F, Cl, OMe, CN, NO₂
IC₅₀, AChE (5,87-125,90 nM); bis(7)-THA (4,12 nM)
n = 8, X = 4-Cl (5,87 nM)
IC₅₀, BuChE (7,10-108,97 nM); bis(7)-THA (9,03 nM)
n = 7, X = 4-CN (7,10 nM)

Figura 16: Exemplos de compostos híbridos.



Tianeptina

n = 2-8, 10
X = H ou Cl

IC₅₀ (nM) AChE: 6,39 - 39,14 (X = Cl, n < 7)
65,0 - 156,19 (X = H, n < 10)

IC₅₀ (nM) BuChE: 30,41 - 53,76 (X = Cl, n < 8)
3,79 - 22,56 (X = H, n < 10)

Figura 17: Tianeptina (Stablon®) e híbridos tacrina-tianeptina.

2.8 Núcleo imidazol e Lofina

O imidazol é um núcleo heteroaromático de cinco membros contendo átomos de nitrogênio nas posições 1 e 3 (Figura 18). Esse núcleo é muito versátil devido a sua característica doadora e aceptora de ligações de hidrogênio. Além disso, o imidazol

apresenta uma alta afinidade por metais.⁸⁰ O imidazol é encontrado em diversos produtos naturais e em compostos com atividade biológica, tais como, anticâncer, antivirais, antibiótica anti-inflamatórias, entre outras.⁸¹ O núcleo imidazólico mostrou-se efetivo no bloqueio dos canais β -amiloide, que são formados em membranas celulares induzidos pelo acúmulo de peptídeos A β , e que permitem a entrada de cálcio extracelular. Tal processo induz a um aumento na concentração intracelular de íons cálcio, causando distúrbios na homeostase deste metal. O bloqueio destes canais previne a apoptose celular induzida por A β .⁸²

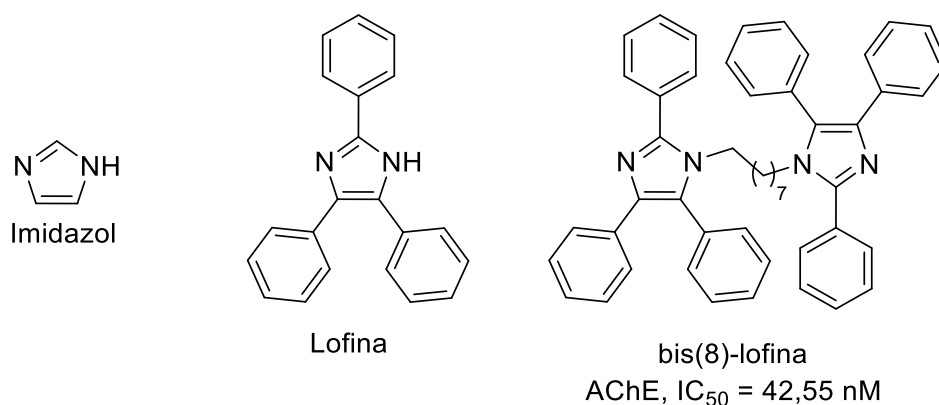
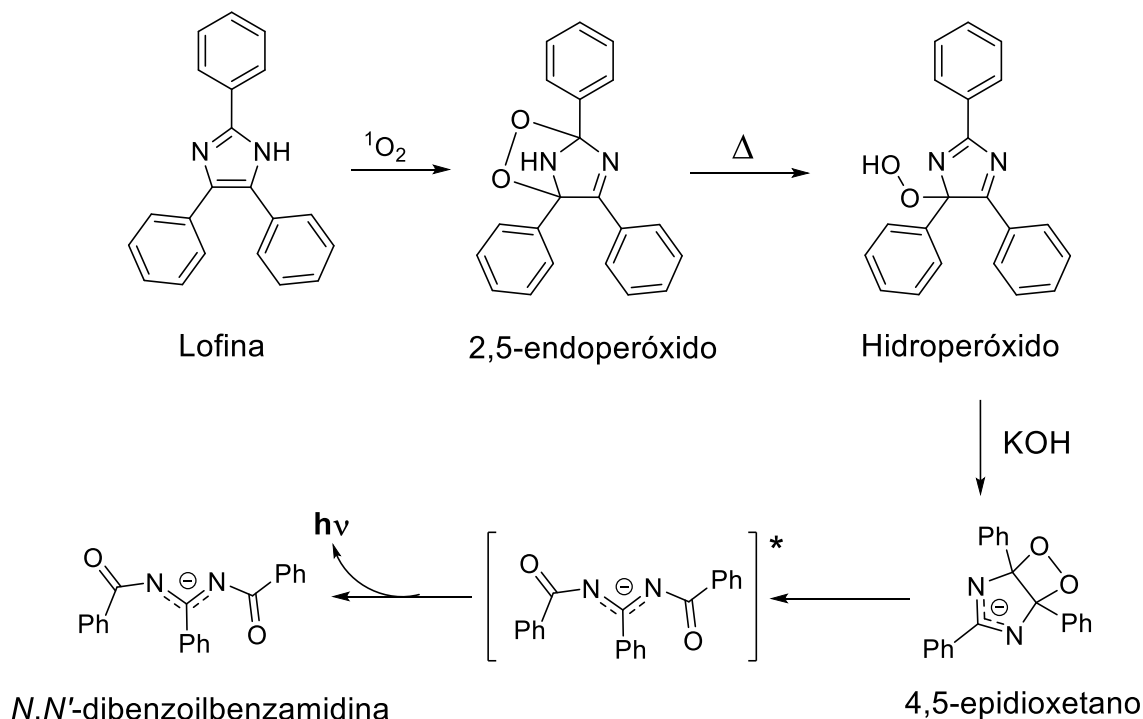


Figura 18: Compostos imidazólicos.

Um derivado interessante do núcleo imidazol é a lofina (2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol, Figura 18). A lofina apresenta três substituintes fenilas nas posições 2, 4 e 5 do anel, conferindo a molécula maior possibilidade de realizar interações do tipo π - π *stacking*, T-*stacking* e dipolo-dipolo. A lofina apresenta uma propriedade fotofísica muito interessante, a quimioluminescência (emissão de luz decorrente de uma reação química). Em 1877, Radziszewski observou que a oxidação da lofina pelo oxigênio na presença de uma base forte, leva a emissão de luz na região do amarelo (Esquema 6).⁸³ Inicialmente, a lofina reage com o oxigênio singlete através de uma cicloadição [4+2] levando a formação do 2,5 endoperóxido. O cicloaduto é convertido no hidroperóxido sob aquecimento. O hidroperóxido na presença de uma base forte, como KOH, leva a formação do intermediário 4,5-epidioxetano. Por fim, a abertura do dioxetano leva a formação da *N,N*-dibenzoilbenzamidina, que é o produto responsável pela liberação de luz. A energia liberada na forma de calor na abertura do dioxetano é suficiente para levar a benzamidina para o estado excitado. Ao retornar ao estado fundamental, a benzamidina libera um fóton, conferindo a reação sua propriedade quimioluminescente.^{84, 85}

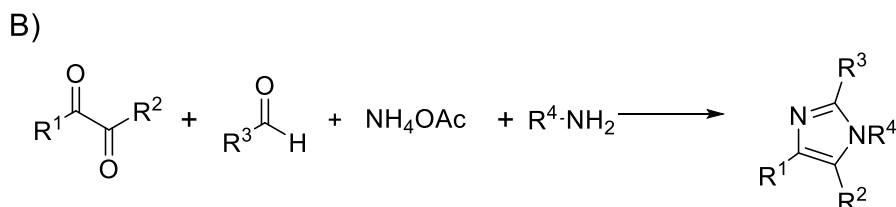
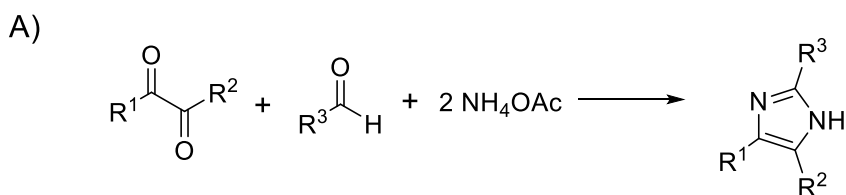
Além de quimioluminescente, a lofina é fluorescente. Derivados da lofina podem ser utilizados como marcadores fluorescentes para aminas, fenóis e ácidos carboxílicos, além do mais, alguns desses compostos formam complexos com íons metálicos e têm sido empregados na análise de traços de metais.^{86, 87}



Esquema 6: Reação de quimioluminescência da lofina.

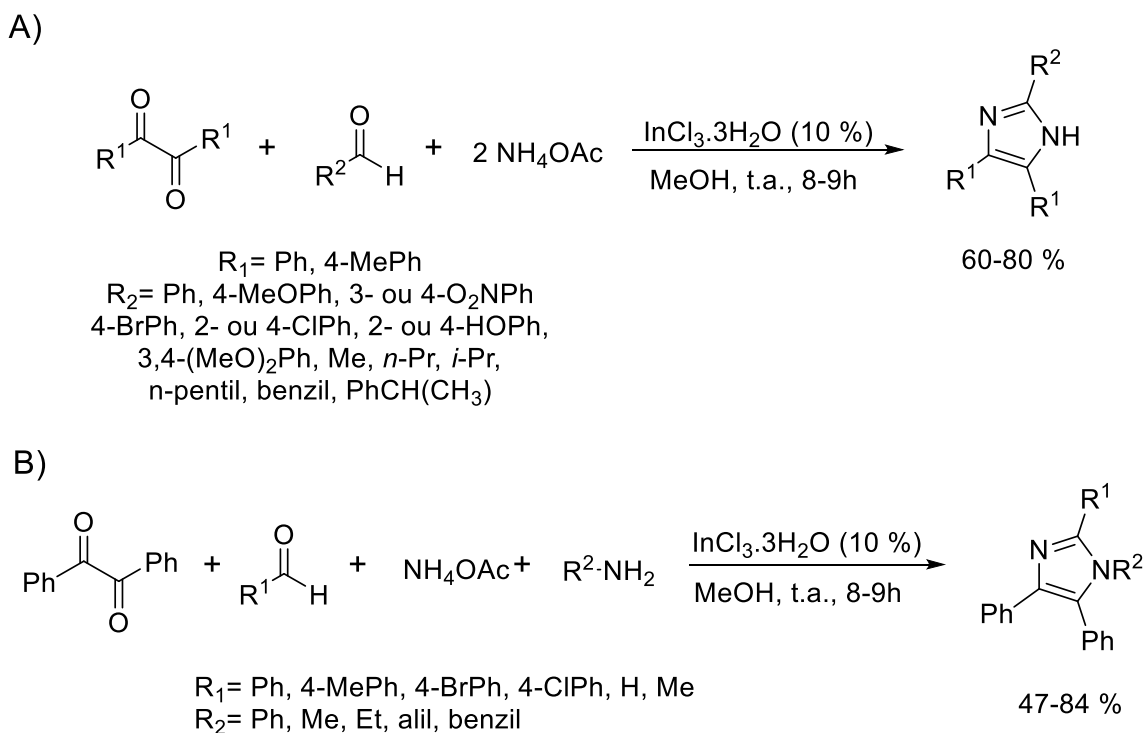
Além dos híbridos tacrina-lofina, discutidos anteriormente, nosso grupo de pesquisa sintetizou dímeros da lofina (Figura 18). Nesse mesmo trabalho, verificou-se que o bis(8)-lofina inibiu a acetilcolinesterase na escala de concentração nanomolar.⁷⁸ Este trabalho foi muito importante para o nosso grupo de pesquisa, pois revelou a lofina como uma nova plataforma para o desenvolvimento de novos fármacos inibidores de colinesterases, através da estratégia de hibridização molecular.

Tendo em vista a importância dos compostos imidazólicos, diversas rotas sintéticas foram desenvolvidas para a síntese desses compostos.⁸⁸ Um método prático e eficiente para síntese de imidazóis substituídos é a reação multicomponente de Radziszewski.⁸⁹ Ela consiste na reação de condensação entre 1,2-dicetonas, aldeídos e acetato de amônio (2 equivalentes). A reação de Radziszewski original leva a formação de imidazóis 2,4,5-trissubstituídos. Os imidazóis 1,2,4,5-tetrasubstituídos podem ser sintetizados pelo mesmo método, porém, ao invés de usar 2 equivalente de acetado de amônio, utiliza-se uma amina primária (Esquema 7).



Esquema 7: Reação multicomponente de Radziszewski. A) síntese de imidazóis 2,4,5 trisubstituídos. B) síntese de imidazóis 1,2,4,5 tetrasubstituídos.

Ao longo dos anos, diversos trabalhos na literatura exploraram a reação de Radziszewski, envolvendo diversos materiais de partida, catalisadores e solventes.^{90, 91} Em 2008, Das Sharma e colaboradores desenvolveram um método para síntese de imidazóis 2,4,5-tri e 1,2,4,5-tetrasubstituídos baseado na reação de Radziszewski que utiliza $\text{InCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ como catalisador. Em comparação com os demais métodos, o método de Das Sharma e colaboradores é simples, com condições brandas, podendo ser realizada em temperatura ambiente, e com bons rendimentos (Esquema 8).⁹²

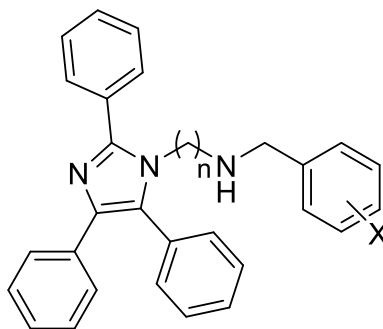


Esquema 8: Derivados imidazólicos sintetizados por Das Sharma *et.al.*

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo a síntese, caracterização, avaliação biológica e modelagem molecular de híbridos lofina-benzilamina.



X= Cl, OH, F, Me, H

n= 4-8

3.2 Objetivos Específicos

- Síntese dos intermediários *N*-alquilaminolofina, empregando a estratégia de proteção/desproteção seletiva da alcanodiamina e a reação de condensação tetracomponente;
- Síntese dos intermediários *N*-alquilaminolofina utilizando aquecimento em micro-ondas;
- Realização dos ensaios de inibição das enzimas AChE e BuChE em colaboração com o Dr. Mario Senger da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)
- Estudos de modelagem molecular dos compostos bioativos em colaboração com o Dr. Laurent E. Dardenne do Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A retrossíntese do híbrido lofina-benzilamina é apresentada na Figura 19. A ligação C-N, que leva a formação do núcleo benzilamina, pode ser formada através de uma reação de aminação redutiva entre aldeídos aromáticos e a *N*-alquilaminolofina. O intermediário *N*-alquilaminolofina pode ser sintetizado pela reação de condensação tetracomponente utilizando benzila, benzaldeído, acetato de amônio e alcanodiaminas com um grupo amino protegido.

Em trabalhos anteriores,⁹³ nosso grupo de pesquisa tentou a síntese das *N*-alquilaminolofinas utilizando alcanodiaminas, sem proteger um dos grupos amino da molécula. Utilizando condições de aquecimento convencional nessa síntese foi obtida uma mistura complexa e não foi possível isolar o produto desejado. Portanto, a proteção de um dos grupos amino foi adotada como estratégia para a síntese da *N*-alquilaminolofina.

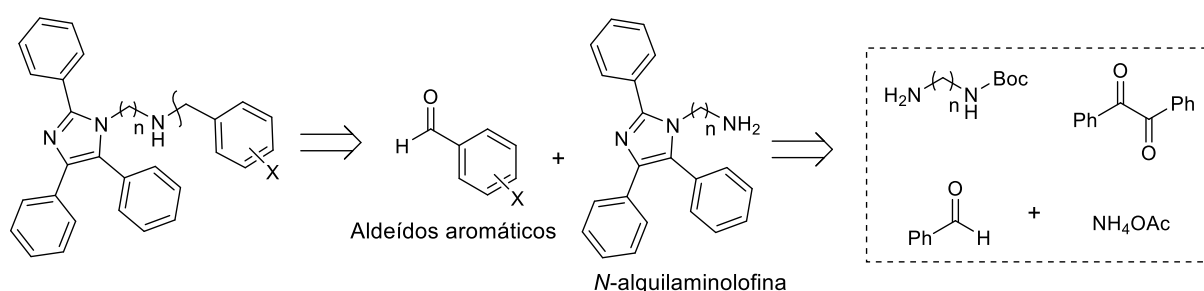
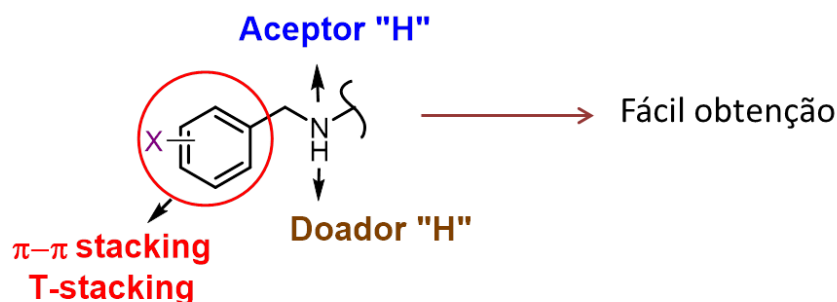


Figura 19: **Retrossíntese do híbrido lofina-benzilamina.**

O núcleo benzilamina foi escolhido, pois apresenta os tipos de interações desejadas: interações do tipo π - π *stacking* e o átomo de nitrogênio permite à molécula atuar como acceptor ou doador de ligações de hidrogênio. Além disso, a diversidade de substituintes possíveis no anel aromático permite explorar diversos tipos de interação enzima substrato. A hidroxila na posição 2 do anel da benzilamina é um substituinte interessante. Esse substituinte possibilita que a benzilamina atue como quelante de metais, como o Cu^{2+} e Zn^{2+} , conferindo ao híbrido sua atuação multifatorial. Do ponto de vista sintético, o núcleo benzilamina é simples e de fácil obtenção, tendo em vista que é obtido de aldeídos aromáticos comerciais (Figura 20).



Quelante de metais

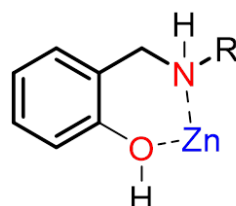
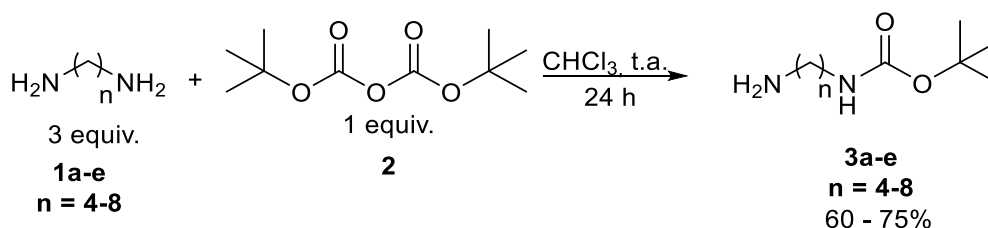


Figura 20: Características estruturais do núcleo benzilamina.

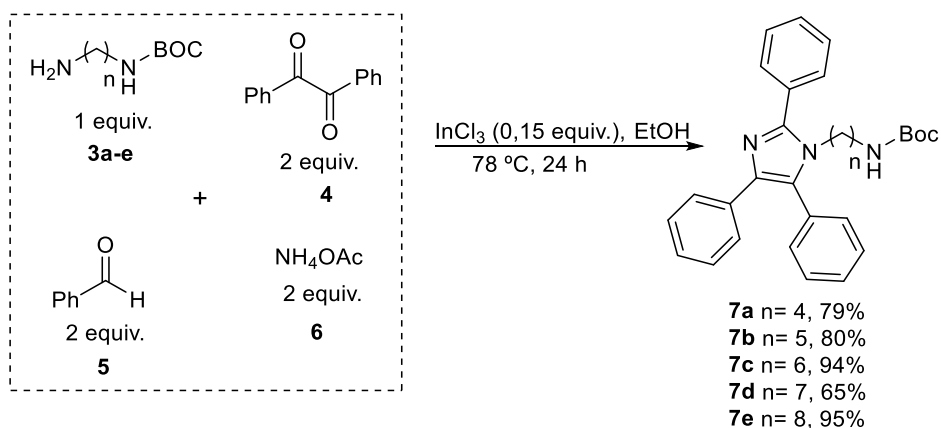
4.1 Síntese das *N*-alquilaminolofinas

Devido à dificuldade de obtenção dos intermediários *N*-alquilaminolofina citada anteriormente, foi necessário proteger seletivamente um dos grupos amino das 1,*n*-alcanodiaminas. A proteção seletiva das 1,*n*-alcanodiaminas **1a-e** na forma de um carbamato foi realizada utilizando excesso de diamina e adicionando lentamente o dicarbonato de di-*tert*-butila (**2**, Boc₂O) à 0 °C.⁹⁴ As 1,*n*-alcanodiaminas protegidas **3a-e** foram obtidas com rendimentos de 60 a 75 % após purificação por cromatografia em coluna (Esquema 9).



Esquema 9: Reação de Proteção das 1,*n*-alcanodiaminas.

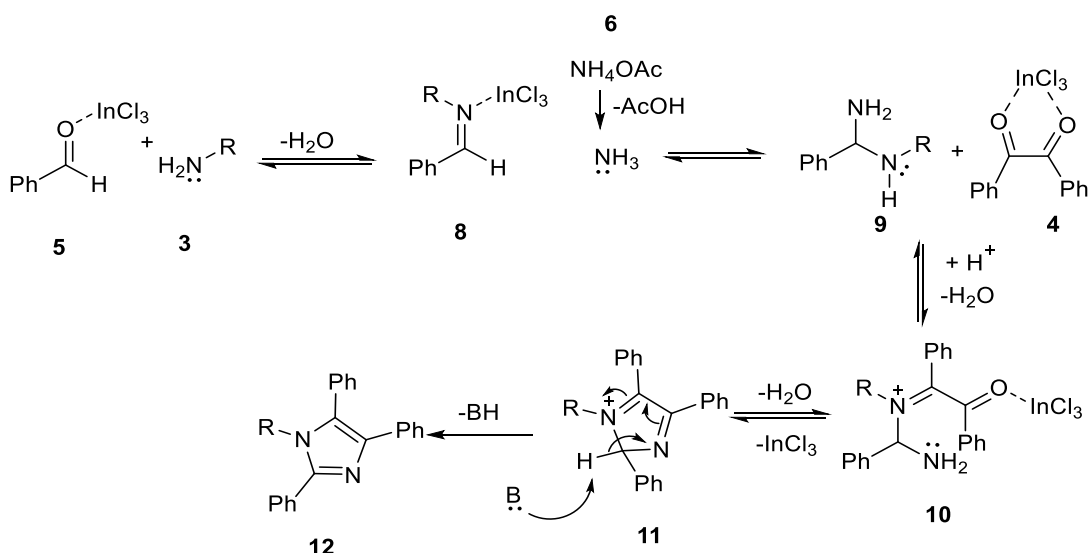
Após a proteção das 1,*n*-alcanodiaminas, realizou-se a reação de condensação tetracomponente (Esquema 10) entre a 1,*n*-alcanodiamina protegida **3a-e**, a benzila **4**, o benzaldeído **5** e o acetato de amônio **6**, utilizando tricloreto de índio (InCl₃) como catalisador.⁷⁸ Obteve-se como produto as *N*-alquilaminolofinas protegidas **7a-e** com rendimentos entre 65 e 95% após purificação por cromatografia em coluna.



Esquema 10: Reação de condensação tetracomponente.

Trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa exploraram diferentes ácidos de Lewis como catalisadores para essa condensação. Foram testados como ácidos de Lewis o InCl_3 , FeCl_3 , $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, AlCl_3 e $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. O melhor rendimento foi obtido quando utilizado o InCl_3 .⁷⁸ O melhor resultado obtido com o InCl_3 pode ser explicado pelo fato do InCl_3 ser um ácido de Lewis muito lábil. Essa labilidade do InCl_3 é fundamental para o mecanismo da reação, Esquema 11, pois o ácido de Lewis se coordena com o oxigênio carbonílico de diferentes moléculas em mais de uma etapa. Portanto, ácidos de Lewis que se coordenem fortemente com o oxigênio, por exemplo, o AlCl_3 , não conseguem exercer essa função de ativação em mais de uma etapa da reação.

Baseado no trabalho de Das Sharma e colaboradores,⁹² a seguir é apresentada uma proposta mecanística para a formação de imidazóis tetrassubstituídos na presença de $\text{InCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Esquema 11). O benzaldeído **5** ativado pelo tricloreto de índio sofre um ataque nucleofílico da amina primária **3** levando a formação da imina **8**, com eliminação de água. Em seguida, a imina sofre um ataque nucleofílico da amônia, gerada *in situ* a partir do acetato de amônio **6**, fornecendo a diamina **9**. O grupo amino secundário de **9** promove um ataque nucleofílico a uma das carbonilas da benzila **4**, que está ativada pelo ácido de Lewis, fornecendo o imínio **10**, com eliminação de água. Após, o ataque nucleofílico intramolecular do grupo amino à carbonila ativada resulta no intermediário cíclico **11**. A abstração de um próton de **11** leva a aromatização do anel e fornece o imidazol tetrassubstituído **12**.



Esquema 11: Proposta de mecanismo da reação de condensação tetracomponente.

O espectro de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H do composto **7a** é apresentado na Figura 21. No espectro, é possível notar na região entre 7,60 – 7,00 os sinais correspondentes aos hidrogênios aromáticos do núcleo lofina. Dentre esses sinais, destaca-se o multipletto entre 7,70 – 7,50, correspondente aos dois hidrogênios H7. O tripleto em 3,90 ppm, com $J = 7,5$ Hz, corresponde aos dois hidrogênios H6. O multipletto entre 2,83 – 2,70 ppm corresponde aos dois hidrogênios H3. Por fim, o singletto em 1,39 ppm, com integral para nove hidrogênios, corresponde aos H1, hidrogênios pertencentes as metilas do grupo protetor Boc. As atribuições dos hidrogênios H6 e H7 foram realizadas de acordo com a literatura.^{78, 93}

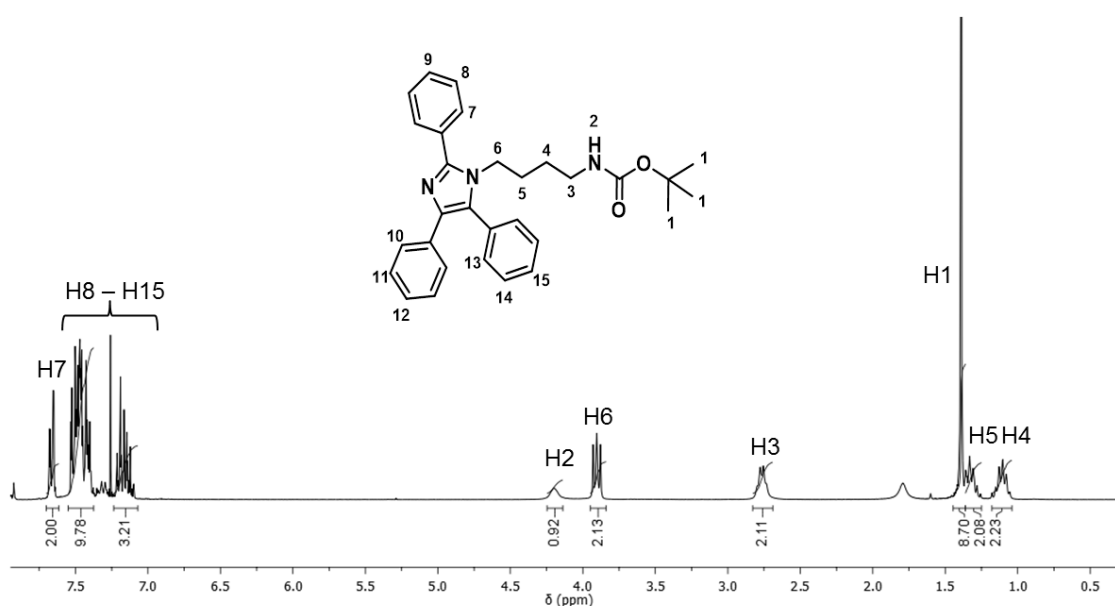
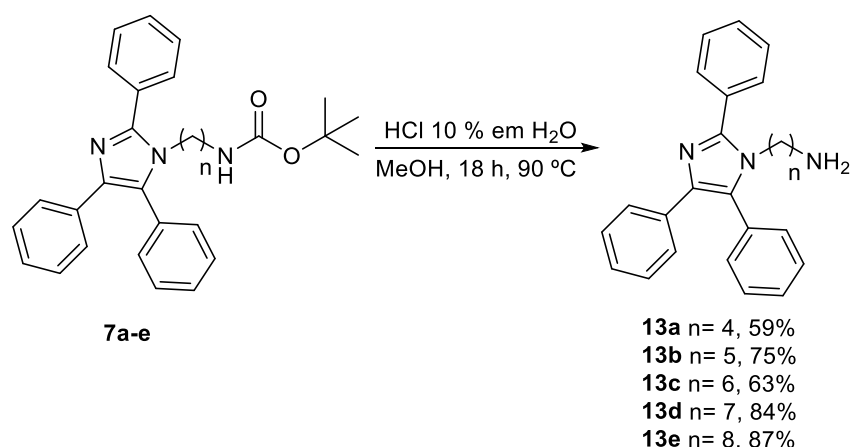


Figura 21: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **7a**.

Por fim, a reação de hidrólise em meio ácido do grupo carbamato leva a formação do intermediário *N*-alquilaminolofina **13a-e** de interesse (Esquema 12). Os rendimentos variaram de 59 a 87% após purificação por cromatografia em coluna, utilizando como mistura eluente clorofórmio, metanol e hidróxido de amônio na proporção 90:9,5:0,5. A utilização do hidróxido de amônio na purificação desses compostos é muito importante. Tendo em vista o caráter ácido dos hidrogênios das hidroxilas da sílica, ocorre uma forte interação desses hidrogênios com os nitrogênios básicos da *N*-alquilaminolofina. Essa interação ocasiona um maior espalhamento do produto pela fase estacionária, dificultado sua purificação. Dessa forma, a utilização de uma base na composição da fase móvel evita essa interação ácido/base entre a sílica e a *N*-alquilaminolofina.



Esquema 12: Reação de desproteção do grupo amino.

O espectro de RMN de ^1H do composto **13a** é apresentado na Figura 22. No espectro são observados os sinais do núcleo lofina entre 7,70 – 7,05 ppm, com destaque para o multiplete entre 7,70 – 7,65 ppm, correspondente aos dois hidrogênios H6. O desaparecimento do singlete referente aos hidrogênios da *tert*-butila do grupo Boc confirma a desproteção do grupo amino. O tripleto em 3,91 ppm, com $J = 7,2$ Hz, corresponde aos dois hidrogênios H5. O tripleto entre 2,34 ppm, com $J = 7,2$ Hz corresponde aos dois hidrogênios H2. O singlete largo em 1,22 ppm, corresponde aos dois hidrogênios H1. Por fim, os dois multiplete entre 1,42 – 1,28 e 1,14 – 0,99 ppm, correspondem aos dois H4 e aos dois H3, respectivamente.

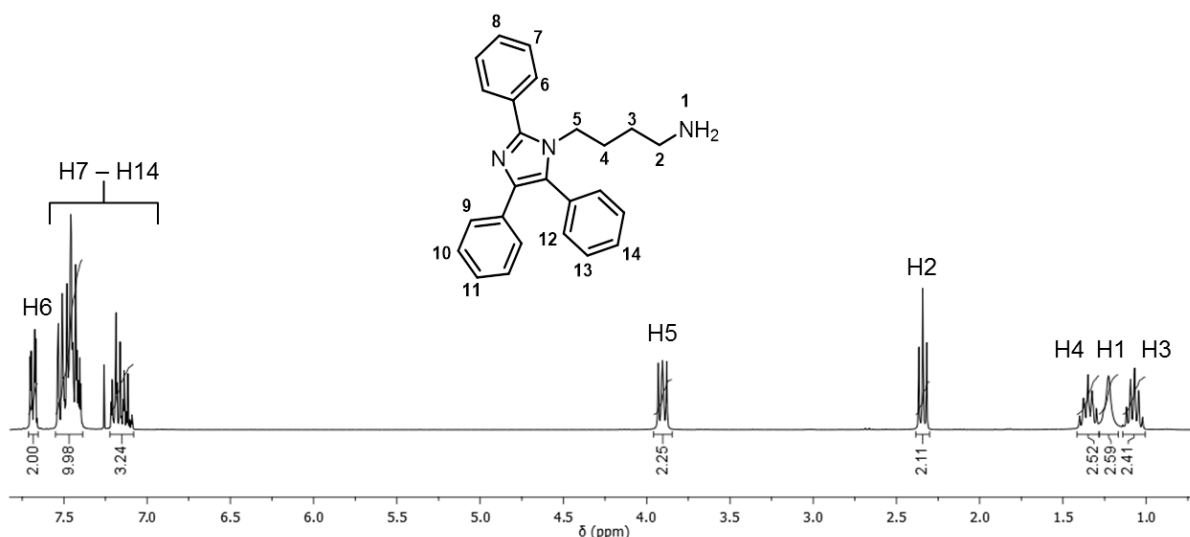
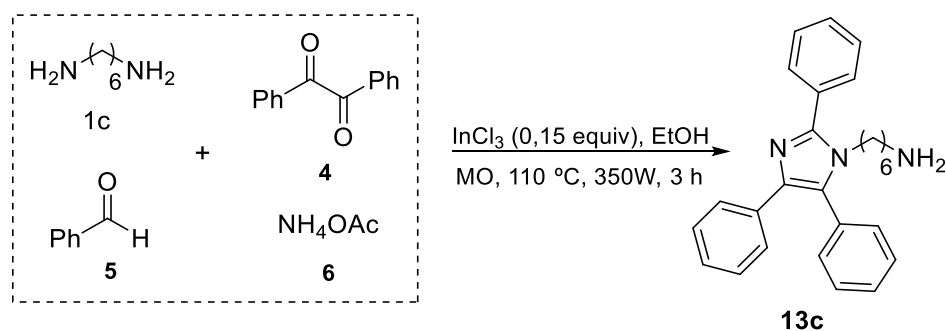


Figura 22: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) do composto **13a**.

4.2 Síntese das *N*-alquilaminolofinas utilizando micro-ondas

Como citado anteriormente, não foi possível sintetizar o intermediário *N*-alquilaminolofina sem as etapas de proteção/desproteção utilizando aquecimento convencional. Visando a obtenção desses compostos em uma única etapa, verificou-se a utilização de aquecimento por micro-ondas na síntese da *N*-hexanaminolofina (**13c**, Esquema 13).



Esquema 13: Síntese do intermediário *N*-alquilaminolofina utilizando micro-ondas.

Com o intuito de otimizar a reação, realizou-se o estudo das condições reacionais, variando a estequiometria do NH_4OAc e da hexanodiamina, a temperatura e o tempo reacional (Tabela 1). As reações foram realizadas com 1 mmol de benzaldeído e benzil e 0,15 mmol de InCl_3 . Rendimentos obtidos após purificação por cromatografia em coluna.

Tabela 1: Reação de condensação tetracomponente utilizando micro-ondas para obtenção do composto **13c** em diferentes condições reacionais

Entrada	NH ₄ OAc (mmol)	Hexanodiamina (mmol)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Rendimento (%)
1	1	1	78	1	13
2	1	2	78	1	8
3	2	1	78	1	0
4	1	1	110	3	40
5	1	2	110	3	10

Inicialmente, variou-se a estequiometria da hexanodiamina e do NH₄OAc, mantendo a temperatura em 78 °C e o tempo em 1 h (entradas 1 – 3). A entrada 1, que utiliza 1 mmol de cada reagente, apresentou um rendimento de 13 %. A entrada 2 resultou em uma mistura complexa, de difícil separação, e o produto puro foi obtido com 8 % de rendimento. A partir do espectro de RMN de ¹H do bruto da reação da entrada 3, verificou-se que não houve a formação da *N*-hexanaminolofina.

Tendo em vista que as entradas 1 e 2 levaram a obtenção do produto desejado, aumentou-se a temperatura (110 °C) e o tempo reacional (3 h, entradas 4 e 5). Quando utilizado 1 mmol dos reagentes, o aumento da temperatura e do tempo levou a um aumento significativo do rendimento para 40 % (entrada 4). Novamente, quando utilizados 2 mmol de hexanodiamina (entrada 5), foi obtido uma mistura complexa e o rendimento após a purificação por cromatografia em coluna foi baixo, somente 10 %.

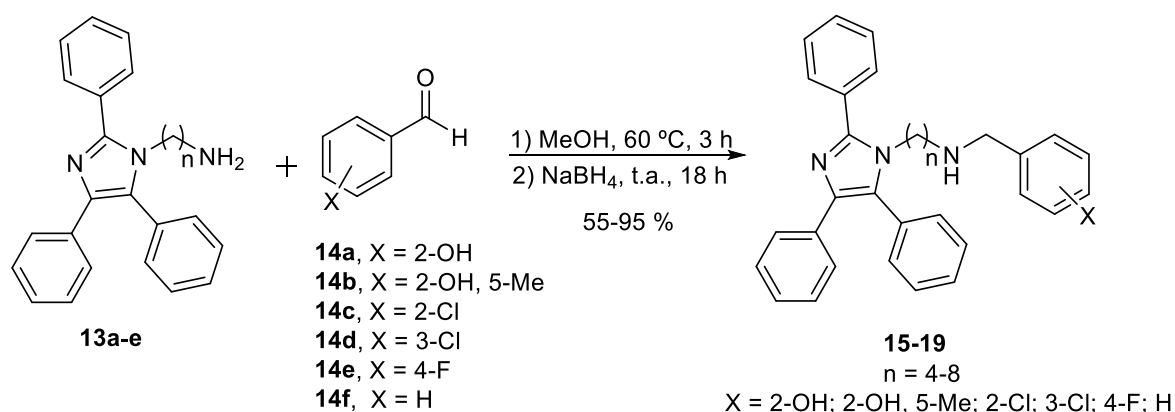
A síntese da *N*-hexanaminolofina (**13c**) em três etapas (proteção, condensação tetracomponente e desproteção) apresenta um rendimento global de 38 %, contra 40 % obtidos na síntese em uma etapa utilizando micro-ondas (entrada 4). Portanto, a utilização de aquecimento por micro-ondas é uma melhor alternativa para a síntese desses compostos, uma vez que, se obtém o produto de forma mais rápida e com o mesmo rendimento.

4.3 Síntese dos híbridos lofina-benzilamina

Os híbridos lofina-benzilamina (**15-19**) foram sintetizados através da reação de aminação redutiva entre a *N*-alquilaminolofina (**13a-e**) e aldeídos aromáticos (**14a-f**, Esquema 14). Inicialmente, trabalhou-se com os híbridos obtidos a partir do salicilaldeído (**14a**), variando a cadeia de 4 a 8 metilenos. Em seguida, selecionaram-se as *N*-alquilaminolofina com cadeias espaçadoras de 4 a 6 metilenos, para realizar variações na porção benzilamina da molécula. A função da cadeia espaçadora é fazer

com que o híbrido possa interagir simultaneamente com o CAS e o PAS da enzima. Como citado anteriormente, a distância entre os dois sítios é de aproximadamente 16Å.⁵⁵ Dessa forma, nos híbridos lofina-benzilamina, os espaçadores de 4 a 6 metilenos são os que separam os núcleos lofina e benzilamina com a distância mais próxima da determinada por Pang e colaboradores, permitindo uma melhor interação simultânea do híbrido com os dois sítios da enzima.

A síntese dos híbridos lofina-benzilamina foi realizada em duas etapas. A primeira etapa consiste na reação entre o aldeído e a *N*-alquilaminolofina, que leva a formação da imina. A reação foi conduzida em MeOH por 3 h a 60 °C. Em seguida, adiciona-se o borohidreto de sódio (NaBH₄) para reduzir a imina à amina.^{95,96} A reação de redução foi conduzida a temperatura ambiente por 18 h. Os rendimentos variaram de 55 a 95 %, após purificação por cromatografia em coluna (Tabela 2). Avaliando os resultados obtidos, não foi observada nenhuma influência significativa dos substituintes do anel aromático do aldeído no rendimento da reação.

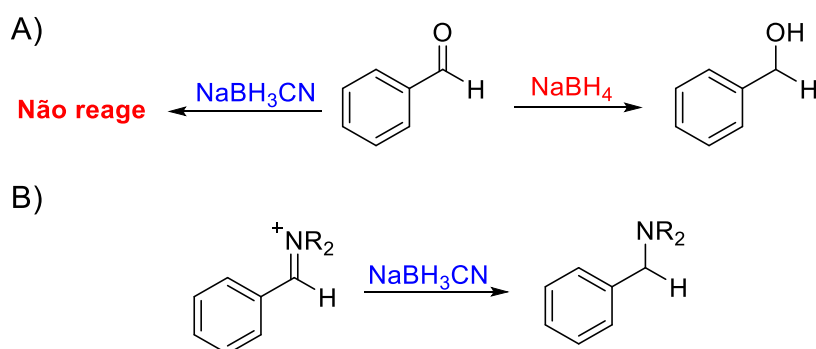


Esquema 14: Síntese dos híbridos lofina-benzilamina.

Tabela 2: Híbridos sintetizados e seus rendimentos.

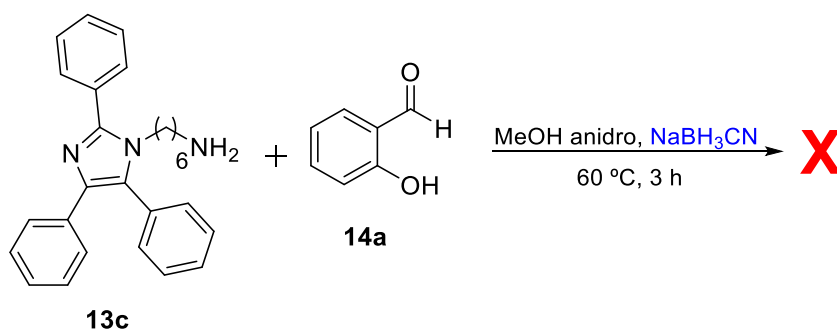
Composto	n	X	Rend. (%)	Composto	n	X	Rend. (%)
15a	4	2-OH	82	17a	6	2-OH	85
15b	4	2-OH, 5-Me	78	17b	6	2-OH, 5-Me	79
15c	4	2-Cl	70	17c	6	2-Cl	75
15d	4	3-Cl	55	17d	6	3-Cl	79
15e	4	4-F	78	17e	6	4-F	78
16a	5	2-OH	70	17f	6	H	92
16b	5	2-OH, 5-Me	67	18	7	2-OH	60
16c	5	2-Cl	62	19	8	2-OH	95
16d	5	3-Cl	60				
16e	5	4-F	73				

O NaBH_4 não foi adicionado no início da reação, pois ele não é um redutor seletivo para imina e reduz aldeídos à álcoois. Dessa forma, se adicionado no início do tempo reacional, o NaBH_4 reduziria o aldeído aromático utilizado, não levando a formação do produto desejado (Esquema 15A). Uma alternativa para realizar aminações redutivas em uma etapa é utilizar o cianoborohidreto de sódio (NaBH_3CN) como agente redutor. O NaBH_3CN apresenta uma reatividade menor que o NaBH_4 , por conseguinte, o NaBH_3CN reage muito lentamente com aldeídos (Esquema 15A) e rapidamente com o íon imínio, que é mais reativo que o aldeído (Esquema 15B). Portanto, o NaBH_3CN pode ser adicionado ao meio reacional concomitantemente com o aldeído aromático, pois ele não reduzirá o aldeído, somente o imínio que é formado durante a reação.^{97,98}



Esquema 15: Redução de aldeídos e do íon imínio. A): Redução do benzaldeído com NaBH_4 e NaBH_3CN . B): Redução do íon imínio com NaBH_3CN .

Nesse trabalho, realizou-se um teste utilizando o NaBH_3CN como agente redutor na síntese do híbrido **17a**. A reação foi realizada em uma etapa, utilizando MeOH anidro como solvente, temperatura ambiente e 18 h de reação (Esquema 16). A formação do produto desejado não foi observada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando como mistura eluente hexano: acetato de etila: trietilamina na proporção de 60:39:1 em volume.



Esquema 16: Tentativa de síntese do híbrido **17a** utilizando NaBH_3CN como agente redutor.

4.3.1 Caracterização espectroscópica do híbrido 15a

O espectro de RMN de ^1H do composto **15a** é apresentado na Figura 23. A numeração utilizada foi atribuída arbitrariamente. Os sinais do núcleo lofina são observados como três multipletos, entre 7,70-7,60 ppm (H13), 7,55-7,35 ppm e 7,20-7,10 ppm. Esse multipletos em 7,20-7,10 contém o H5 também, hidrogênio da porção benzilamina do híbrido. Os demais hidrogênios aromáticos da benzilamina são observados como um dubleto em 6,89 ppm (H2, $J = 7,3$ Hz) e um multipletos em 6,80-6,70 ppm (H3 e H4). Os hidrogênios ligados ao carbono que foi reduzido (H7) são observados como um singletos em 3,75 ppm, indicando que houve a redução da imina formada na primeira etapa da síntese. O tripletos em 3,91 ppm ($J = 7,0$ Hz) corresponde aos hidrogênios do carbono mais próximo ao núcleo imidazólico (H11). Os demais hidrogênios da cadeia metilênica são observados como um tripletos em 2,27 ppm (H8, $J = 7,0$ Hz), um multipletos entre 1,39-1,29 (H10) e um multipletos entre 1,18-1,10 ppm (H9).

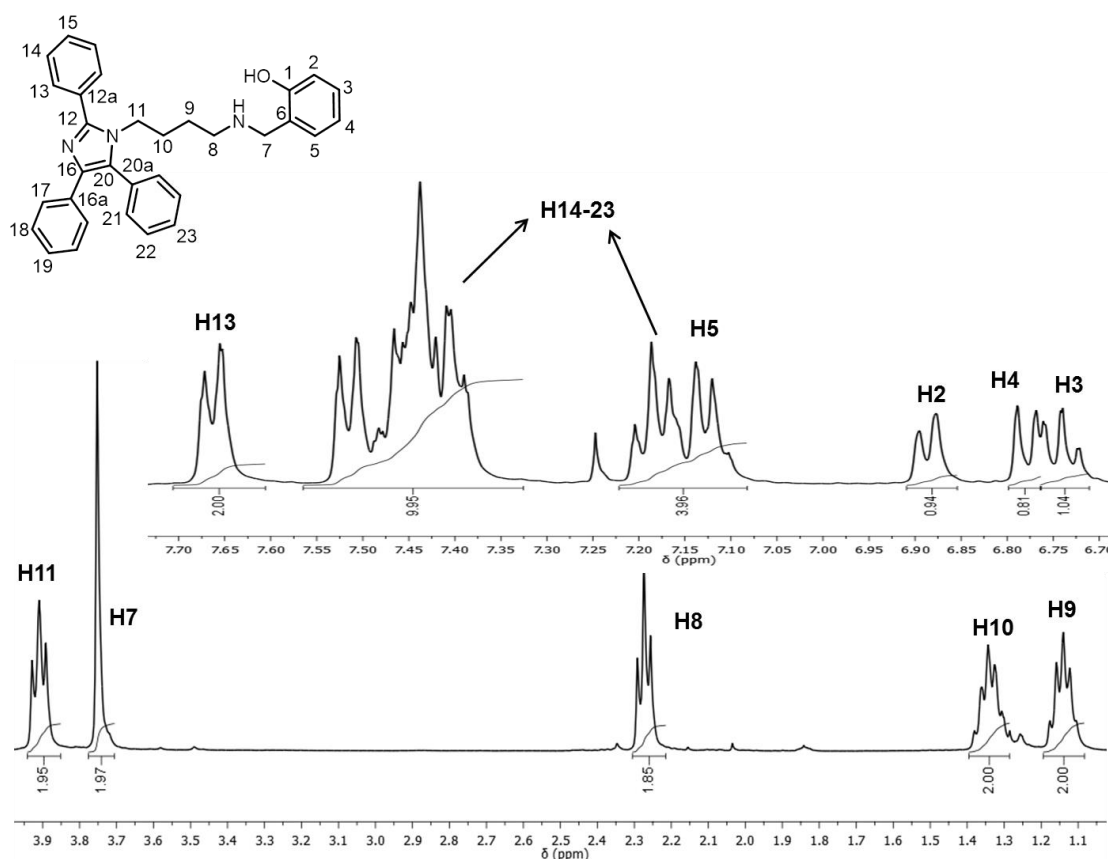


Figura 23: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **15a**.

A atribuição dos sinais dos hidrogênios metilênicos foi feita através do espectro de RMN bidimensional homonuclear ^1H - ^1H COSY (do inglês, *Correlation Spectroscopy*) do composto **15a** (Figura 24). Conhecendo o deslocamento químico do H11,^{78, 93}

determinaram-se as seguintes correlações: H11-H10, H-8-H9 e H10-H9, possibilitando a correta atribuição dos sinais da cadeia espaçadora. Na região dos hidrogênios aromáticos, observa-se correlação entre o H5-H3, H5-H4 e entre o H2-H3. As demais correlações da região dos aromáticos são de difícil atribuição devido a sobreposição dos sinais.

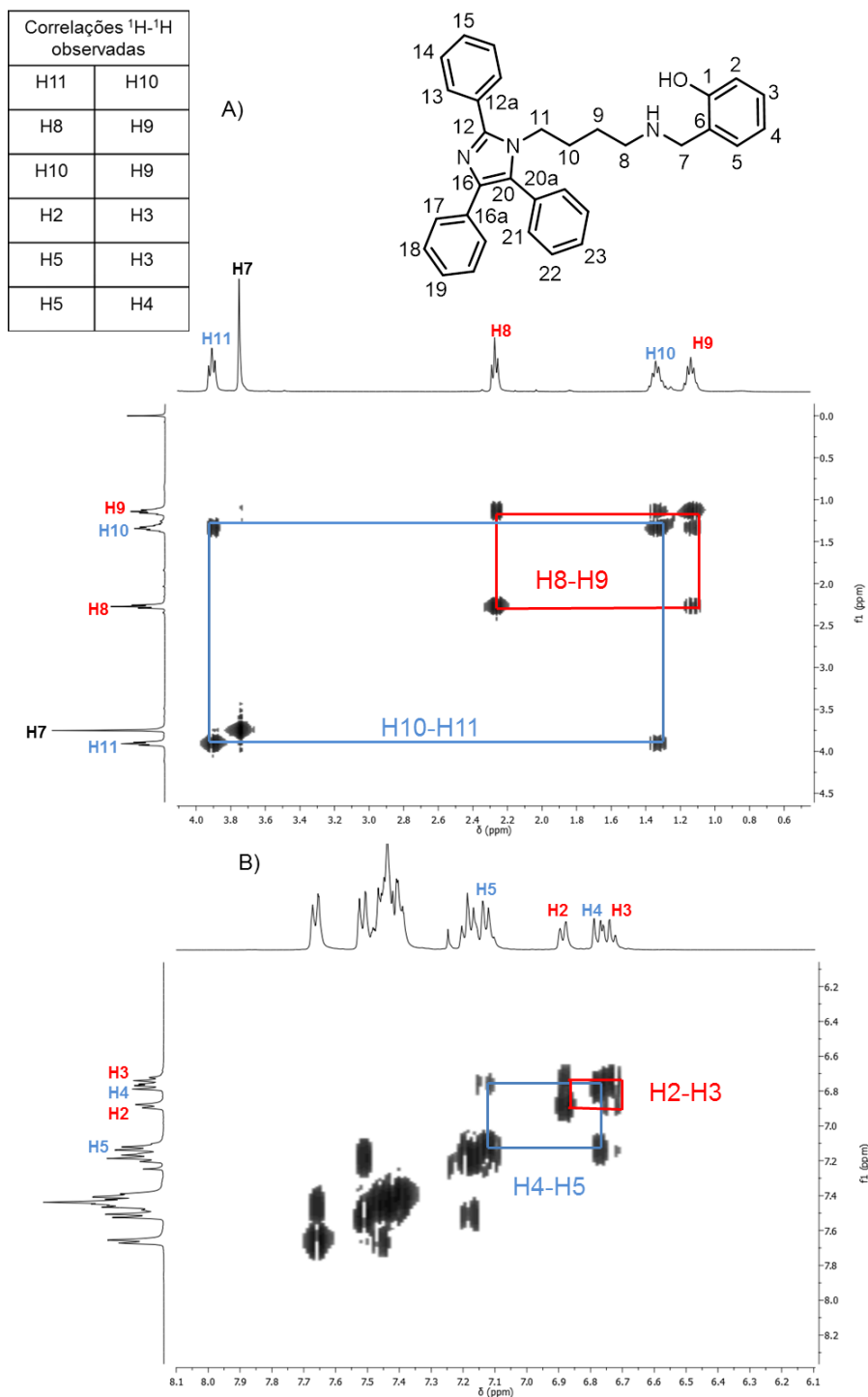


Figura 24: Espectro de RMN bidimensional ^1H - ^1H COSY (400 MHz, CDCl_3) do composto **15a**. A) Ampliação da região de 0 a 4,0 ppm. B) Ampliação da região de 6,0 a 8,0 ppm.

O espectro de RMN de ^{13}C , do tipo APT (do inglês, *Attached Proton Test*) do composto **15a**, é mostrado na Figura 25. Os valores citados a seguir estão em ppm. Os carbonos da cadeia espaçadora aparecem em 25,9 (C9), 27,8 (C10), 44,2 (C11) e 47,4 (C8). O sinal do carbono que sofreu redução é observado em 52,48 ppm (C7). O carbono com maior deslocamento químico corresponde ao C1 e é observado em 158,1 ppm. Os demais carbonos do núcleo benzilamina são observados em 128,7 (C5), 128,2 (C2), 122,2 (C6), 119,0 (C3) e 116,3 (C4). Do núcleo lofina destacam-se os sinais em 147,7 (C12) e em 129,1 (C13).

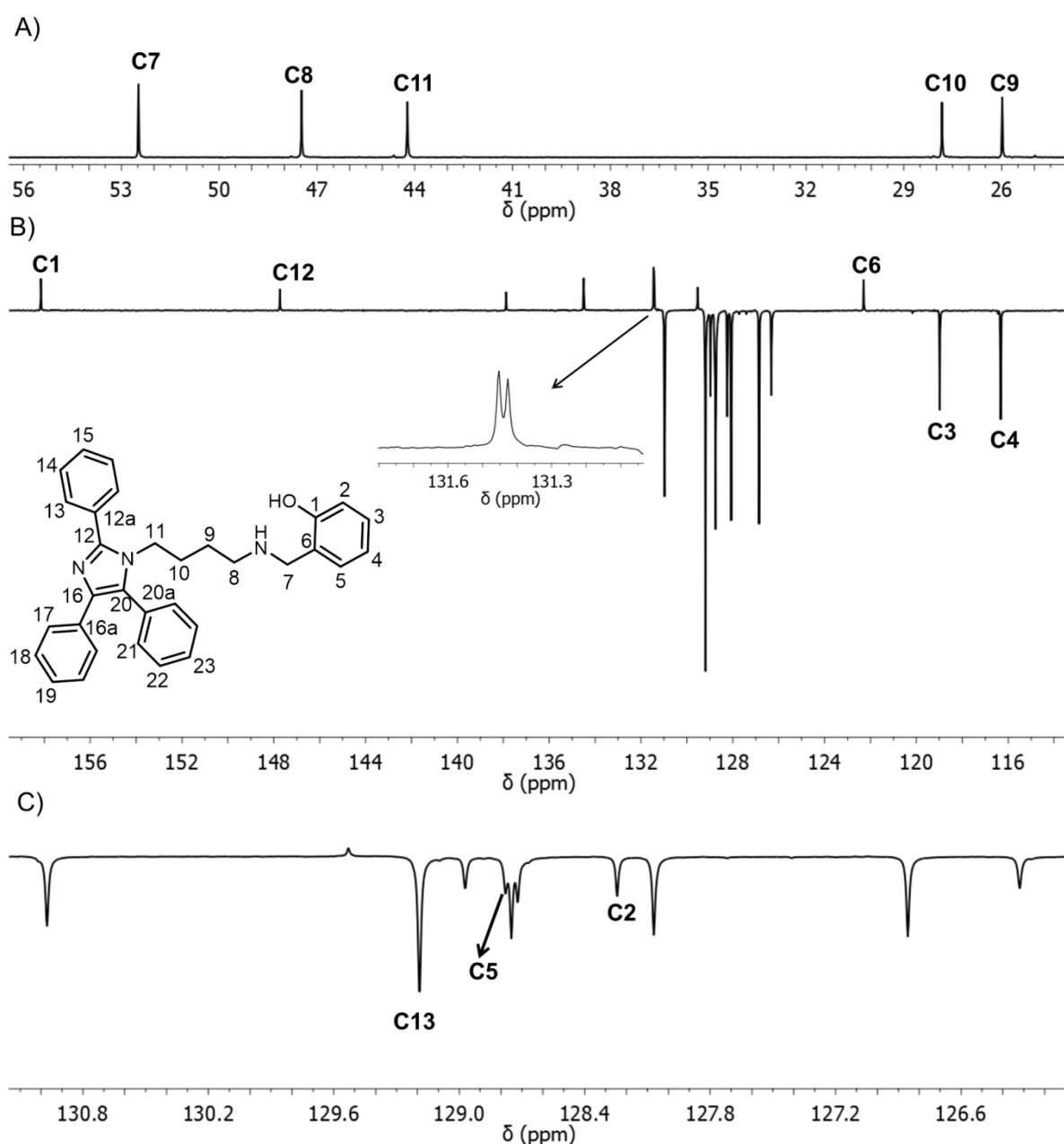


Figura 25: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **15a**. A) Ampliação entre 24 a 56 ppm. B) Ampliação entre 114 e 159 ppm. C) Ampliação entre 126 e 131 ppm.

No espectro de RMN bidimensional heteronuclear ^1H , ^{13}C -HSQC (do inglês, *Heteronuclear Single Quantum Correlation*) do composto **15a** (Figura 26) são observadas as seguintes correlações: H9 e C9; H10 e C10; H8 e C8; H7 e C7; H11 e C11; H4 e C4; H3 e C3; H2 e C2; H5 e C5; H13 e C13. Embora o sinal do H5 esteja sobreposto com os sinais do núcleo lofina, a determinação do C5 foi possível através da comparação dos espectros de RMN de ^{13}C da *N*-alquilaminolofina **13a** e do híbrido **15a**.

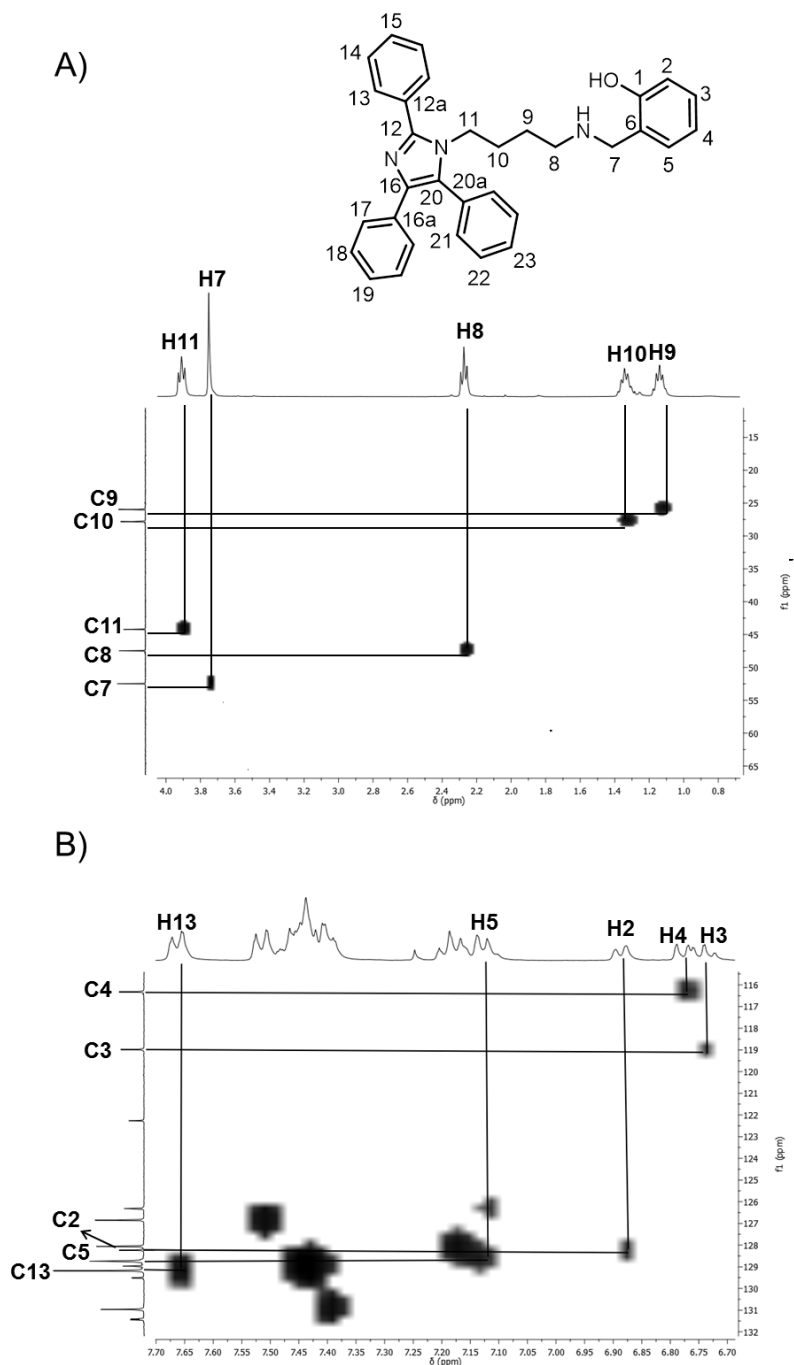


Figura 26: Espectro de RMN bidimensional ^1H - ^{13}C HSQC (400 MHz, CDCl_3) do composto **15a**. A) Ampliação da região de 0 a 4 ppm. B) Ampliação da região da região de 6,7 a 7,7 ppm.

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C dos compostos organofluorados (**15e**, **16e** e **17e**) apresentam uma maior complexidade quando comparados com os espectros dos demais compostos. Essa maior complexidade se deve ao fato de que, acoplamentos ^1H - ^{19}F e ^{13}C - ^{19}F são observados para esses compostos. Esses acoplamentos ocorrem, pois o flúor 19 apresenta abundância de 100 % na natureza e seu número quântico de spin nuclear (I) igual a 1/2.⁹⁹

No caso do espectro de RMN de ^1H do composto **17e** (Figura 27), não é possível determinar $^3J_{\text{Ha-F}}$, pois o sinal correspondente aos hidrogênios Ha e Ha' apresenta um acoplamento de segunda ordem. Um acoplamento de segunda ordem ocorre quando a diferença de deslocamento químico (em Hertz) entre dois prótons é semelhante ao J que os une. No caso de compostos *para*-dissubstituídos, como o híbrido **17e**, o anel apresenta um plano de simetria, ocasionando ambientes químicos iguais para os prótons Ha e Ha'. Entretanto, Ha e Ha' não são magneticamente equivalentes, pois acoplam com constantes de acoplamento diferentes com Hb e Hb'. Pelo fato de não serem magneticamente equivalentes existe uma constante $^4J_{\text{a-a'}}$ finita. A diferença de deslocamento químico entre Ha e Ha' é semelhante ao valor do $^4J_{\text{a-a'}}$, dessa forma, um acoplamento de segunda ordem é observado.^{100,101} A determinação das constantes de acoplamento de espectros de segunda ordem só é possível com simulações computacionais.¹⁰²

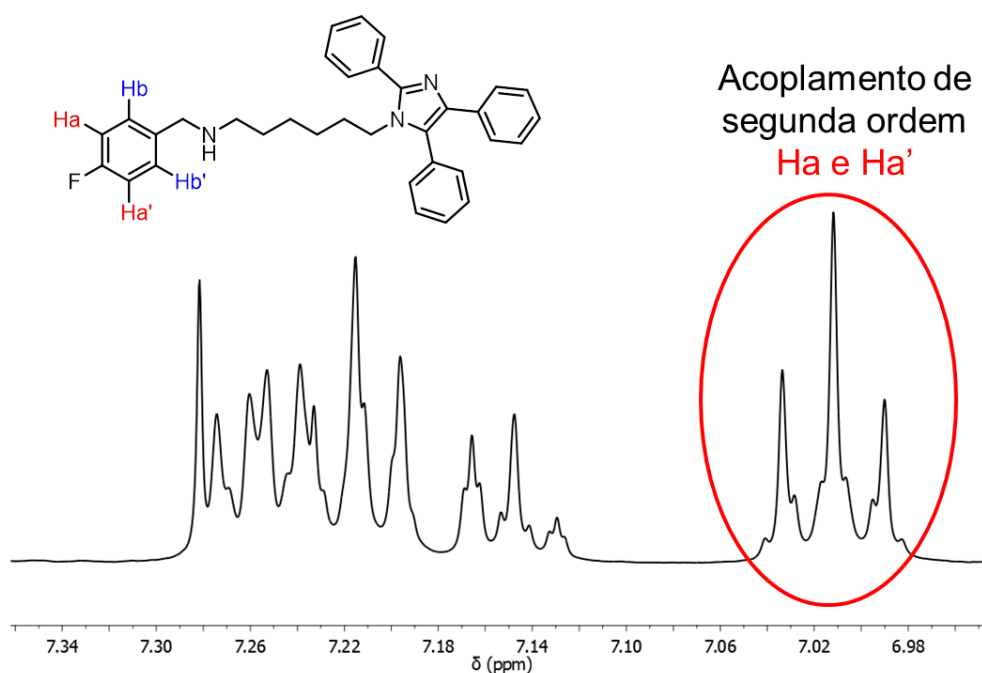


Figura 27: Ampliação da região de 6,95 a 7,35 ppm do espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **17e**.

Por outro lado, os acoplamentos ^{13}C - ^{19}F são de fácil determinação nos espectros de RMN de ^{13}C APT e auxiliam na atribuição dos espectros. Na Figura 28 é apresentado o espectro de RMN de ^{13}C APT do composto **17e**. O C1 é observado como um dubleto em 162 ppm com $^1J_{\text{C1-F}} = 244,5$ Hz. O C4 é observado como um dubleto em 136 ppm com $^4J_{\text{C4-F}} = 3,2$ Hz. O C3 é observado como um dubleto em 129 ppm com $^3J_{\text{C3-F}} = 8,0$ Hz. Por ultimo, o C2 é observado como um dubleto em 115 ppm $^2J_{\text{C2-F}} = 21,2$ Hz. Os valores de J estão de acordo com os encontrados na literatura.¹⁰³

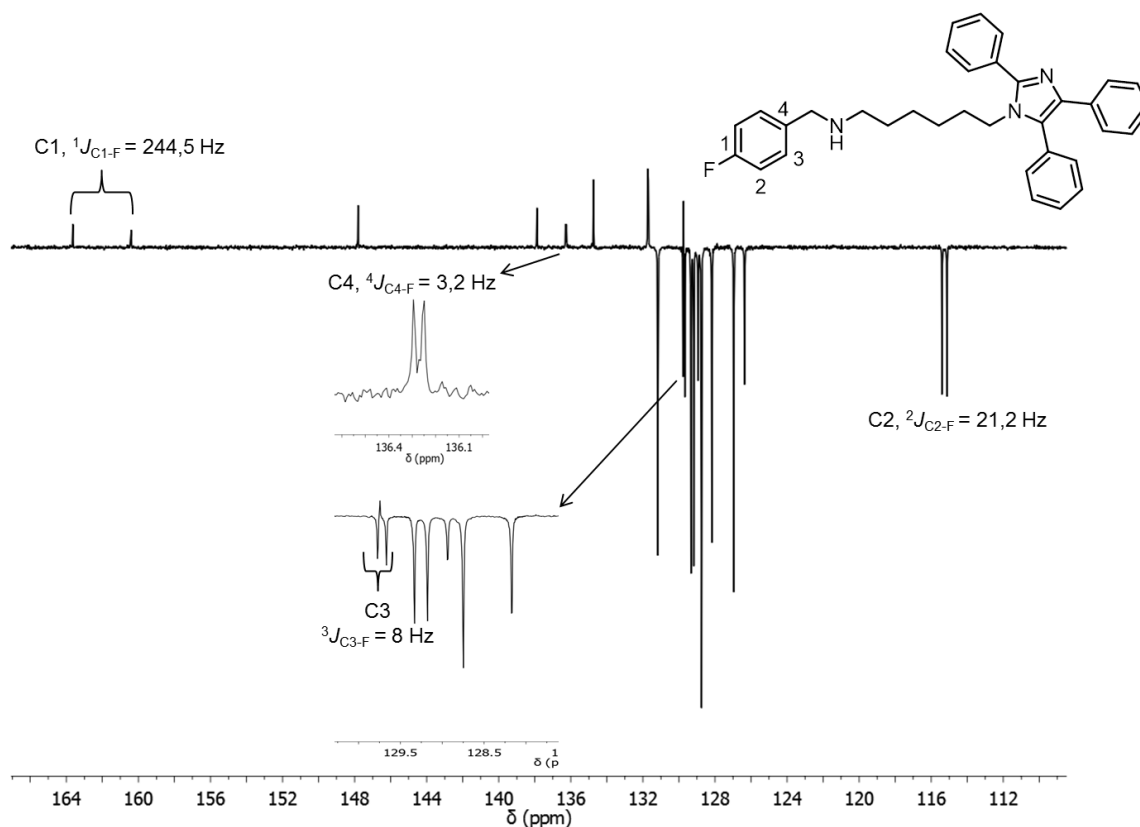
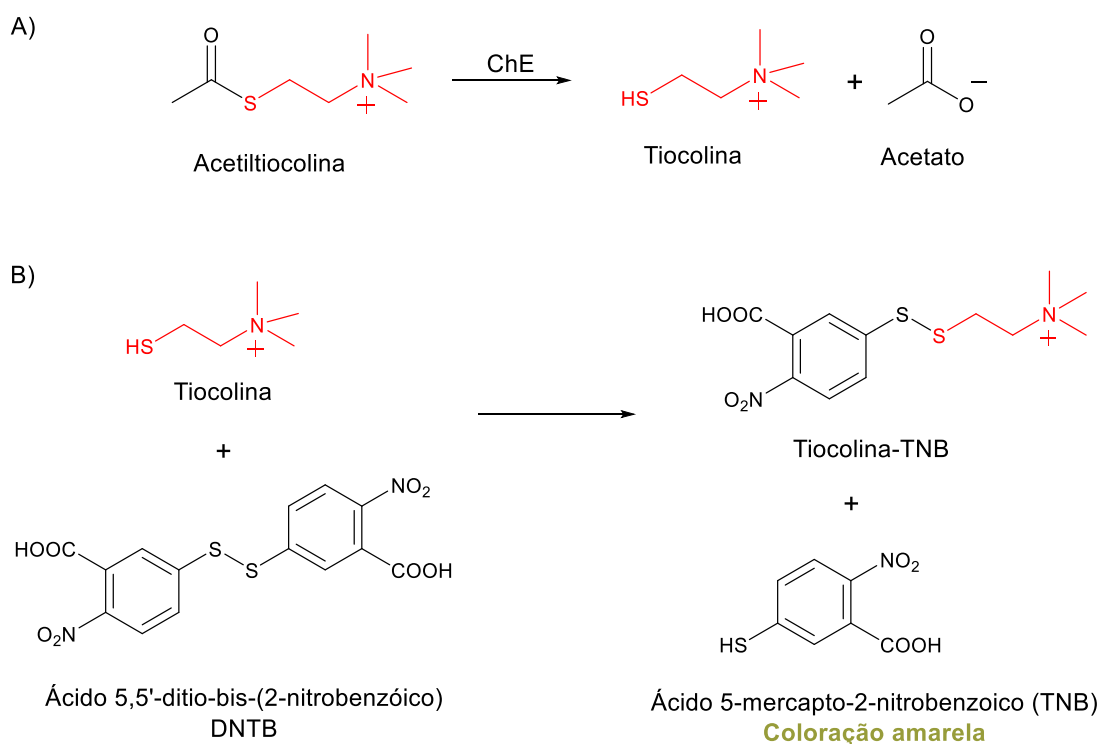


Figura 28: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **17e**.

4.4 Avaliação da atividade de inibição dos compostos sobre as enzimas AChE e BuChE

Os compostos híbridos sintetizados neste trabalho foram avaliados quanto à capacidade de inibição das enzimas colinesterases: acetilcolinesterase e butirilcolinesterase através do método de Ellman.¹⁰⁴ Tal método está baseado na reações mostradas na Esquema 17. O princípio do método consiste na determinação da taxa de produção da tiocolina devido à hidrólise da acetiltiocolina. No caso da determinação da atividade da BuChE pode-se utilizar a butiriltiocolina.

A hidrólise da acetiltiocolina, em tiocolina e acetato, (Esquema 17A) pode ser monitorada utilizando o DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)). A tiocolina reage com o DNTB levando a formação do TNB (ácido 5-mercapto-2-nitrobenzóico, Esquema 17B). O TNB apresenta uma coloração amarela (absorção em 412 nm) e sua velocidade de formação pode ser determinada por espectroscopia de UV-Vis. É importante observar que a velocidade da reação da tiocolina com o DNTB é suficientemente rápida para que, a etapa limitante da velocidade de formação do TNB seja a reação de hidrólise enzimática, que é a reação de interesse.^{105, 106}



Esquema 17: Reações envolvidas no método de Ellman. A) Hidrólise da acetiltiocolina. B) Reação da tiocolina com o DTNB.

Quando um ChEI é adicionado na etapa de hidrólise (Figura 29), a velocidade de formação da tiocolina será menor, devido a inibição da atividade da enzima. Conseqüentemente, a formação do TNB será mais lenta. Comparando as velocidades de formação do TNB na presença e na ausência de um ChEI, é possível determinar a atividade de inibição do composto utilizado como inibidor.¹⁰⁴

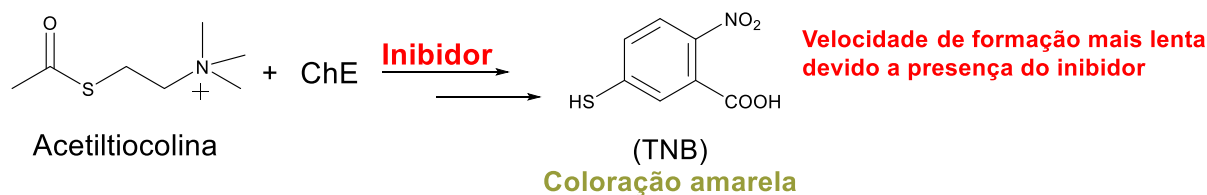


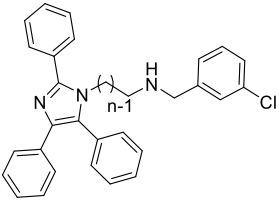
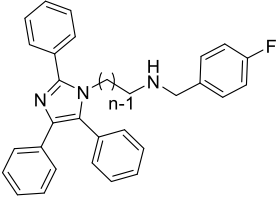
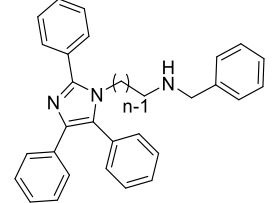
Figura 29: Representação simplificada do princípio do método de Ellman.

Os resultados de inibição das ChEs dos híbridos lofina-benzilamina são apresentados na Tabela 3. As análises estão ocorrendo em parceria com o Laboratório de Bioquímica de Proteínas e Peptídeos na Fundação Oswaldo Cruz - IOC (FioCruz), no Rio de Janeiro. Os resultados obtidos até o momento são de porcentagem de inibição a 10 μM de concentração do inibidor. Foram determinados o IC_{50} (concentração mínima do inibidor necessária para inibir 50 % da atividade da enzima) dos compostos **16c**, **17c** e **16d**. A determinação dos valores de IC_{50} dos demais compostos será realizada no futuro.

Tabela 3: Resultados preliminares de inibição da atividade das ChEs dos híbridos lofina-benzilamina.

Estrutura	Composto (n)	AChE	BuChE
		(%) de inibição ^a	(%) de inibição
	15a (4)	67,7	97,3
	16a (5)	63,3	96,8
	17a (6)	49,7	92,5
	18 (7)	66,0	81,8
	19 (8)	81,7	94,6
	15b (4)	80,4	97,0
	16b (5)	78,7	97,6
	17b (6)	66,6	87,2
	15c (4)	n.a. ^b	97,6
	16c (5)	n.a.	98,2 ($\text{IC}_{50} = 0,92 \mu\text{M}$)
	17c (6)	72,5	99,0 ($\text{IC}_{50} = 0,57 \mu\text{M}$)

Continuação da Tabela 3

	15d (4)	86,4	97,3
	16d (5)	64,2	98,1 (IC ₅₀ = 0,49 μM)
	17d (6)	64,7	97,8
	15e (4)	74,1	95,8
	16e (5)	77,7	97,1
	17e (6)	69,4	94,5
	17f (6)	63,2	95,5
	-	Tacrina	IC ₅₀ = 148 nM
-	Bis(7)-tacrina	IC ₅₀ = 10,7 nM	IC ₅₀ = 9,07 nM

^a(%) de inibição do composto a 10 μM de concentração; ^bn.a. = não ativo.

Os resultados preliminares, em porcentagem de inibição, mostraram que os híbridos lofina-benzilamina (**15-19**) foram seletivos para a BuChE. Também é possível notar que os híbridos que contêm o substituinte cloro no anel da benzilamina apresentaram a maior atividade. Foi determinado o IC₅₀ de três compostos. Os compostos apresentaram IC₅₀ na faixa de μM de concentração, valor considerado bom, tendo em vista que o híbrido não é derivado da tacrina. A atividade apresentada por esses híbridos consolida a lofina como uma plataforma para a construção de novos ChEIs.

Dos três compostos, o híbrido **16d** foi o mais ativo com IC₅₀ de 0,49 μM. Comparando o IC₅₀ do composto **16d** com o do composto **16c**, ambos com cadeia espaçadora de cinco metilenos, percebe-se que o cloro na posição três do anel benzílico confere uma melhor interação com a enzima. No caso dos híbridos com o cloro na posição 2 do anel benzílico (**16c** e **17c**), o tamanho de cadeia espaçadora de seis metilenos é o que permite um melhor interação do composto com a enzima. Tendo em vista os valores de IC₅₀ determinados e suas porcentagens de inibição, é difícil fazer uma avaliação de estrutura atividade dos demais compostos sem os valores de IC₅₀. As

porcentagens de inibição servem como um indicativo da atividade, porém, somente os valores de IC_{50} ou da constante de inibição (K_i , constante cinética de dissociação do complexo enzima-inibidor) vão representar a real atividade do composto.

4.5 Estudo de modelagem molecular do híbrido 17c

Para melhor entender como os híbridos interagem com as ChEs foi realizado um estudo de *docking*. Devido à significativa variação conformacional observada no sítio de ligação da acetilcolina nas enzimas ChEs, foi utilizada a estratégia de *ensemble docking*. Esta metodologia consiste na realização do *docking* molecular em cada estrutura representante com o objetivo de incluir implicitamente a flexibilidade proteica. As estruturas selecionadas foram 1ZGC (*Torpedo Californica*), 2CKM (*Torpedo Californica*) e 1Q84 (*Mus musculus*) para a AChE.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Para a BuChE foi utilizada a estrutura 5K5E (*Homo Sapiens*).¹¹⁰

Os estudos de *ensemble docking* foram realizados com o programa de *docking* molecular GOLD, utilizando a função de avaliação padrão ChemPLP e eficiência do algoritmo genético de 200% - configuração mais indicada para compostos altamente flexíveis. Os isômeros, estados de protonação e tautômeros dos ligantes foram preditos com a ferramenta Babel em pH = 7,5.¹¹¹

Em um primeiro momento, foi escolhido o inibidor **17c**, pois é o composto que apresentou a maior % de inibição da BuChE. O estudo de *ensemble docking* será realizado com os demais compostos no futuro. Os estudos de *docking* realizados são preliminares, sendo necessária a determinação dos IC_{50} para complementar os ensaios e realizar um paralelo entre a estrutura e a atividade dos híbridos.

O modo de ligação mais favorável do composto **17c** com a AChE foi o encontrado na estrutura 2CKM (Figura 30). De acordo com o resultado do *docking*, o núcleo lofina se encontra no fundo da cavidade enzimática. O núcleo lofina interage com os resíduos de aminoácido aromáticos através de diversas interações do tipo *stacking*. Dentre as interações observadas, destacam-se as interações π - π *stacking* do núcleo imidazol com o Trp84 e as interações das fenilas com a Tyr121 e com a Phe330. A porção benzilamina se encontra no PAS da enzima. A porção clorofenil está comprimida entre os resíduos Trp279 e Tyr70 através de interações π - π *stacking*. Não foram observadas interações significativas do substituinte cloro nem do grupo amino com a enzima.

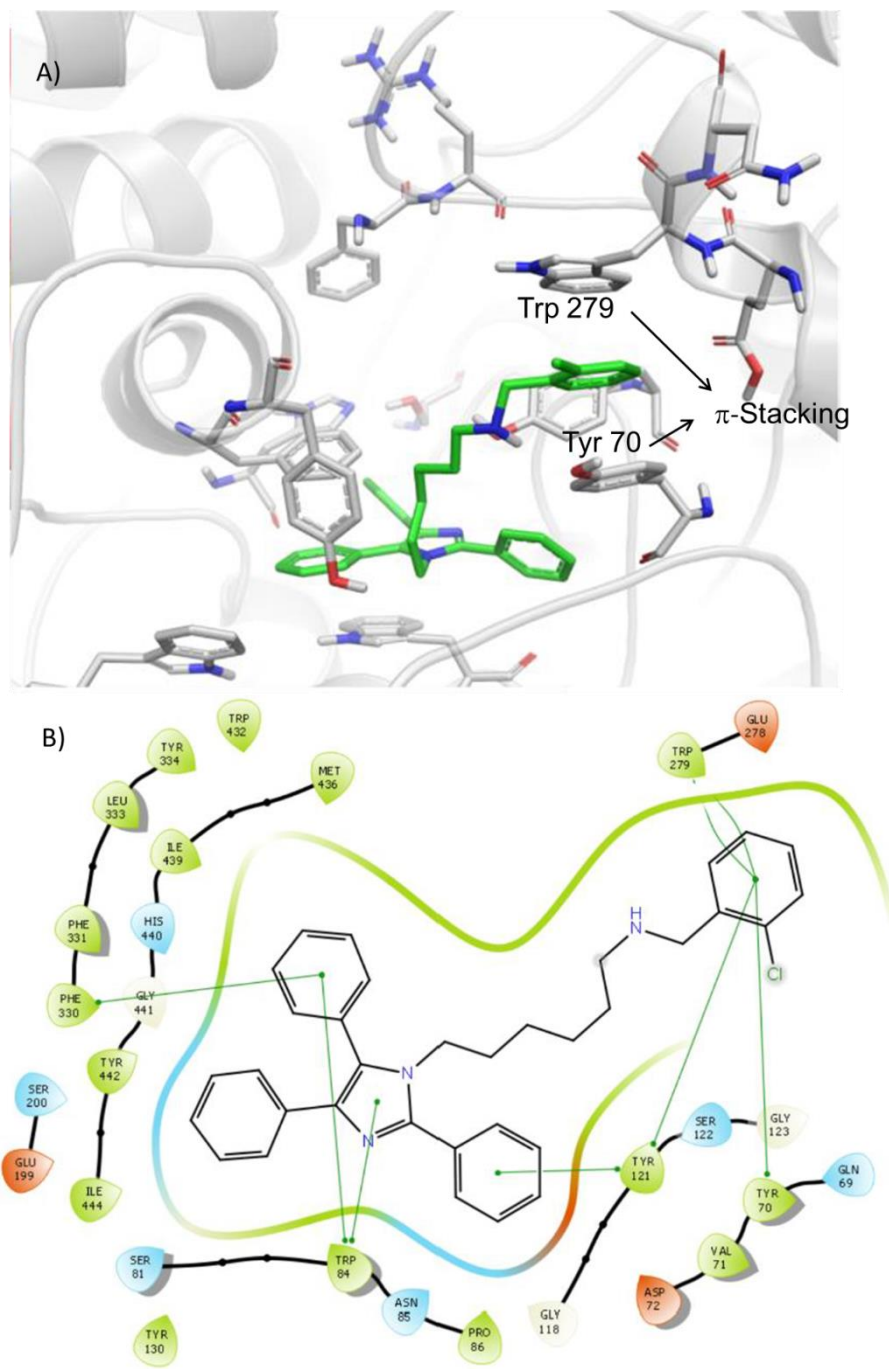


Figura 30: Modo de ligação previsto para o composto **17c** com a AChE (2CKM). A) Visão 3D do inibidor no interior da cavidade enzimática. B) Diagrama 2D mostrando algumas das interações.

O modo de ligação mais favorável previsto do composto **17c** com a BuChE está representado na Figura 31. De acordo com os resultados do *docking*, a lofina se encontra no fundo da cavidade enzimática, interagindo com os resíduos aromáticos através de interações do tipo π - π *stacking* de forma semelhante ao observado na AChE. Devido a ausência de aminoácidos aromáticos no PAS da BuChE, a porção benzilamina se encontra no bolso acila da BuChE. Nessa região, a porção clorofenil interage com o

Trp231 através de interações do tipo T-stacking. Outra interação de destaque é a ligação de hidrogênio que o grupo amina forma com a Pro285 da cadeia principal da enzima. O átomo de cloro também contribui para a atividade interagindo com o oxigênio da carbonila da Ser287, indicando que uma ligação de halogênio é possível.

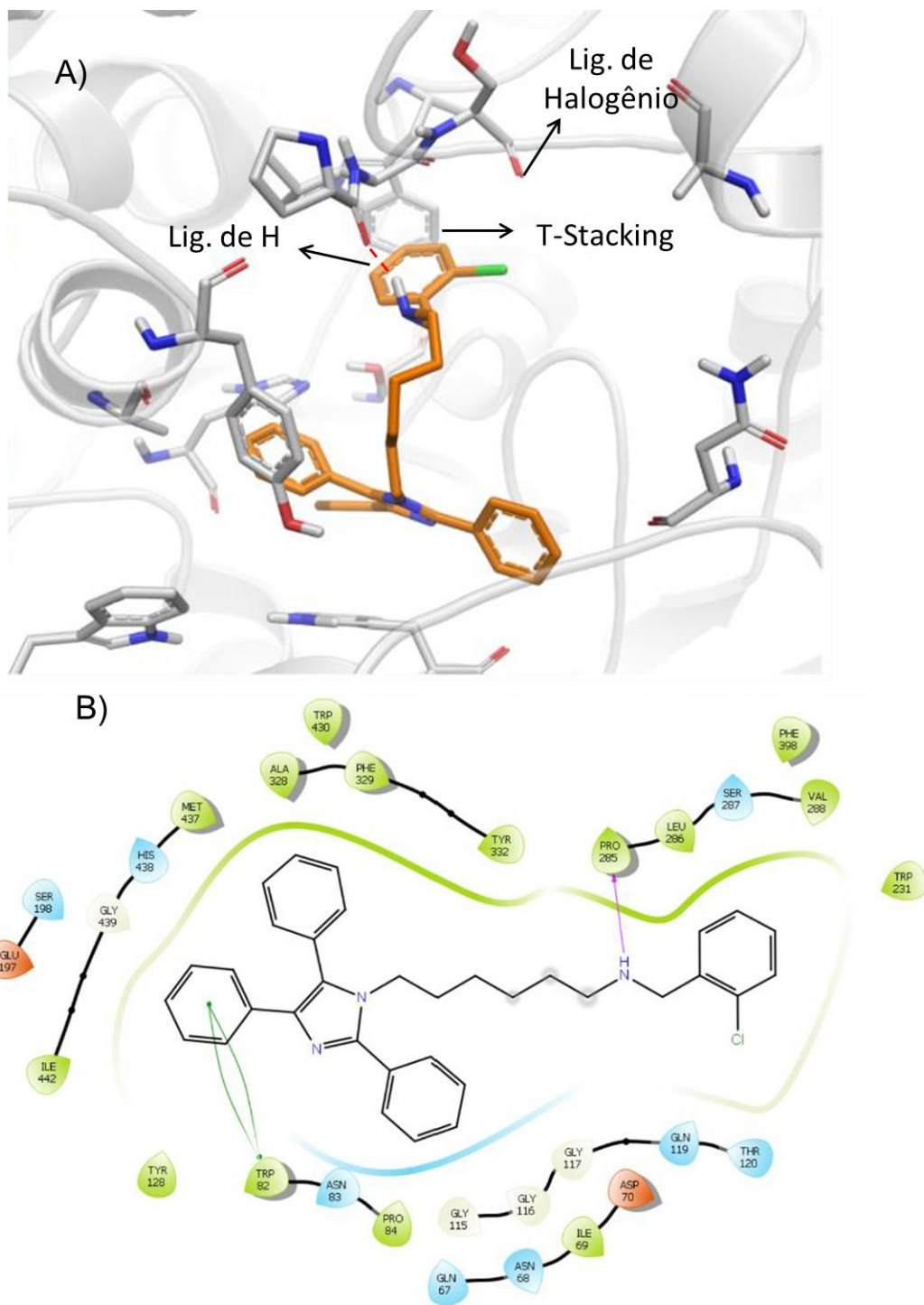


Figura 31: Modo de ligação previsto para o composto **17c** com a BuChE (5K5E). A) Visão 3D do inibidor no interior da cavidade enzimática. B) Diagrama 2D mostrando algumas das interações.

Como citado anteriormente, a principal diferença entre a cavidade enzimática da AChE e da BuChE reside no bolso acila. Os resíduos da AChE Phe288 e Phe290 são substituídos pela Leu286 e Val288 na BuChE, conferindo um maior volume disponível no bolso acila.⁴² Dessa forma, a BuChE permite que ligantes mais volumosos interajam no bolso acila.⁴⁹ No caso do híbrido **17c**, essa diferença permite que o híbrido interaja com o Trp286 do bolso acila. Na AChE, tal interação não é possível e o híbrido é obrigado a interagir no PAS da enzima. Ainda na AChE, como o híbrido interage no PAS, as outras duas importantes interações que o núcleo benzilamina realiza não são possíveis de ocorrer. Considerando que as interações do núcleo lofina são similares nas duas enzimas, a seletividade do híbrido **17c** para a BuChE reside nas interações do núcleo benzilamina.

A ligação de halogênio é uma interação entre enzima e substrato muito importante na química medicinal. Tal interação é dependente da posição e direção da ligação C-X em relação ao grupo da enzima que irá atuar como base de Lewis.¹¹² Olhando para os valores de IC₅₀ determinados até o momento, é possível inferir que o híbrido **16d** possui o grupo Cl com a melhor orientação para realizar a ligação de halogênio com a carbonila da Ser287, apresentando a menor energia de ligação com a enzima. Como já dito anteriormente, esses foram teste preliminares, sendo necessário realizar estudos mais aprofundados dos outros compostos da série para melhor entender a seletividade e a relação estrutura atividade.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram sintetizados os intermediários *N*-alquilaminolofina através de uma reação tetracomponente “one pot”, além de duas etapas de proteção/desproteção seletiva. Como uma alternativa para a síntese desses intermediários em uma única etapa, realizou-se um estudo da síntese da *N*-hexanaminolofina utilizando aquecimento por micro ondas. Com esse método, obteve-se a *N*-hexanaminolofina com 40 % de rendimento. Esse resultado é muito bom, tendo em vista que o rendimento global da síntese em três etapas foi de 38 %. Outras condições reacionais ainda serão testadas, visando o aumento do rendimento da reação.

Sintetizou-se dezoito novos híbridos lofina-benzilamina através da reação de aminação redutiva entre a *N*-alquilaminolofina e aldeídos aromáticos, utilizando NaBH₄ como redutor. Os híbridos foram sintetizados através de uma reação simples com bons rendimentos. Todos os híbridos lofina-benzilamina foram ativos para a inibição da BuChE, apresentando seletividade para essa enzima. Foram calculados IC₅₀ para três compostos e os valores se encontram na faixa micromolar (0,49-0,92 μM) de concentração. Os estudos de modelagem molecular, tanto para a AChE quanto para a BuChE, mostraram que a porção lofina do híbrido se encontra no sítio ativo da enzima. A diferença se encontra na porção benzilamina. Enquanto que na AChE a benzilamina interage no PAS da enzima, na BuChE essa porção interage no bolso acila, localizado no CAS da enzima. Essa diferença deve ser responsável pela seletividade observada em favor da BuChE. Entretanto, estudos mais aprofundados devem ser realizados para corroborar essa hipótese. Em dezembro de 2017, foi depositada a patente referente a esse trabalho registrada no número BR10201702760.

6 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

6.1 Materiais e Métodos

Os pontos de fusão foram determinados em tubos capilares de vidro abertos em um equipamento Büchi M-565. Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrômetro Varian 640-IR em pastilhas de KBr. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram obtidos no espectrômetro Varian VNMRS modelo INOVA, 300 MHz e 75,5 MHz, respectivamente, e no espectrômetro Bruker BioSpin, 400 MHz e 101 MHz, respectivamente. Os deslocamentos químicos (δ) são dados em partes por milhão (ppm) a partir do sinal do tetrametilsilano ($\delta = 0,00$ ppm) como padrão interno para o RMN de ^1H ou a partir do sinal do solvente, CDCl_3 ($\delta = 77,00$ ppm), DMSO-d_6 (39,51 ppm) para o RMN de ^{13}C ; as multiplicidades são dadas como s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), t (triplete), m (multiplete) ou sl (simpleto largo); as constantes de acoplamento (J) são dadas em Hz. Os dados de Espectrometria de Massas de Alta Resolução com Ionização Eletrospray (High Resolution Mass Spectrometry with Eletrospray Ionization - HRMS-ESI), em modo positivo, foram obtidos em um equipamento UHPLC-QTOF/MS Bruker Impact II. As reações no micro-ondas foram realizadas no equipamento Mars-6 da CEM, utilizando os frascos MarsXpress de teflon com capacidade para 10 mL. As purificações por cromatografia em coluna foram realizadas empregando como fase estacionária sílica gel 60 Å (70 – 230 mesh). As análises de cromatografia em camada delgada foram realizadas em placas de alumínio com camada de 0,2 mm de sílica gel 60F-254 (Macherey-Nagel). Os reagentes foram obtidos da Sigma Aldrich, Acros Organics e TCI. Os solventes utilizados, de grau P.A., foram obtidos da Nuclear. A nomenclatura dos compostos foi escrita baseando-se no programa *ChemDraw Ultra* 14.0 (*ChemBioOffice* 2014), considerada a tradução do inglês.

6.1.1 Procedimento geral para a preparação do (*n*-alquilamino)carbamato de *terc*-butila (**3a-e**).

Dissolveu-se a 1,*n*-alquildiamina (**1a-e**; 3,0 equiv, 39 mmol) em 240 mL de clorofórmio e adicionou-se gota a gota, a 0 °C, o dicarbonato de di-*terc*-butila (**2**, Boc_2O ; 1,0 equiv, 13 mmol) dissolvido em 18 mL de clorofórmio. Após a adição, a reação ficou a temperatura ambiente por 18 h. Ao final do tempo reacional, filtrou-se o sólido branco formado e o líquido remanescente foi removido em evaporador rotatório. O óleo obtido foi dissolvido em AcOEt e lavado com solução saturada de NaCl (3x35 mL). O produto foi extraído da fase aquosa com AcOEt (2 x 25 mL) e os extratos orgânicos foram combinados, secos com Na_2SO_4 e o solvente evaporado em rotaevaporador. O produto

bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel empregando-se como fase móvel CHCl₃:MeOH:Et₃N (95:4:1).

6.1.2 Procedimento geral para a preparação do (*n*-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)alquil)carbamato de *terc*-butila (7a-e).

A mistura de (*n*-alquilamino)carbamato de *terc*-butila (**3a-e**; 2,5 mmol), benzila (**4**; 2,5 mmol), benzaldeído (**5**; 2,5 mmol), acetato de amônio (**6**; 2,5 mmol), InCl₃ (0,4 mmol) e EtOH (3 mL) foi refluxada à 80 °C por 12 h. Após esse tempo, adicionou-se mais 2,5 mmol de benzaldeído, 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:Et₃N na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (60:39:1)

6.1.2.1 (4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butil)carbamato de *terc*-butila (7a)

Sólido branco; rendimento: 79%; p.f. 102-103 °C; IV (*KBr*) ν cm⁻¹: 3352, 3222, 3050, 2968, 2928, 2860, 1691, 1527, 1171, 774, 692; RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,70 (dd, *J* = 8,0, 1,4 Hz, 2H); 7,57 – 7,41 (m, 10H); 7,26 – 7,11 (m, 3H); 4,21 (sl, 1H); 3,93 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H); 2,88 – 2,70 (m, 2H); 1,69 (s, 2H); 1,42 (s, 9H); 1,19 – 1,08 (m, 2H); RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 155,7; 147,7; 137,8; 134,4; 131,4; 131,3; 131,0; 129,5; 129,2; 129,0; 128,8; 128,7; 128,6; 128,5; 128,1; 127,9; 126,8; 126,3; 125,5; 44,2; 39,5; 28,4; 27,6; 26,7; HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 468,2646; encontrado 468,2659.

6.1.2.2 (5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentil)carbamato de *terc*-butila (7b)

Sólido branco; rendimento: 80%; p.f. 59-60 °C; IV (*KBr*) ν cm⁻¹: 3344, 3050, 2976, 2852, 1697, 1499, 1163, 768, 700; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ 7,72 (d, *J* = 6,6 Hz, 2H); 7,59 – 7,37 (m, 10H); 7,24 – 7,04 (m, 3H); 6,62 (s, 1H); 3,87 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H); 2,74 – 2,57 (m, 2H); 1,33 (s, 9H); 1,29 – 1,19 (m, 2H); 1,09 – 0,93 (m, 2H); 0,86 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H); RMN de ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*6) δ 155,9; 147,1; 137,0; 135,1; 131,7; 131,5; 131,3; 130,2; 129,6; 129,3; 129,2; 129,1; 128,9; 128,6; 128,5; 127,5; 126,5; 125,6; 77,8; 44,7; 29,8; 29,0; 28,7; 23,4; HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 482,2802; encontrado 482,2805.

6.1.2.3 (6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)carbamato de *terc*-butila (7c)

Óleo branco; rendimento: 94%; RMN de ¹H (300 MHz, DMSO-*d*6) δ 7,74 (d, *J* = 6,6 Hz, 2H); 7,63 – 7,41 (m, 10H); 7,26 – 7,09 (m, 3H); 6,69 (t, *J* = 5,4 Hz, 1H); 3,90 (t, *J*

= 7,3 Hz, 2H); 2,75 (dd, $J = 12,7, 6,5$ Hz, 2H); 1,38 (s, 9H); 1,27 (s, 2H); 1,11 (s, 2H); 0,88 (s, 4H); RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ 156,0; 147,2; 137,0; 135,2; 131,7; 131,6; 131,3; 130,2; 129,6; 129,3; 129,2; 129,1; 128,9; 128,6; 128,5; 128,2; 127,5; 127,0; 126,5; 125,7; 77,7; 44,6; 30,0; 29,5; 28,7; 25,6; 25,7; HRMS-ESI: calculado $[\text{M-H}]^+$ 496,2959; encontrado 496,2965.

6.1.2.4 (7-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)heptil)carbamato de *terc*-butila (7d)

Óleo branco; rendimento: 96%; RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7,72 (d, $J = 6,9$ Hz, 2H); 7,60 – 7,41 (m, 10H); 7,26 – 7,04 (m, 3H); 6,71 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H); 3,88 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H); 2,80 (dd, $J = 12,9, 6,6$ Hz, 2H); 1,37 (s, 9H); 1,29 – 1,07 (m, 4H); 1,03 – 0,81 (m, 6H); RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ 156,0; 147,2; 137,0; 135,2; 131,8; 131,6; 131,3; 130,2; 129,6; 129,3; 129,2; 129,1; 129,1; 128,7; 128,5; 126,5; 125,7; 77,7; 44,5; 29,8; 29,7; 28,7; 28,0; 26,2; 25,9; HRMS-ESI: calculado $[\text{M-H}]^+$ 510,3115; encontrado 510,3117.

6.1.2.5 (8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octil)carbamato de *terc*-butila (7e)

Óleo branco; rendimento: 95%; RMN de ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 7,71 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H); 7,61 – 7,36 (m, 10H); 7,28 – 7,06 (m, 3H); 6,74 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H); 3,87 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H); 2,83 (dd, $J = 12,8, 6,5$ Hz, 2H); 1,36 (s, 9H); 1,27 – 1,16 (m, 4H); 1,05 – 0,75 (m, 8H); RMN de ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ 156,0; 147,2; 137,0; 135,2; 131,8; 131,6; 131,3; 130,2; 129,6; 129,3; 129,2; 129,1; 128,5; 126,6; 125,7; 77,8; 44,6; 29,9; 29,8; 28,8; 28,6; 28,3; 26,6; 25,8; HRMS-ESI: calculado $[\text{M-H}]^+$ 524,3272; encontrado 524,3273.

6.1.3 Procedimento geral para a preparação da *n*-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)alcano-1-amina (P1; 13a-e).

O (*n*-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)alquil)carbamato de *terc*-butila (7a-e; 1,8 mmol) foi dissolvido em 80 mL de MeOH. A essa solução, adicionou-se 8 mL de uma solução aquosa 10 % de HCl. A reação ficou em refluxo por 18 h a 90 °C. Após o tempo reacional, evaporou-se o metanol e adicionou-se uma solução de Na_2CO_3 10 % até pH 11. A seguir, adicionou-se 20 mL de H_2O e 25 mL de CHCl_3 . A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 , filtrada e o solvente evaporado em rotaevaporador e alto vácuo a 60 °C por 2h. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ (90:9,5:0,5).

6.1.4 Procedimento para a preparação da 6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexan-1-amina utilizando micro-ondas (P2; 13c).

A mistura de 1,6-hexanodiamina (**1c**; 1 mmol), benzila (**4**; 1 mmol), benzaldeído (**5**; 1 mmol), acetato de amônio (**6**; 1 mmol), InCl₃ (0,15 mmol) e EtOH (2,5 mL) foi aquecida em micro-ondas à 110 °C com uma potência de 350 W. Devido as limitações do equipamento, foram realizados três ciclos de 1 h, totalizando 3 h de reação. Após o tempo reacional, evaporou-se o etanol. A seguir, adicionou-se 20 mL de DCM e lavou-se a fase orgânica com solução saturada de NaCl (1x10 mL). e com água deionizada (1x10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado em rotaevaporador e alto vácuo a 60 °C por 2h. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente CHCl₃:MeOH:NH₄OH (90:9:1).

6.1.4.1 4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butan-1-amina (13a)

Sólido branco; rendimento: 59%; p.f. 119-120 °C; IV (*KBr*) ν cm⁻¹: 3044, 2920, 2846, 1595, 1438, 768, 692; RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,69 (dd, *J* = 8,0, 1,6 Hz, 2H); 7,56 – 7,38 (m, 10H); 7,23 – 7,08 (m, 3H); 3,91 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 2,34 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H); 1,44 – 1,28 (m, 2H); 1,23 (s, 2H); 1,14 – 0,99 (m, 2H); RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 147,6; 137,8; 134,5; 131,5; 131,5; 131,0; 129,5; 129,2; 129,1; 128,8; 128,7; 128,6; 128,0; 126,8; 126,2; 44,5; 41,1; 30,1; 27,7; HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 468,2646, encontrado 468,2659

6.1.4.2 5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentan-1-amina (13b)

Óleo incolor; rendimento: 75%; IV (*KBr*) ν cm⁻¹: 3433, 3058, 2922, 2851, 1595, 1503, 1437, 768, 692; RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,67 (dd, *J* = 8,0, 1,6 Hz, 2H); 7,56 – 7,38 (m, 10H); 7,22 – 7,06 (m, 3H); 3,88 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 2,39 (t, *J* = 6,0 Hz, H); 1,48 (sl, 2H); 1,32 (dt, *J* = 15,0, 7,5 Hz, 2H); 1,14 – 0,86 (m, 4H); RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 147,7; 137,8; 134,6; 131,6; 131,5; 131,0; 129,6; 129,2; 129,1; 128,9; 128,7; 128,6; 128,4; 128,1; 126,9; 126,3; 125,7; 44,6; 41,7; 32,6; 30,2; 23,5; HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 382,2278, encontrado 382,2278.

6.1.4.3 6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexan-1-amina (13c)

Óleo incolor; rendimento: 63 % (P1); 40 % (P2); RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (dd, *J* = 7,9, 1,4 Hz, 2H); 7,58 – 7,37 (m, 10H); 7,22 – 7,07 (m, 3H); 3,95 – 3,80 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 2,48 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H); 1,55 (s, 2H); 1,38 – 1,26 (m, 2H); 1,24 – 1,08 (m,

2H); 1,01 – 0,86 (m, 4H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 147,5; 137,5; 134,4; 131,4; 131,4; 130,8; 129,4; 129,0; 128,9; 128,7; 128,5; 127,9; 126,6; 126,0; 44,4; 41,7; 33,0; 30,1; 25,8; 25,7; HRMS-ESI: calculado $[\text{M-H}]^+$ 396,2434, encontrado 396,2431.

6.1.4.4 7-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)heptan-1-amina (13d)

Óleo incolor; rendimento: 84%; IV (*KBr*) ν cm^{-1} : 3427, 3064, 2928, 2852, 1595, 1444, 774, 692; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,67 (dd, $J = 8,0, 1,4$ Hz, 2H); 7,58 – 7,35 (m, 10H); 7,21 – 7,04 (m, 3H); 3,85 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,48 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H); 2,30 (s, 2H); 1,41 – 1,14 (m, 4H); 0,95 (m, 6H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 147,4; 137,4; 134,4; 131,2; 130,8; 129,5; 128,9; 128,8; 128,6; 128,4; 127,8; 126,6; 126,0; 44,4; 41,5; 32,8; 30,0; 28,1; 26,1; 25,8; HRMS-ESI: calculado $[\text{M-H}]^+$ 410,2591, encontrado 410,2591.

6.1.4.5 8-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)octan-1-amina (13e)

Óleo incolor; rendimento: 87%; IV (*KBr*) ν cm^{-1} : 3434, 3064, 2920, 2852, 1561, 768, 692; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,69 (dd, $J = 8,0, 1,6$ Hz, 2H); 7,57 – 7,38 (m, 10H); 7,23 – 7,07 (m, 3H); 3,87 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H); 2,60 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H); 1,63 (s, 2H); 1,40 – 1,27 (m, 4H); 1,19 – 0,86 (m, 8H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 147,5; 137,5; 134,5; 131,4; 131,4; 130,9; 129,5; 129,0; 128,9; 128,7; 128,5; 127,9; 126,7; 126,1; 44,6; 41,9; 33,3; 30,1; 28,8; 28,4; 26,5; 25,9; HRMS-ESI: calculado $[\text{M-H}]^+$ 424,2747, encontrado 424,2746.

6.1.5 Procedimento geral para a preparação dos híbridos lofina-benzilamina (15-19)

A mistura de **13a-e** (0,5 mmol) e o aldeído aromático **14a-f** foi refluxada em MeOH por 3 h. Em seguida, adicionou-se NaBH_4 (0,25 mmol) à temperatura ambiente. Após 1 h, realizou-se outra adição de NaBH_4 (0,5 mmol) e a solução foi agitada por 18 h. Após o tempo reacional, o solvente foi evaporado e ao resíduo foi adicionado 10 mL de água. Realizou-se uma extração com EtOAc (4 x 10 mL), a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl e seca com Na_2SO_4 . O solvente foi removido sob vácuo. O produto bruto foi purificado por coluna cromatográfica, utilizando como mistura eluente Hexano:AcOEt:Et₃N na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (60:39:1).

6.1.5.1 2-(((4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butil)amino)metil)fenol (15a)

Sólido amarelo. Rendimento de 82 %. PF: 49,1 °C. IV ν cm^{-1} : 3294; 3223; 3059; 2923; 2858; 1593; 1467; 759. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,69 – 7,63 (m; 2H); 7,54 –

7,36 (m; 10H); 7,21 – 7,10 (m; 4H); 6,89 (d; $J = 7,3$ Hz; 1H); 6,78 (d; $J = 8,1$ Hz; 1H); 6,74 (td; $J = 7,3; 0,9$ Hz; 1H); 3,91 (t; $J = 7,0$ Hz; 2H); 3,75 (s; 2H); 2,27 (t; $J = 7,0$ Hz; 2H); 1,39 – 1,29 (m; 2H); 1,18 – 1,10 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 158,1; 147,7; 137,8; 134,4; 131,4; 131,4; 130,9; 129,5; 129,1; 128,9; 128,7; 128,7; 128,2; 128,0; 126,8; 126,3; 122,2; 118,9; 116,3; 52,4; 47,4; 44,2; 27,8; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 474,2540 encontrado 474,2537.

6.1.5.2 4-metil-2-(((4-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)butil)amino)metil)fenol (15b)

Sólido amarelo. Rendimento de 78 %. PF: 56,5 °C. IV $\nu \text{ cm}^{-1}$: 3260; 3057; 2925; 1600; 1496; 1444; 770; 694. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,74 – 7,65 (m; 2H); 7,57 – 7,40 (m; 10H); 7,25 – 7,18 (m; 2H); 7,18 – 7,13 (m; 1H); 6,97 (dd; $J = 8,2; 1,6$ Hz; 1H); 6,73 (d; $J = 1,6$ Hz; 1H); 6,71 (d; $J = 8,2$ Hz; 1H); 3,94 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,75 (s; 2H); 2,31 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 2,25 (s; 3H); 1,43 – 1,31 (m; 2H); 1,22 – 1,13 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 155,7; 147,7; 137,8; 134,4; 131,4; 131,4; 130,9; 129,5; 129,1; 129,0; 128,9; 128,8; 128,7; 128,6; 128,0; 128,0; 126,8; 126,3; 121,9; 116,0; 52,4; 47,4; 44,2; 27,8; 26,0; 20,4. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 488,2696 encontrado 488,2694.

6.1.5.3 N-(2-clorobenzil)-4-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)butan-1-amina (15c)

Óleo incolor. Rendimento 70 %. IV $\nu \text{ cm}^{-1}$: 3067; 2920; 2855; 1600; 1467; 1444; 750; 690. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,74 – 7,69 (m; 2H); 7,58 – 7,53 (m; 2H); 7,53 – 7,42 (m; 8H); 7,37 – 7,33 (m; 1H); 7,28 – 7,25 (m; 1H); 7,25 – 7,19 (m; 4H); 7,18 – 7,13 (m; 1H); 3,95 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,72 (s; 2H); 2,32 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,47 – 1,35 (m; 2H); 1,24-1,12 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 147,6; 137,8; 137,5; 134,5; 133,6; 131,5; 131,5; 131,0; 130,0; 129,5; 129,4; 129,2; 129,1; 128,8; 128,6; 128,3; 128,0; 126,8; 126,7; 126,2; 51,0; 48,1; 44,6; 28,2; 26,6. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 492,2201 encontrado 492,2201.

6.1.5.4 N-(3-clorobenzil)-4-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)butan-1-amina (15d)

Óleo incolor. Rendimento 55 %. IV $\nu \text{ cm}^{-1}$: 3057; 2930; 2817; 1600; 1472; 1067; 770; 694. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,74 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,41 (m; 10H); 7,25 – 7,18 (m; 5H); 7,18 – 7,12 (m; 1H); 7,12 – 7,06 (m; 1H); 3,95 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,58 (s; 2H); 2,30 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,46 – 1,35 (m; 2H); 1,21 – 1,12 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 147,7; 142,3; 137,8; 134,5; 134,2; 131,5; 131,4; 130,9; 129,6; 129,5; 129,2; 129,1; 128,9; 128,7; 128,0; 128,0; 127,0; 126,8; 126,2; 126,1; 53,2; 48,2; 44,5; 28,1; 26,5. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 492,2201 encontrado 492,2200.

6.1.5.5 *N*-(4-fluorobenzil)-4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butan-1-amina (15e)

Óleo incolor. Rendimento 78 %. IV ν cm^{-1} : 3430; 3059; 2933; 2816; 1607; 1509; 1443; 773. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,74 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,41 (m; 10H); 7,25 – 7,12 (m; 5H); 7,03 – 6,95 (m; 2H); 3,95 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,57 (s; 2H); 2,30 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,45 – 1,34 (m; 2H); 1,20 – 1,12 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 161,8 (d; $J = 244,6$ Hz); 147,7; 137,8; 135,9 (d; $J = 3,0$ Hz); 134,5; 131,5; 131,4; 131,0; 129,5 (d; $J = 8,0$ Hz); 129,2; 129,1; 128,8; 128,6; 128,0; 126,8; 126,2; 115,1 (d; $J = 21,2$ Hz), 53,0; 48,2; 44,5; 28,1; 26,5. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 476,2497 encontrado 476,2501.

6.1.5.6 2-(((5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentil)amino)metil)fenol (16a)

Sólido marrom. Rendimento 70 %. PF: 59,4 °C. IV ν cm^{-1} : 3061; 2928; 1591; 1478; 1259; 1103; 754; 698. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,67 (m; 2H); 7,59 – 7,41 (m; 10H); 7,25 – 7,12 (m; 4H); 7,07 – 6,93 (m; 1H); 6,85 – 6,75 (m; 2H); 3,92 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,87 (s; 2H); 2,40 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,40 – 1,31 (m; 2H); 1,23 – 1,14 (m; 2H); 1,04 – 0,95 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 158,2; 147,6; 137,7; 134,4; 131,4; 131,3; 131,0; 129,6; 129,2; 129,1; 128,9; 128,7; 128,3; 128,0; 126,9; 126,3; 122,3; 118,9; 116,3; 52,5; 48,1; 44,4; 30,0; 28,4; 23,6. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 488,2696 encontrado 488,2696.

6.1.5.7 4-metil-2-(((5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentil)amino)metil)fenol (16b)

Sólido amarelo. Rendimento 67 %. PF: 40,7 °C. IV ν cm^{-1} : 3061; 2930; 2812; 1598; 1477; 1069; 775; 694. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,67 (m; 2H); 7,58 – 7,39 (m; 10H); 7,25 – 7,18 (m; 2H); 7,18 – 7,12 (m; 1H); 6,97 (dd; $J = 8,2$ Hz; 1,8 Hz; 1H); 6,79 – 6,75 (m; 1H); 6,72 (d; $J = 8,2$ Hz; 1H); 3,92 (t; $J = 7,2$ Hz; 2H); 3,85 (s; 2H); 2,41 (t; $J = 7,2$ Hz; 2H); 2,25 (s; 3H); 1,40-1,30 (m; 2H); 1,24 – 1,13 (m; 2H); 1,06 – 0,95 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 155,7; 147,6; 137,8; 134,5; 131,5; 131,4; 131,0; 129,5; 129,1; 129,1; 129,0; 128,8; 128,7; 128,6; 128,0; 128,0; 126,8; 126,2; 122,0; 116,0; 52,6; 48,2; 44,4; 30,0; 28,6; 23,6; 20,4. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 502,2853 encontrado 502,2853.

6.1.5.8 *N*-(2-clorobenzil)-5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentan-1-amina (16c)

Óleo incolor. Rendimento 62 %. IV ν cm^{-1} : 3061; 2933; 2858; 2810; 1599; 1472; 754; 693. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,53 (m; 2H); 7,53 –

7,41 (m; 8H); 7,38 – 7,30 (m; 2H); 7,26 – 7,18 (m; 4H); 7,18 – 7,12 (m; 1H); 3,91 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,78 (s; 2H); 2,39 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,42 – 1,32 (m; 2H); 1,25 – 1,15 (m; 2H); 1,07 – 0,97 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 147,6; 137,7; 137,6; 134,6; 133,6; 131,5; 131,5; 131,0; 130,1; 129,6; 129,5; 129,2; 129,1; 128,8; 128,6; 128,3; 128,0; 126,8; 126,8; 126,2; 51,3; 48,7; 44,6; 30,2; 29,1; 23,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 506,2358 encontrado 506,2355.

6.1.5.9 *N*-(3-clorobenzil)-5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentan-1-amina (16d)

Óleo incolor. Rendimento 60 %. IV ν cm^{-1} : 3360; 3057; 2927; 2857; 1599; 1445; 768; 694. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,52 (m; 2H); 7,52 – 7,41 (m; 8H); 7,26 – 7,18 (m; 4H); 7,18 – 7,12 (m; 2H); 3,92 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,66 (s; 2H); 2,38 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,42 – 1,32 (m; 3H); 1,23 – 1,14 (m; 2H); 1,06 – 0,96 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 147,6; 142,4; 137,7; 134,5; 134,2; 131,5; 131,5; 131,0; 129,6; 129,5; 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,1; 128,0; 127,0; 126,8; 126,2; 126,1; 53,3; 48,8; 44,6; 30,2; 29,0; 23,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 506,2358 encontrado 506,2357.

6.1.5.10 *N*-(4-fluorobenzil)-5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentan-1-amina (16e)

Óleo incolor. Rendimento 73 %. IV ν cm^{-1} : 3061; 2929; 2854; 2810; 1604; 1503; 1217; 693. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,40 (m; 10H); 7,26 – 7,18 (m; 4H); 7,18 – 7,12 (m; 1H); 7,05 – 6,95 (m; 2H); 3,92 (t; $J = 7,2$ Hz; 2H); 3,65 (s; 2H); 2,38 (t; $J = 7,2$ Hz; 2H); 1,41 – 1,31 (m; 2H); 1,23 – 1,14 (m; 2H); 1,05 – 0,95 (m; 2H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 161,8 (d; $J = 244,6$ Hz); 147,6; 137,7; 136,1 (d; $J = 3,1$ Hz); 134,5; 131,5; 131,5; 131,0; 129,5 (d; $J = 8,0$ Hz); 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,0; 126,8; 126,2; 115,1 (d; $J = 21,2$ Hz); 53,2; 48,8; 44,6; 30,2; 29,1; 23,9. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 490,2653 encontrado 490,2653.

6.1.5.11 2-(((6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexil)amino)metil)fenol (17a)

Sólido amarelo. Rendimento 55 %. PF: 46,5 °C. IV ν cm^{-1} : 3434; 3051; 2932; 2856; 1595; 1476; 1258; 693. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,70 – 7,65 (m; 2H); 7,55 – 7,37 (m; 10H); 7,22 – 7,09 (m; 4H); 6,94 (d; $J = 7,2$ Hz; 1H); 6,84 – 6,72 (m; 2H); 3,93 – 3,84 (m; 4H); 2,46 (t; $J = 7,1$ Hz; 2H); 1,35 – 1,19 (m; 4H); 1,02 – 0,89 (m; 4H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 158,3; 147,6; 137,7; 134,5; 131,5; 131,5; 131,0; 129,6; 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,6; 128,2; 128,0; 126,8; 126,2; 122,5; 118,9; 116,3; 52,7; 48,4; 44,4; 30,1; 29,0; 26,0; 25,8. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 502,2853 encontrado 502,2853.

6.1.5.12 4-metil-2-(((6-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)hexil)amino)metil)fenol (17b)

Sólido marrom. Rendimento 79 %. PF: 41,6 °C. IV ν cm^{-1} : 3056; 3014; 2913; 2844; 1586; 1459; 776; 692. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,67 (m; 2H); 7,57 – 7,40 (m; 10H); 7,25 – 7,18 (m; 2H); 7,19 – 7,12 (m; 1H); 7,01 – 6,94 (m; 1H); 6,81 – 6,77 (m; 1H); 6,73 (d; $J = 8,1$ Hz; 1H); 3,96 – 3,83 (m; 4H); 2,49 (t; $J = 7,1$ Hz; 2H); 2,26 (s; 3H); 1,39 – 1,22 (m; 4H); 1,06 – 0,91 (m; 4H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 155,8; 147,7; 137,7; 134,5; 131,5; 131,5; 131,0; 129,6; 129,2; 129,1; 129,0; 128,8; 128,8; 128,6; 128,0; 127,9; 126,8; 126,2; 122,2; 116,0; 52,7; 48,4; 44,4; 30,1; 29,1; 26,0; 25,8; 20,4. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 516,3009 encontrado 516,3009.

6.1.5.13 N-(2-clorobenzil)-6-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)hexan-1-amina (17c)

Óleo incolor. Rendimento 75 %. IV ν cm^{-1} : 3291; 3060; 2932; 2850; 1604; 1462; 1441; 757. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,67 (m; 2H); 7,57 – 7,41 (m; 10H); 7,39 – 7,33 (m; 2H); 7,27 – 7,18 (m; 4H); 7,18 – 7,11 (m; 1H); 3,90 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,83 (s; 2H); 2,46 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,41 – 1,32 (m; 2H); 1,32 – 1,23 (m; 2H); 1,07 – 0,93 (m; 4H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 147,6; 137,7; 134,6; 133,7; 131,6; 131,5; 131,0; 130,1; 129,6; 129,5; 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,3; 128,0; 126,8; 126,7; 126,2; 51,4; 48,9; 44,6; 30,3; 29,6; 26,3; 26,0. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 520,2514 encontrado 520,2514.

6.1.5.14 N-(3-clorobenzil)-6-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)hexan-1-amina (17d)

Óleo incolor. Rendimento 79 %. IV ν cm^{-1} : 3285; 3060; 2929; 2856; 1605; 1472; 1078; 775. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,74 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,41 (m; 10H); 7,33 – 7,30 (m; 1H); 7,27 – 7,12 (m; 6H); 3,91 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,71 (s; 2H); 2,45 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,41 – 1,31 (m; 2H); 1,31 – 1,19 (m; 2H); 1,06 – 0,93 (m; 4H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 147,6; 142,6; 137,7; 134,5; 134,2; 131,5; 131,5; 131,0; 129,6; 129,6; 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,1; 128,0; 127,0; 126,8; 126,2; 126,1; 53,4; 49,0; 44,6; 30,3; 29,6; 26,3; 26,0. HRMS-ESI: calculado $[\text{M} - \text{H}]^+$ 520,2514 encontrado 520,2515.

6.1.5.15 N-(4-fluorobenzil)-6-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)hexan-1-amina (17e)

Óleo incolor. Rendimento 78 %. IV ν max/cm^{-1} : 3424; 3061; 2926; 2838; 1594; 1513; 1217; 692. ^1H RMN (300 MHz; CDCl_3) δ 7,72 – 7,65 (m; 2H); 7,56 – 7,37 (m; 10H); 7,27 – 7,07 (m; 5H); 7,03 – 6,94 (m; 2H); 3,95 – 3,80 (m; 2H); 3,66 (s; 2H); 2,41 (t; $J = 7,1$ Hz; 2H); 1,40 – 1,17 (m; 5H); 1,08 – 0,87 (m; 5H). ^{13}C RMN (75 MHz; CDCl_3) δ 162,0

(d; $J = 244,5$ Hz); 147,8; 137,8; 136,2 (d; $J = 3,2$ Hz); 134,7; 131,7; 131,7; 131,1; 129,7 (d; $J = 8,0$ Hz); 129,7; 129,3; 129,1; 128,9; 128,7; 126,9; 126,3; 115,2 (d; $J = 21,2$ Hz); 53,4; 49,2; 44,7; 30,4; 29,7; 26,5; 26,2. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 504,2810 encontrado 504,2803.

6.1.5.16 *N*-benzil-6-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)hexan-1-amina (17f)

Óleo incolor. Rendimento 92 %. IV ν cm^{-1} : 3070; 2924; 2846; 1605; 1445; 1069; 776; 685. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,73 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,40 (m; 10H); 7,37 – 7,18 (m; 7H); 7,18 – 7,11 (m; 1H); 3,90 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,74 (s; 2H); 2,47 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,40 – 1,22 (m; 4H); 1,06 – 0,91 (m; 4H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 147,5; 140,2; 137,6; 134,4; 131,4; 131,4; 130,9; 129,5; 129,1; 128,9; 128,7; 128,5; 128,3; 128,0; 127,9; 126,8; 126,7; 126,1; 53,9; 49,0; 44,5; 30,2; 29,5; 26,2; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 486,2904 encontrado 486,2905.

6.1.5.17 2-(((7-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)heptil)amino)metil)fenol (18)

Óleo marrom. Rendimento 60 %. IR ν cm^{-1} : 3444; 3053; 2933; 2858; 1607; 1472; 1257; 752. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,75 – 7,67 (m; 2H); 7,58 – 7,39 (m; 10H); 7,25 – 7,09 (m; 4H); 7,02 – 6,96 (m; 1H); 6,86 – 6,74 (m; 2H); 3,97 (s; 1H); 3,90 (t; $J = 7,3$ Hz; 2H); 2,57 (t; $J = 7,3$ Hz; 2H); 1,41 – 1,26 (m; 4H); 1,14 – 1,03 (m; 2H); 1,02 – 0,92 (m; 4H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 158,3; 147,6; 137,7; 134,5; 131,5; 131,4; 131,0; 129,6; 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,6; 128,2; 128,0; 126,8; 126,2; 122,5; 118,9; 116,3; 52,7; 48,5; 44,6; 30,1; 29,3; 28,3; 26,6; 25,9. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 516,3009 encontrado 516,3009.

6.1.5.18 2-(((8-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)octil)amino)metil)fenol (19)

Óleo marrom. Rendimento 95 %. IV ν cm^{-1} : 3421; 3056; 2919; 2855; 1595; 1466; 1257; 744. ^1H RMN (400 MHz; CDCl_3) δ 7,75 – 7,68 (m; 2H); 7,58 – 7,42 (m; 10H); 7,26 – 7,12 (m; 4H); 7,03 – 6,95 (m; 1H); 6,87 – 6,76 (m; 2H); 3,99 (s; 2H); 3,90 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 2,62 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,49 – 1,39 (m; 2H); 1,39 – 1,31 (m; 2H); 1,23 – 1,12 (m; 2H); 1,10 – 1,02 (m; 2H); 1,01 – 0,93 (m; 4H). ^{13}C RMN (101 MHz; CDCl_3) δ 158,3; 147,6; 137,7; 134,6; 131,6; 131,5; 131,0; 129,6; 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,6; 128,2; 128,0; 126,8; 126,2; 122,6; 118,9; 116,3; 52,7; 48,6; 44,6; 30,2; 29,4; 28,9; 28,4; 26,8; 26,0. HRMS-ESI: calculado $[M - H]^+$ 530,3166 encontrado 530,3169.

7 REFERÊNCIAS

1. Alzheimers, A., Alzheimer's Association Report 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers & Dementia* **2015**, 11 (3), 332-384.
2. Prince, M.; Comas-Herrera, A.; Knapp, M.; Guerchet, M.; Karagiannidou, M. *World Alzheimer Report 2016: Improving healthcare for people living with dementia. Coverage, quality and costs now and in the future* London, 2016.
3. De Falco, A.; Cukierman, D. S.; Hauser-Davis, R. A.; Rey, N. A., Doença de Alzheimer: hipóteses etiológicas e perspectivas de tratamento. *Química Nova* **2016**, 39 (1), 63-80.
4. Querfurth, H. W.; LaFerla, F. M., Mechanisms of disease: Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine* **2010**, 362 (4), 329-344.
5. Dooley, M.; Lamb, H. M., Donepezil - A review of its use in Alzheimer's disease. *Drugs & Aging* **2000**, 16 (3), 199-226.
6. Milelli, A.; De Simone, A.; Ticchi, N.; Chen, H. H.; Betari, N.; Andrisano, V.; Tumiatti, V., Tacrine-based multifunctional agents in Alzheimer's disease: An old story in continuous development. *Current Medicinal Chemistry* **2017**, 24 (32), 3522-3546.
7. Hardy, J. A.; Higgins, G. A., Alzheimer's disease - The amyloid cascade hypothesis. *Science* **1992**, 256 (5054), 184-185.
8. Harrison, J. R.; Owen, M. J., Alzheimer's disease: The amyloid hypothesis on trial. *British Journal of Psychiatry* **2016**, 208 (1), 1-3.
9. Nalivaeva, N. N.; Turner, A. J., The amyloid precursor protein: A biochemical enigma in brain development, function and disease. *Febs Letters* **2013**, 587 (13), 2046-2054.
10. Haass, C.; Selkoe, D. J., Soluble protein oligomers in neurodegeneration: Lessons from the Alzheimer's amyloid β -peptide. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2007**, 8 (2), 101-112.
11. Kametani, F.; Hasegawa, M., Reconsideration of amyloid hypothesis and tau hypothesis in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience* **2018**, 12, 1-11.
12. Giacobini, E.; Gold, G., Alzheimer disease therapy-moving from amyloid- β to tau. *Nature Reviews Neurology* **2013**, 9 (12), 677-686.
13. Selkoe, D. J.; Hardy, J., The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *Embo Molecular Medicine* **2016**, 8 (6), 595-608.
14. Honig, L. S.; Vellas, B.; Woodward, M.; Boada, M.; Bullock, R.; Borrie, M.; Hager, K.; Andreasen, N.; Scarpini, E.; Liu-Seifert, H.; Case, M.; Dean, R. A.; Hake, A.; Sundell, K.; Hoffmann, V. P.; Carlson, C.; Khanna, R.; Mintun, M.; DeMattos, R.; Selzler, K. J.; Siemers, E., Trial of Solanezumab for mild dementia due to Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine* **2018**, 378 (4), 321-330.
15. Iqbal, K.; Liu, F.; Gong, C. X.; Grundke-Iqbal, I., Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Current Alzheimer Research* **2010**, 7 (8), 656-664.
16. Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K.; Tung, Y. C.; Quinlan, M.; Wisniewski, H. M.; Binder, L. I., Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein τ (tau) in

Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1986**, 83 (13), 4913-4917.

17. Khlistunova, I.; Biernat, J.; Wang, Y. P.; Pickhardt, M.; von Bergen, M.; Gazova, Z.; Mandelkow, E.; Mandelkow, M., Inducible expression of tau repeat domain in cell models of tauopathy - Aggregation is toxic to cells but can be reversed by inhibitor drugs. *Journal of Biological Chemistry* **2006**, 281 (2), 1205-1214.

18. Churcher, I., Tau therapeutic strategies for the treatment of Alzheimer's disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2006**, 6 (6), 579-595.

19. Gotz, J.; Ittner, A.; Ittner, L. M., Tau-targeted treatment strategies in Alzheimer's disease. *British Journal of Pharmacology* **2012**, 165 (5), 1246-1259.

20. Hochgrafe, K.; Sydow, A.; Matenia, D.; Cadinu, D.; Konen, S.; Petrova, O.; Pickhardt, M.; Goll, P.; Morellini, F.; Mandelkow, E.; Mandelkow, E. M., Preventive methylene blue treatment preserves cognition in mice expressing full-length pro-aggregant human tau. *Acta Neuropathologica Communications* **2015**, 3, 1-22.

21. Gauthier, S.; Feldman, H. H.; Schneider, L. S.; Wilcock, G. K.; Frisoni, G. B.; Hardlund, J. H.; Moebius, H. J.; Bentham, P.; Kook, K. A.; Wischik, D. J.; Schelter, B. O.; Davis, C. S.; Staff, R. T.; Bracoud, L.; Shamsi, K.; Storey, J. M. D.; Harrington, C. R.; Wischik, C. M., Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer's disease: a randomised, controlled, double-blind, parallel-arm, phase 3 trial. *Lancet* **2016**, 388 (10062), 2873-2884.

22. Noble, W.; Planel, E.; Zehr, C.; Olm, V.; Meyerson, J.; Suleman, F.; Gaynor, K.; Wang, L.; LaFrancois, J.; Feinstein, B.; Burns, M.; Krishnamurthy, P.; Wen, Y.; Bhat, R.; Lewis, J.; Dickson, D.; Duff, K., Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by lithium correlates with reduced tauopathy and degeneration in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, 102 (19), 6990-6995.

23. Le Corre, S.; Klafki, H. W.; Plesnila, N.; Hubinger, G.; Obermeier, A.; Sahagun, H.; Monse, B.; Seneci, P.; Lewis, J.; Eriksen, J.; Zehr, C.; Yue, M.; McGowan, E.; Dickson, D. W.; Hutton, M.; Roder, H. M., An inhibitor of tau hyperphosphorylation prevents severe motor impairments in tau transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, 103 (25), 9673-9678.

24. Hampel, H.; Schneider, L. S.; Giacobini, E.; Kivipelto, M.; Sindi, S.; Dubois, B.; Broich, K.; Nistico, R.; Aisen, P. S.; Lista, S., Advances in the therapy of Alzheimer's disease: targeting amyloid beta and tau and perspectives for the future. *Expert Review of Neurotherapeutics* **2015**, 15 (1), 83-105.

25. Guo, T.; Noble, W.; Hanger, D. P., Roles of tau protein in health and disease. *Acta Neuropathologica* **2017**, 133 (5), 665-704.

26. McGleenon, B. M.; Dynan, K. B.; Passmore, A. P., Acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *British Journal of Clinical Pharmacology* **1999**, 48 (4), 471-480.

27. Craig, L. A.; Hong, N. S.; McDonald, R. J., Revisiting the cholinergic in the development of Alzheimer's disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **2011**, 35 (6), 1397-1409.

28. Patrick, L. G., *An introduction to medicinal chemistry*. 1st ed.; Oxford University Press: United States, 2009.
29. Bear, M. F.; Connors, B. W.; Paradiso, M. A., *Neurociências: Desvendando o sistema nervoso*. 3^a edição ed.; Artmed: Porto Alegre, 2010.
30. Nelson, D. L.; Cox, M. M., *Princípios de bioquímica de Lehninger*. 5^a Edição ed.; Artmed: Porto Alegre, 2011.
31. Bartus, R. T., On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: Lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Experimental Neurology* **2000**, *163* (2), 495-529.
32. de Aquino, R. A. N.; Modolo, L. V.; Alves, R. B.; de Fatima, A., Synthesis, kinetic studies and molecular modeling of novel tacrine dimers as cholinesterase inhibitors. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2013**, *11* (48), 8395-8409.
33. Dvir, H.; Silman, I.; Harel, M.; Rosenberry, T. L.; Sussman, J. L., Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. *Chemico-Biological Interactions* **2010**, *187* (1-3), 10-22.
34. Alvarez, A.; Opazo, C.; Alarcon, R.; Garrido, J.; Inestrosa, N. C., Acetylcholinesterase promotes the aggregation of amyloid- β -peptide fragments by forming a complex with the growing fibrils. *Journal of Molecular Biology* **1997**, *272* (3), 348-361.
35. Houghton, P. J.; Ren, Y. H.; Howes, M. J., Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports* **2006**, *23* (2), 181-199.
36. Yang, S. H.; Sun, Q.; Xiong, H.; Liu, S. Y.; Moosavi, B.; Yang, W. C.; Yang, G. F., Discovery of a butyrylcholinesterase-specific probe via a structure-based design strategy. *Chemical Communications* **2017**, *53* (28), 3952-3955.
37. Li, Q.; Yang, H. Y.; Chen, Y.; Sun, H. P., Recent progress in the identification of selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *132*, 294-309.
38. Ramanan, V. K.; Risacher, S. L.; Nho, K.; Kim, S.; Swaminathan, S.; Shen, L.; Foroud, T. M.; Hakonarson, H.; Huentelman, M. J.; Aisen, P. S.; Petersen, R. C.; Green, R. C.; Jack, C. R.; Koeppe, R. A.; Jagust, W. J.; Weiner, M. W.; Saykin, A. J., APOE and BCHE as modulators of cerebral amyloid deposition: a florbetapir PET genome-wide association study. *Molecular Psychiatry* **2014**, *19* (3), 351-357.
39. DeBay, D. R.; Reid, G. A.; Macdonald, I. R.; Mawko, G.; Burrell, S.; Martin, E.; Bowen, C. V.; Darvesh, S., Butyrylcholinesterase-knockout reduces fibrillar β -amyloid and conserves ¹⁸F¹⁸FDG retention in 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Research* **2017**, *1671*, 102-110.
40. Sanson, B.; Colletier, J. P.; Xu, Y. C.; Lang, P. T.; Jiang, H. L.; Silman, I.; Sussman, J. L.; Weik, M., Backdoor opening mechanism in acetylcholinesterase based on X-ray crystallography and molecular dynamics simulations. *Protein Science* **2011**, *20* (7), 1114-1118.
41. Sussman, J. L.; Harel, M.; Frolow, F.; Oefner, C.; Goldman, A.; Toker, L.; Silman, I., Atomic-structure of acetylcholinesterase from *Torpedo-Californica* - A prototypic acetylcholine-binding protein AT. *Science* **1991**, *253* (5022), 872-879.

42. Rosenberry, T. L.; Brazzolotto, X.; Wandhammer, M.; Trovaslet-Leroy, M.; Nachon, F.; Macdonald, I. R.; Darvesh, S., Comparison of the binding of reversible inhibitors to human butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase: A crystallographic, kinetic and calorimetric study. *Molecules* **2017**, *22* (12), 1-21.
43. Bajda, M.; Wieckowska, A.; Hebda, M.; Guzior, N.; Sotriffer, C. A.; Malawska, B., Structure-based search for new inhibitors of cholinesterases. *International Journal of Molecular Sciences* **2013**, *14* (3), 5608-5632.
44. Johnson, G.; Moore, S. W., The peripheral anionic site of acetylcholinesterase: Structure, functions and potential role in rational drug design. *Current Pharmaceutical Design* **2006**, *12* (2), 217-225.
45. Hornberg, A.; Tunemalm, A. K.; Ekstrom, F., Crystal structures of acetylcholinesterase in complex with organophosphorus compounds suggest that the acyl pocket modulates the aging reaction by precluding the formation of the trigonal bipyramidal transition state. *Biochemistry* **2007**, *46* (16), 4815-4825.
46. 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. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, *124* (35), 10572-10577.
47. Pohanka, M., Cholinesterase, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers-Olomouc* **2011**, *155* (3), 219-229.
48. Delfino, R. T.; Ribeiro, T. S.; Figueroa-Villar, J. D., Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: A review. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2009**, *20* (3), 407-428.
49. Brus, B.; Kosak, U.; Turk, S.; Pisljar, A.; Coquelle, N.; Kos, J.; Stojan, J.; Colletier, J. P.; Gobec, S., Discovery, biological evaluation, and crystal structure of a novel nanomolar selective butyrylcholinesterase inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *57* (19), 8167-8179.
50. Anand, P.; Singh, B., A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Archives of Pharmacal Research* **2013**, *36* (4), 375-399.
51. Hamulakova, S.; Imrich, J.; Janovec, L.; Kristian, P.; Danihel, I.; Holas, O.; Pohanka, M.; Bohm, S.; Kozurkova, M.; Kuca, K., Novel tacrine/acridine anticholinesterase inhibitors with piperazine and thiourea linkers. *International Journal of Biological Macromolecules* **2014**, *70*, 435-439.
52. Zhang, C.; Du, Q. Y.; Chen, L. D.; Wu, W. H.; Liao, S. Y.; Yu, L. H.; Liang, X. T., Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *116*, 200-209.
53. Bajda, M.; Jonczyk, J.; Malawska, B.; Czarnecka, K.; Girek, M.; Olszewska, P.; Sikora, J.; Mikiciuk-Olasik, E.; Skibinski, R.; Gumieniczek, A.; Szymanski, P., Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of new tetrahydroacridine derivatives as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2015**, *23* (17), 5610-5618.
54. Pisoni, D. D.; da Costa, J. S.; Gamba, D.; Petzhold, C. L.; Borges, A. C. D.; Ceschi, M. A.; Lunardi, P.; Goncalves, C. A. S., Synthesis and AChE inhibitory activity of new chiral tetrahydroacridine analogues from terpenic cyclanones. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *45* (2), 526-535.

55. Pang, Y. P.; Quiram, P.; Jelacic, T.; Hong, F.; Brimijoin, S., Highly potent, selective, and low cost bis-tetrahydroaminacrine inhibitors of acetylcholinesterase - Steps toward novel drugs for treating Alzheimer's disease. *Journal of Biological Chemistry* **1996**, *271* (39), 23646-23649.
56. Li, W. M.; Mak, M.; Jiang, H. L.; Wang, Q. W.; Pang, Y. P.; Chen, K. X.; Han, Y. F., Novel Anti-Alzheimer's dimer bis(7)-cognitin: Cellular and molecular mechanisms of neuroprotection through multiple targets. *Neurotherapeutics* **2009**, *6* (1), 187-201.
57. Marco-Contelles, J.; Perez-Mayoral, E.; Samadi, A.; Carreiras, M. D.; Soriano, E., Recent advances in the Friedlander reaction. *Chemical Reviews* **2009**, *109* (6), 2652-2671.
58. Lopes, J. P. B.; da Costa, J. S.; Ceschi, M. A.; Goncalves, C. A. S.; Konrath, E. L.; Karl, A. L. M.; Guedes, I. A.; Dardenne, L. E., Chiral bistacrine analogues: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity and a molecular modeling approach. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2017**, *28* (11), 2218-2228.
59. Heller, L.; Kahnt, M.; Loesche, A.; Grabandt, P.; Schwarz, S.; Brandt, W.; Csuk, R., Amino derivatives of platanic acid act as selective and potent inhibitors of butyrylcholinesterase. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *126*, 652-668.
60. Yamazaki, D. A. S.; Candido, A. A.; Bagatin, M. C.; Machinski, M.; Mossini, S. A. G.; Pontes, R. M.; Rosa, F. A.; Basso, E. A.; Gauze, G. F., Cholinesterases inhibition by novel *cis*- and *trans*-3-arylamino-cyclohexyl *N,N*-dimethylcarbamates: biological evaluation and molecular modeling. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2016**, *27* (9), 1616-1625.
61. Unsal-Tan, O.; Ozadali-Sari, K.; Ayazgok, B.; Kucukkilinc, T. T.; Balkan, A., Novel 2-arylbenzimidazole derivatives as multi-targeting agents to treat Alzheimer's disease. *Medicinal Chemistry Research* **2017**, *26* (7), 1506-1515.
62. Yu, Q. S.; Holloway, H. W.; Flippen-Anderson, J. L.; Hoffman, B.; Brossi, A.; Greig, N. H., Methyl analogues of the experimental Alzheimer drug pheneserine: Synthesis and structure/activity relationships for acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory action. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *44* (24), 4062-4071.
63. Zha, X. M.; Lamba, D.; Zhang, L. L.; Lou, Y. H.; Xu, C. X.; Kang, D.; Chen, L.; Xu, Y. G.; Zhang, L. Y.; De Simone, A.; Samez, S.; Pesaresi, A.; Stojan, J.; Lopez, M. G.; Egea, J.; Andrisano, V.; Bartolini, M., Novel tacrine-benzofuran hybrids as potent multitarget-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease: Design, synthesis, biological evaluation, and X-ray crystallography. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (1), 114-131.
64. Najafi, Z.; Mahdavi, M.; Saeedi, M.; Karimpour-Razkenari, E.; Asatouri, R.; Vafadarnejad, F.; Farshad, H. M.; Khanavi, M.; Sharifzadeh, M.; Akbarzadeh, T., Novel tacrine-1,2,3-triazole hybrids: In vitro, in vivo biological evaluation and docking study of cholinesterase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *125*, 1200-1212.
65. Spilovska, K.; Korabecny, J.; Kral, J.; Horova, A.; Musilek, K.; Soukup, O.; Drtinova, L.; Gazova, Z.; Siposova, K.; Kuca, K., 7-Methoxytacrine-adamantylamine heterodimers as cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease treatment - Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies. *Molecules* **2013**, *18* (2), 2397-2418.

66. Rudy, C. C.; Hunsberger, H. C.; Weitzner, D. S.; Reed, M. N., The role of the tripartite glutamatergic synapse in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Aging and Disease* **2015**, 6 (2), 131-148.
67. Parsons, C. G.; Stoffler, A.; Danysz, W., Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system - Too little activation is bad, too much is even worse. *Neuropharmacology* **2007**, 53 (6), 699-723.
68. Prybylowski, K.; Wenthold, R. J., N-methyl-D-aspartate receptors: Subunit assembly and trafficking to the synapse. *Journal of Biological Chemistry* **2004**, 279 (11), 9673-9676.
69. Rampa, A.; Belluti, F.; Gobbi, S.; Bisi, A., Hybrid-based multi-target ligands for the treatment of Alzheimer's disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2011**, 11 (22), 2716-2730.
70. Dolles, D.; Nimczick, M.; Scheiner, M.; Ramler, J.; Stadtmuller, P.; Sawatzky, E.; Drakopoulos, A.; Sottriffer, C.; Wittmann, H. J.; Strasser, A.; Decker, M., Aminobenzimidazoles and structural isomers as templates for dual-acting butyrylcholinesterase inhibitors and *hCB₂R* ligands to combat neurodegenerative disorders. *Chemmedchem* **2016**, 11 (12), 1270-1283.
71. Li, S. Y.; Wang, X. B.; Kong, L. Y., Design, synthesis and biological evaluation of imine resveratrol derivatives as multi-targeted agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 71, 36-45.
72. Su, T.; Xie, S. S.; Wei, H.; Yan, J.; Huang, L.; Li, X. S., Synthesis and biological evaluation of berberine-thiophenyl hybrids as multi-functional agents: Inhibition of acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and A beta aggregation and antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, 21 (18), 5830-5840.
73. Pan, L. F.; Wang, X. B.; Xie, S. S.; Li, S. Y.; Kong, L. Y., Multitarget-directed resveratrol derivatives: anti-cholinesterases, anti-beta-amyloid aggregation and monoamine oxidase inhibition properties against Alzheimer's disease. *Medchemcomm* **2014**, 5 (5), 609-616.
74. Xie, S. S.; Lan, J. S.; Wang, X. B.; Jiang, N.; Dong, G.; Li, Z. R.; Wang, K. D. G.; Guo, P. P.; Kong, L. Y., Multifunctional tacrine-trolox hybrids for the treatment of Alzheimer's disease with cholinergic, antioxidant, neuroprotective and hepatoprotective properties. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 93, 42-50.
75. Wang, L.; Esteban, G.; Ojima, M.; Bautista-Aguilera, O. M.; Inokuchi, T.; Moraleda, I.; Iriepa, I.; Samadi, A.; Youdim, M. B. H.; Romero, A.; Soriano, E.; Herrero, R.; Fernandez, A. P. F.; Ricardo Martinez, M.; Marco-Contelles, J.; Unzeta, M., Donepezil + propargylamine + 8-hydroxyquinoline hybrids as new multifunctional metal-chelators, ChE and MAO inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 80, 543-561.
76. Thiratmatrakul, S.; Yenjai, C.; Waiwut, P.; Vajragupta, O.; Reubroycharoen, P.; Tohda, M.; Boonyarat, C., Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of novel tacrine-carbazole hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 75, 21-30.

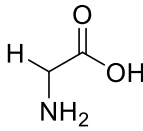
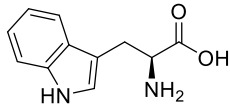
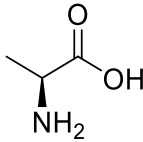
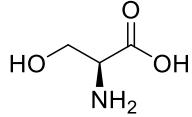
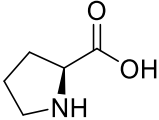
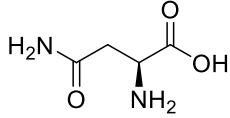
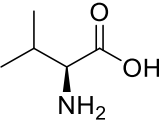
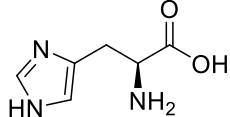
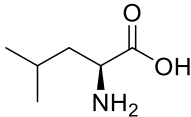
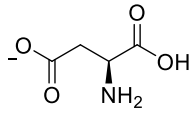
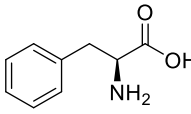
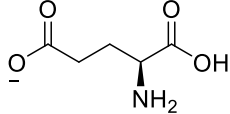
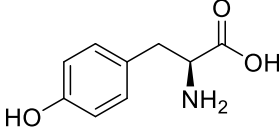
77. Bautista-Aguilera, O. M.; Esteban, G.; Bolea, I.; Nikolic, K.; Agbaba, D.; Moraleda, I.; Iriepa, I.; Samadi, A.; Soriano, E.; Unzeta, M.; Marco-Contelles, J., Design, synthesis, pharmacological evaluation, QSAR analysis, molecular modeling and ADMET of novel donepezil-indolyl hybrids as multipotent cholinesterase/monoamine oxidase inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *75*, 82-95.
78. da Costa, J. S.; Bizarro Lopes, J. P.; Russowsky, D.; Petzhold, C. L.; de Amorim Borges, A. C.; Ceschi, M. A.; Konrath, E.; Batassini, C.; Lunardi, P. S.; Saraiva Goncalves, C. A., Synthesis of tacrine-lophine hybrids via one-pot four component reaction and biological evaluation as acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *62*, 556-563.
79. Ceschi, M. A.; da Costa, J. S.; Lopes, J. P. B.; Camara, V. S.; Campo, L. F.; Borges, A. C. D.; Goncalves, C. A. S.; de Souza, D. F.; Konrath, E. L.; Karl, A. L. M.; Guedes, I. A.; Dardenne, L. E., Novel series of tacrine-tianeptine hybrids: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity, S10013 secretion and a molecular modeling approach. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *121*, 758-772.
80. Verma, A.; Joshi, S.; Singh, D., Imidazole: Having versatile biological activities. *Journal of Chemistry* **2013**, 1-22.
81. Cardoso, A. L.; Lemos, A.; Melo, T., Selective synthesis of tetrasubstituted 4-(tetrazol-5-yl)-1*H*-imidazoles from 2-(tetrazol-5-yl)-2*H*-azirines. *European Journal of Organic Chemistry* **2014**, (24), 5159-5165.
82. Arispe, N.; Diaz, J. C.; Flora, M., Efficiency of histidine-associating compounds for blocking the Alzheimer's A β channel activity and cytotoxicity. *Biophysical Journal* **2008**, *95* (10), 4879-4889.
83. Alves, J.; Boaro, A.; da Silva, J. S.; Ferreira, T. L.; Keslerek, V. B.; Cabral, C. A.; Orfao, R. B.; Ciscato, L.; Bartoloni, F. H., Lophine derivatives as activators in peroxyoxalate chemiluminescence. *Photochemical & Photobiological Sciences* **2015**, *14* (2), 320-328.
84. Hatano, S.; Abe, J., A peroxide-bridged imidazole dimer formed from a photochromic naphthalene-bridged imidazole dimer. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14* (16), 5855-5860.
85. Tsunenaga, M.; Iga, H.; Kimura, M., Location effect of an OH group on the chemiluminescence efficiency of 4-hydroperoxy-2-(*o*-, *m*-, or *p*-hydroxyphenyl)-4,5-diphenyl-4*H*-isoimidazoles. *Tetrahedron Letters* **2005**, *46* (11), 1877-1880.
86. Nakashima, K., Lophine derivatives as versatile analytical tools. *Biomedical Chromatography* **2003**, *17* (2-3), 83-95.
87. Orfao, R. B.; Alves, J.; Bartoloni, F. H., Spectroscopic studies on the interaction of metallic ions with an imidazolyl-phenolic system. *Journal of Fluorescence* **2016**, *26* (4), 1373-1380.
88. Rani, N.; Sharma, A.; Singh, R., Trisubstituted imidazole synthesis: A review. *Mini-Reviews in Organic Chemistry* **2015**, *12* (1), 34-65.
89. Munoz, J. A. H.; Junior, J. J.; da Silva, F. M., Radziszewski reaction: An elegant, easy, simple and efficient method to synthesise imidazoles. *Current Organic Synthesis* **2014**, *11* (6), 824-834.

90. Heravi, M. M.; Derikvand, F.; Bamoharram, F. F., Highly efficient, four-component one-pot synthesis of tetrasubstituted imidazoles using Keggin-type heteropolyacids as green and reusable catalysts. *Journal of Molecular Catalysis a-Chemical* **2007**, *263* (1-2), 112-114.
91. Balalaie, S.; Arabanian, A., One-pot synthesis of tetrasubstituted imidazoles catalyzed by zeolite HY and silica gel under microwave irradiation. *Green Chemistry* **2000**, *2* (6), 274-276.
92. 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 Letters* **2008**, *49* (14), 2216-2220.
93. da Costa, J. S. Síntese de compostos híbridos tacrina-lofina, tacrina-tianeptina e dímeros bis(n)-lofinas com potencial aplicação no tratamento da doença de Alzheimer. Universidade federal do Rio Grande do Sul, 2014.
94. Dardonville, C.; Fernandez-Fernandez, C.; Gibbons, S.-L.; Ryan, G. J.; Jagerovic, N.; Gabilondo, A. M.; Javier Meana, J.; Callado, L. F., Synthesis and pharmacological studies of new hybrid derivatives of fentanyl active at the mu-opioid receptor and I-2-imidazoline binding sites. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14* (19), 6570-6580.
95. Mao, F.; Huang, L.; Luo, Z.; Liu, A.; Lu, C.; Xie, Z.; Li, X., O-Hydroxyl- or o-amino benzylamine-tacrine hybrids: Multifunctional biometals chelators, antioxidants, and inhibitors of cholinesterase activity and amyloid-beta aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2012**, *20* (19), 5884-5892.
96. AbdelMagid, A. F.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A.; Shah, R. D., Reductive amination of aldehydes and ketones with sodium triacetoxyborohydride. Studies on direct and indirect reductive amination procedures. *Journal of Organic Chemistry* **1996**, *61* (11), 3849-3862.
97. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S., *Organic chemistry*. 2nd ed.; Oxford University Press: 2012.
98. Borch, R. F.; Bernstein, M. D.; Durst, H. D., Cyano reducing agehydridoborate anion as a selective agent. *Journal of the American Chemical Society* **1971**, *93* (12), 2897-2904.
99. Branco, F. S. C.; Silva, B. V.; do Rio, G. F.; Santana, M. J.; Queiroz Jr, L. H. K.; Pinto, A. C.; Boechat, N.; Lião, L. M., Ressonância magnética de substâncias organofluoradas: Um desafio no ensino de espectroscopia. *Química Nova* **2015**, *38* (9), 1237-1246.
100. Pavia, D. L.; Lampman, G., M; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R., *Introdução à espectroscopia*. 4 th ed.; Cengage Learning: São Paulo, 2010.
101. Stevenson, P. J., Second-order NMR spectra at high field of common organic functional groups. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2011**, *9* (7), 2078-2084.
102. Gunther, H., ¹H-NMR spectra of the AA'XX' and AA'BB' type - Analysis and classification. *Angewandte Chemie-International Edition* **1972**, *11* (10), 861-948.
103. Dolbier Jr, W. R., *Guide to fluorine NMR for organic chemists*. 1st ed.; Wiley: New Jersey, 2009.

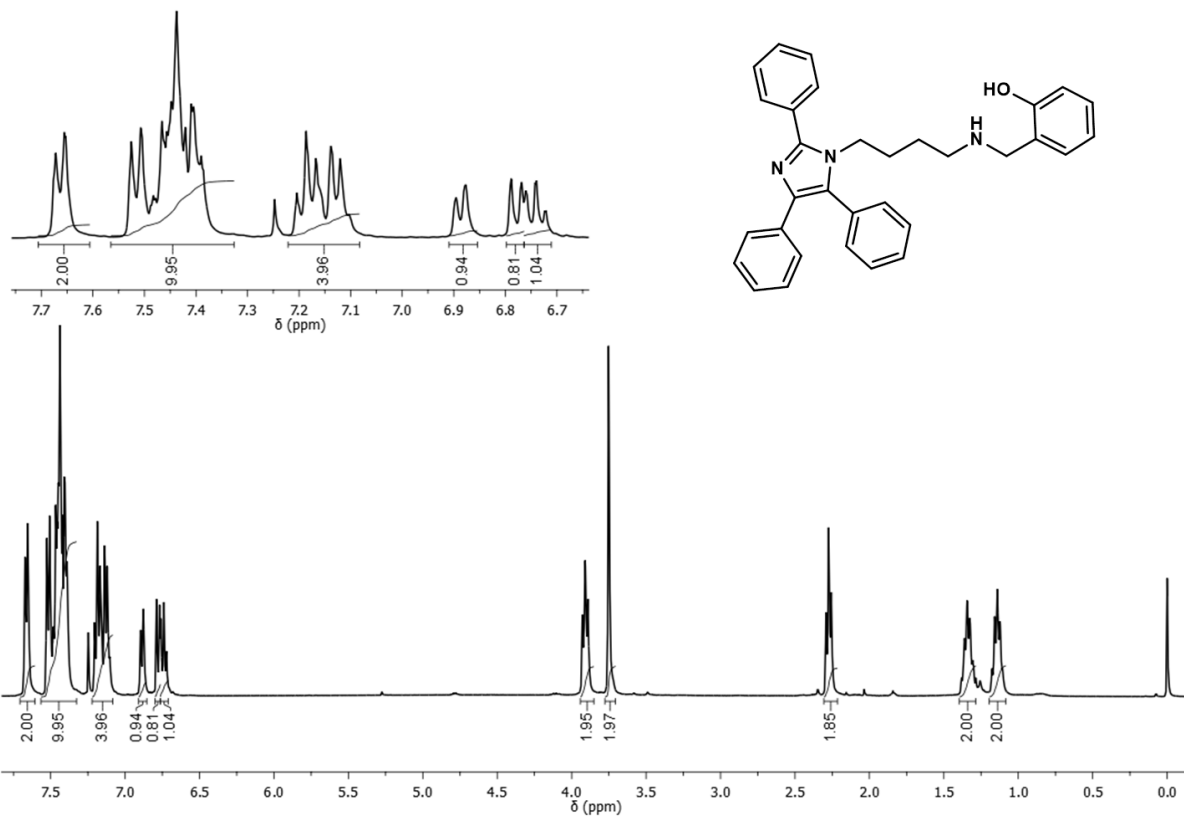
104. Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Featherstone, R. M., A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* **1961**, 7 (2), 88-95.
105. Worek, F.; Eyer, P.; Thiermann, H., Determination of acetylcholinesterase activity by the Ellman assay: A versatile tool for in vitro research on medical countermeasures against organophosphate poisoning. *Drug Testing and Analysis* **2012**, 4 (3-4), 282-291.
106. Miao, Y. Q.; He, N. Y.; Zhu, J. J., History and new developments of assays for cholinesterase activity and inhibition. *Chemical Reviews* **2010**, 110 (9), 5216-5234.
107. Bourne, Y.; Kolb, H. C.; Radic, Z.; Sharpless, K. B.; Taylor, P.; Marchot, P., Freeze-frame inhibitor captures acetylcholinesterase in a unique conformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2004**, 101 (6), 1449-1454.
108. Haviv, H.; Wong, D. M.; Greenblatt, H. M.; Carlier, P. R.; Pang, Y. P.; Silman, I.; Sussman, J. L., Crystal packing mediates enantioselective ligand recognition at the peripheral site of acetylcholinesterase. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127 (31), 11029-11036.
109. Rydberg, E. H.; Brumshtein, B.; Greenblatt, H. M.; Wong, D. M.; Shaya, D.; Williams, L. D.; Carlier, P. R.; Pang, Y. P.; Silman, I.; Sussman, J. L., Complexes of alkylene-linked tacrine dimers with *Torpedo californica* acetylcholinesterase: Binding of bis(5)-tacrine produces a dramatic rearrangement in the active-site gorge. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49 (18), 5491-5500.
110. Dighe, S. N.; Deora, G. S.; De la Mora, E.; Nachon, F.; Chan, S.; Parat, M. O.; Brazzolotto, X.; Ross, B. P., Discovery and structure-activity relationships of a highly selective butyrylcholinesterase inhibitor by structure-based virtual screening. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, 59 (16), 7683-7689.
111. Olsson, M. H. M.; Sondergaard, C. R.; Rostkowski, M.; Jensen, J. H., PROPKA3: Consistent treatment of internal and surface residues in empirical pK_a predictions. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2011**, 7 (2), 525-537.
112. Metrangolo, P.; Resnati, G., *Halogen bonding I. Impact on materials chemistry and life sciences*. 1st ed.; Springer: Suiça, 2015.

ANEXOS

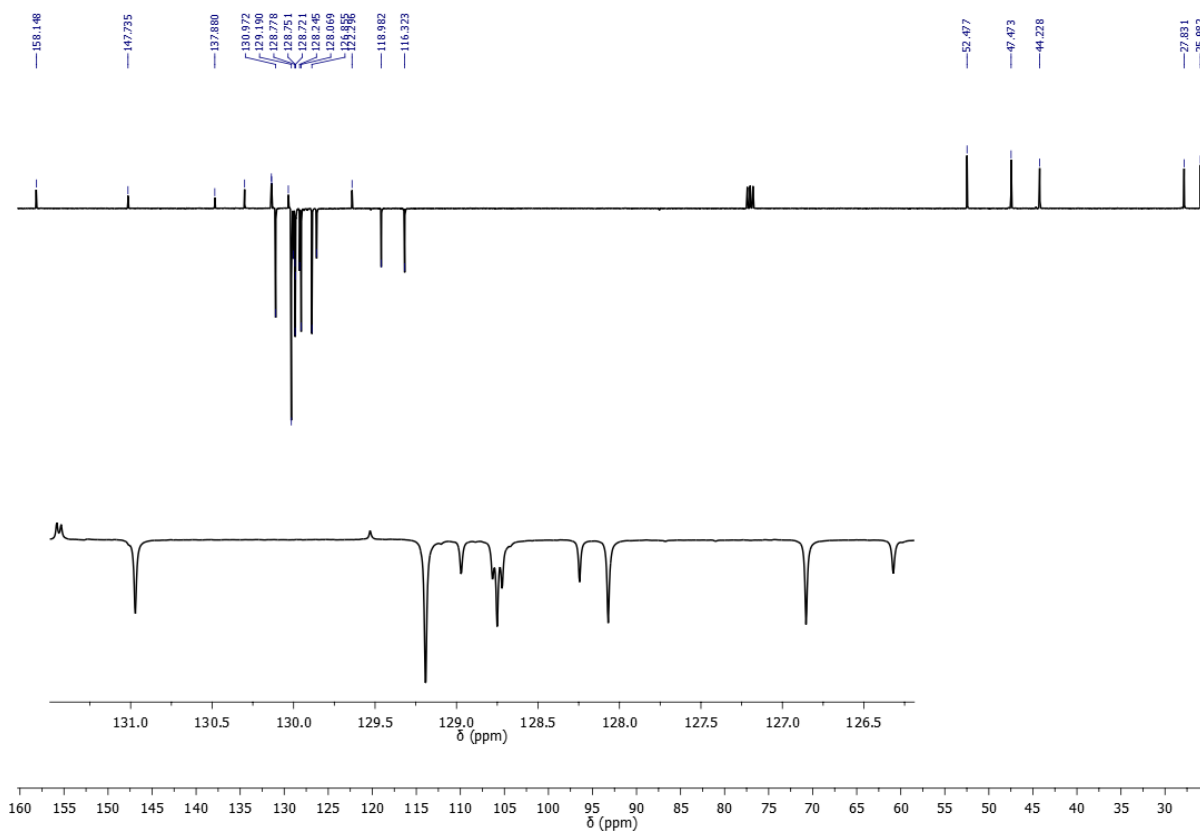
Tabela de aminoácidos

Aminoácido	Abreviatura	Estrutura	Aminoácido	Abreviatura	Estrutura
Glicina	Gly		Triptofano	Trp	
Alanina	Ala		Serina	Ser	
Prolina	Pro		Asparagina	Asn	
Valina	Val		Histidina	His	
Leucina	Leu		Aspartato	Asp	
Fenilalanina	Phe		Glutamato	Glu	
Tirosina	Tyr				

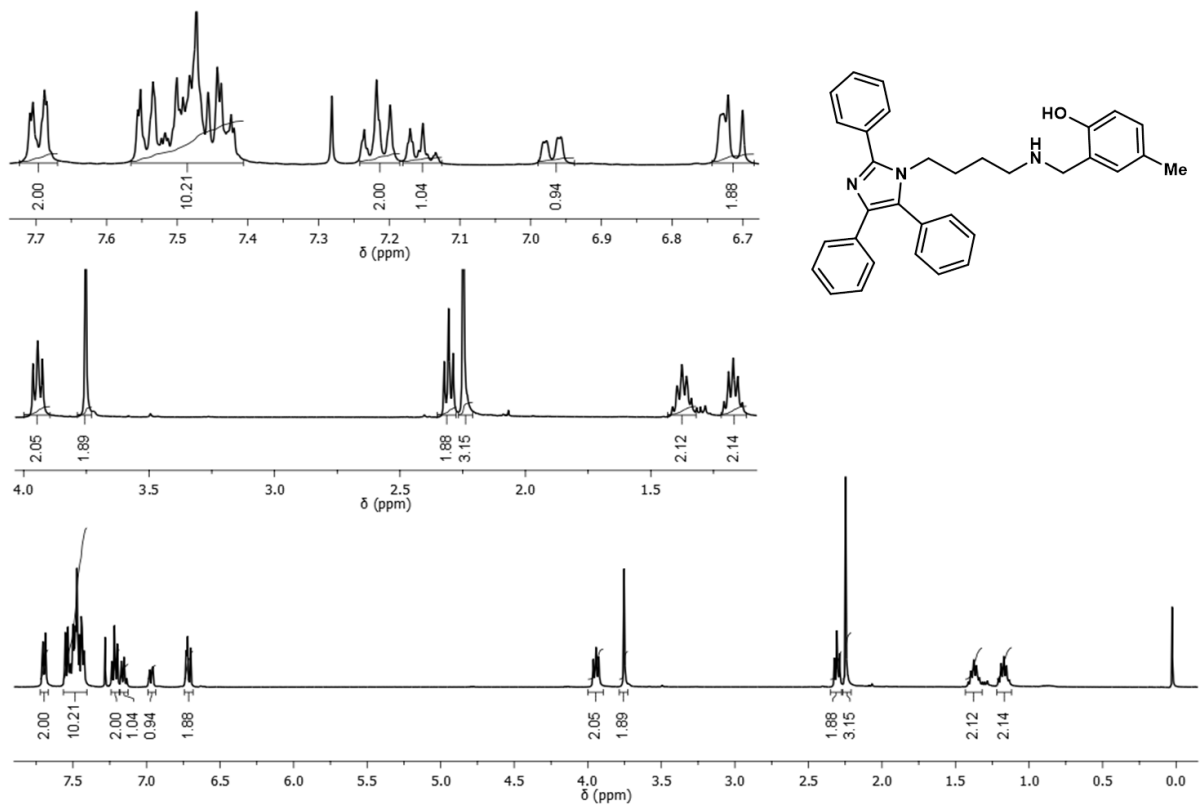
Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos Híbridos 15-19



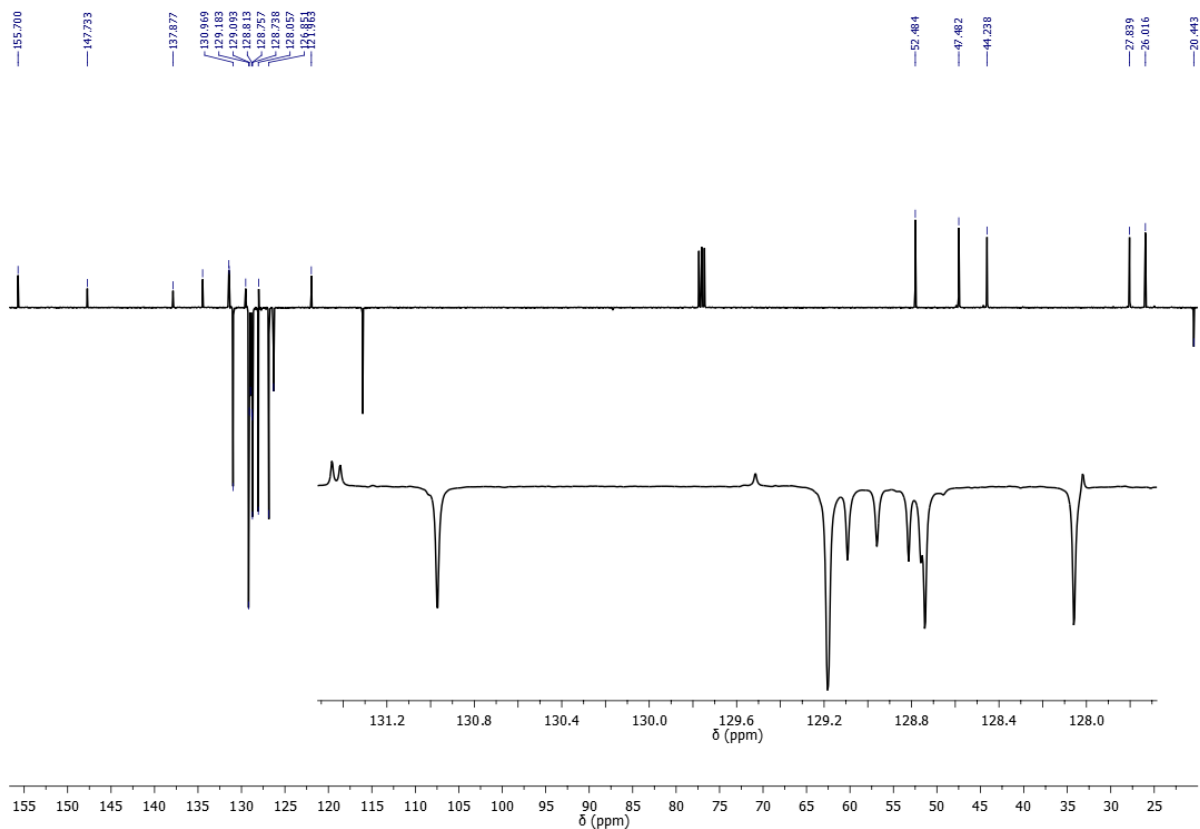
Anexo 1: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto 15a



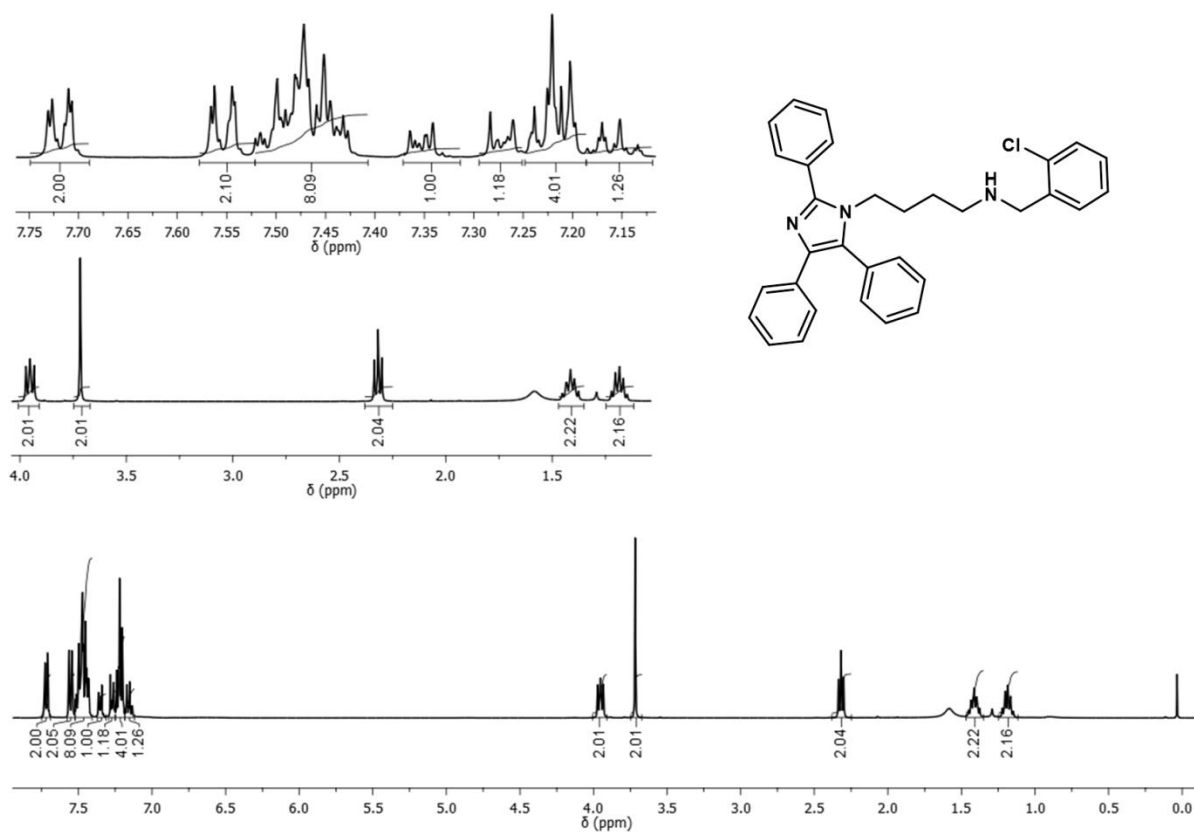
Anexo 2: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto 15a



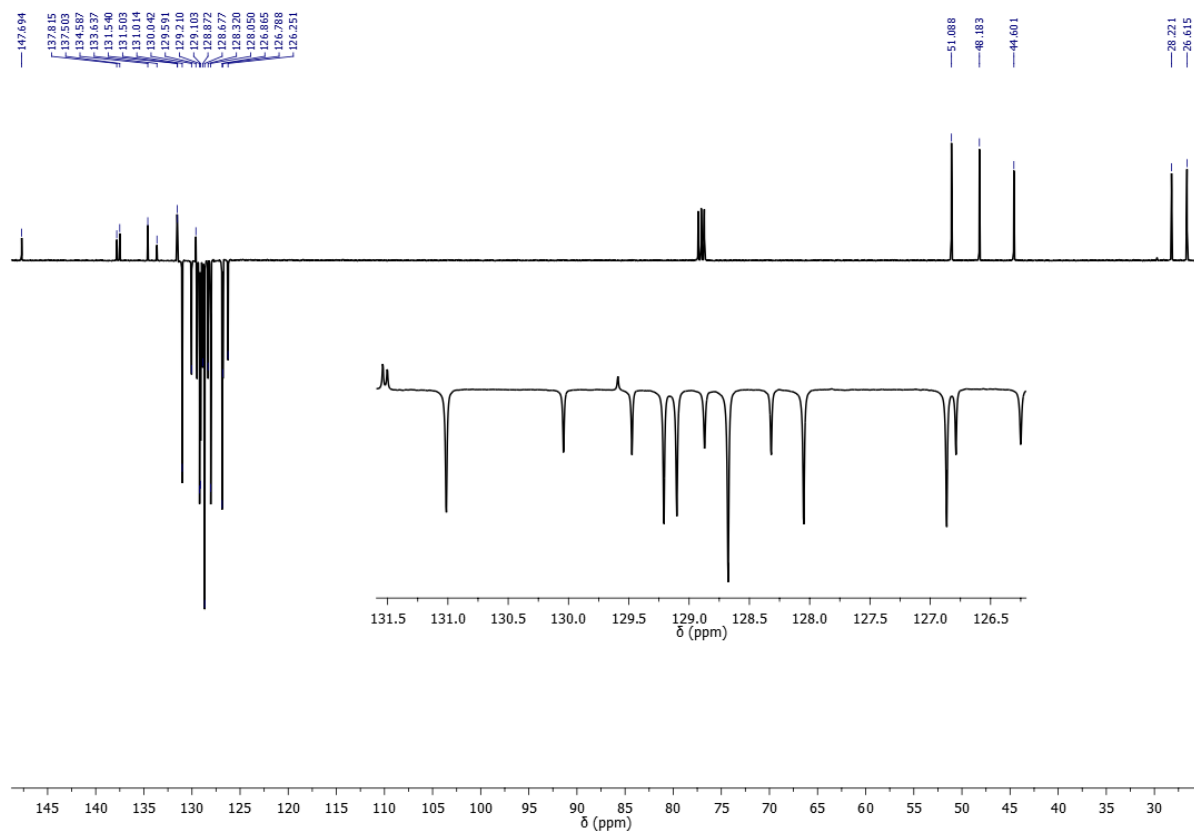
Anexo 3: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **15b**



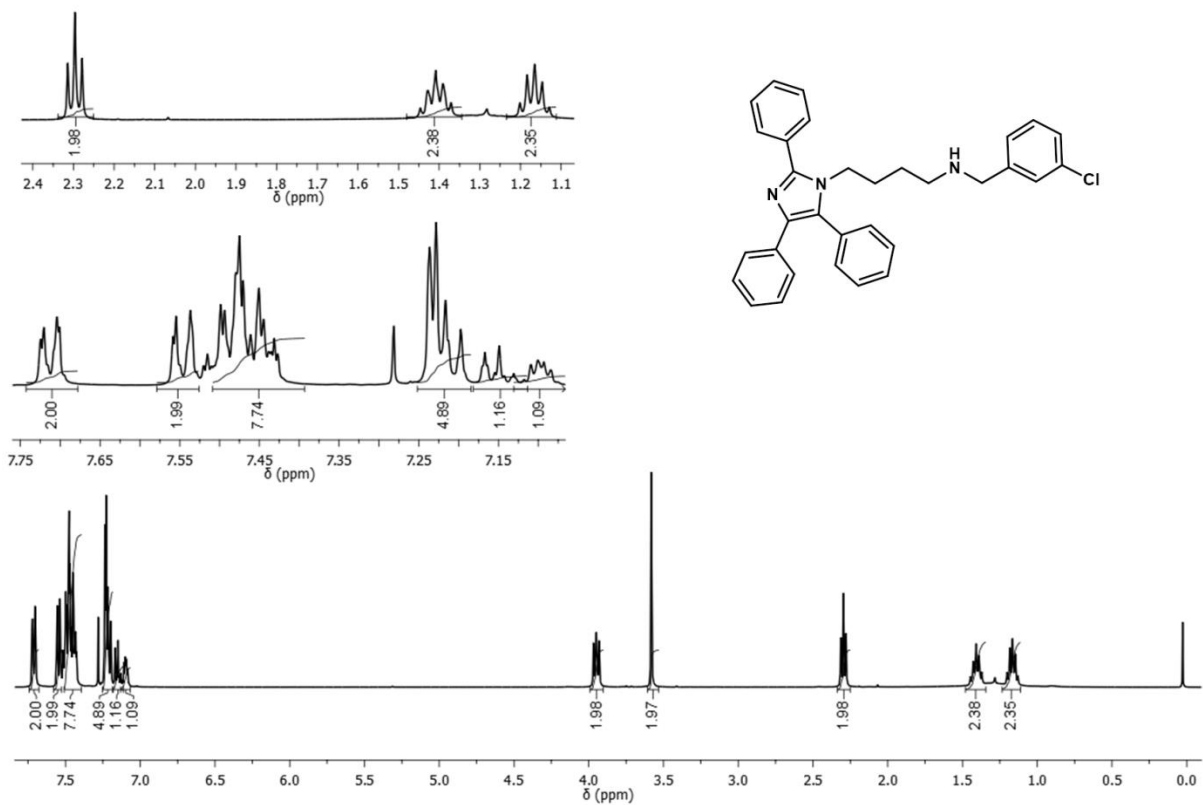
Anexo 4: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **15b**



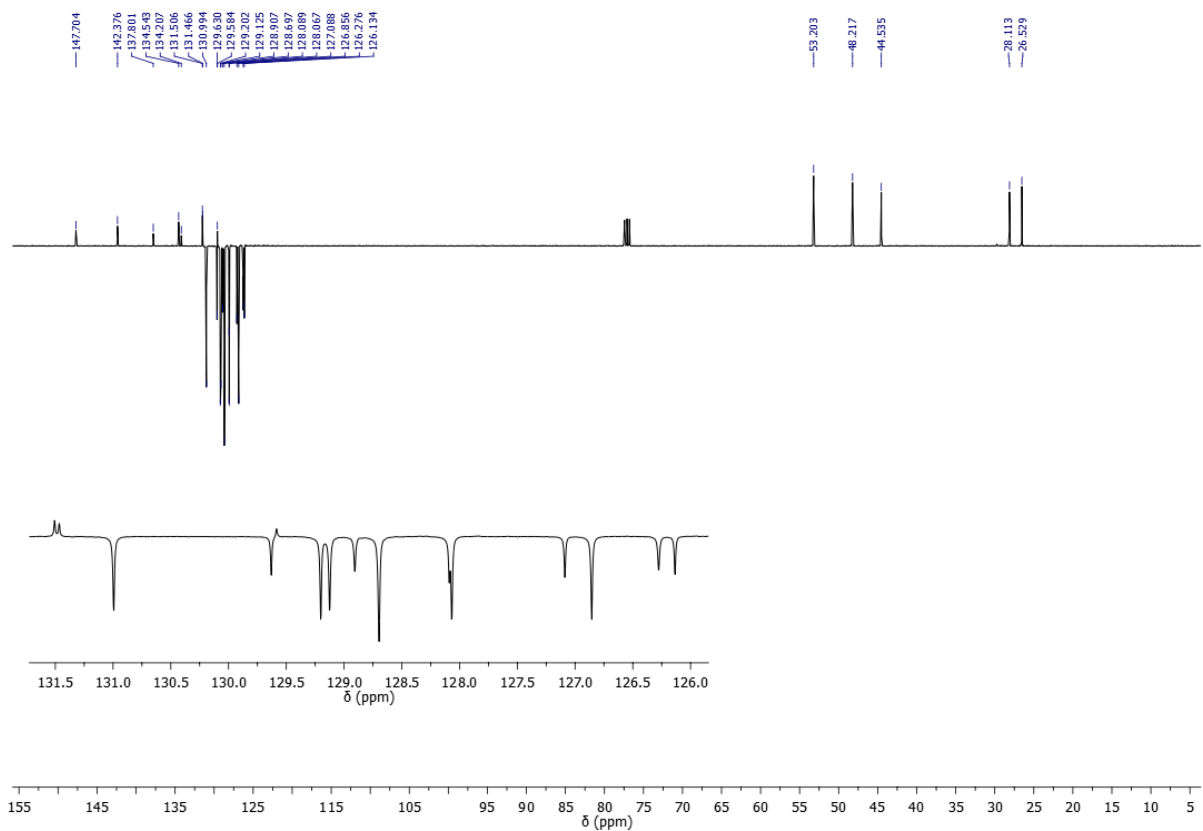
Anexo 5: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **15c**



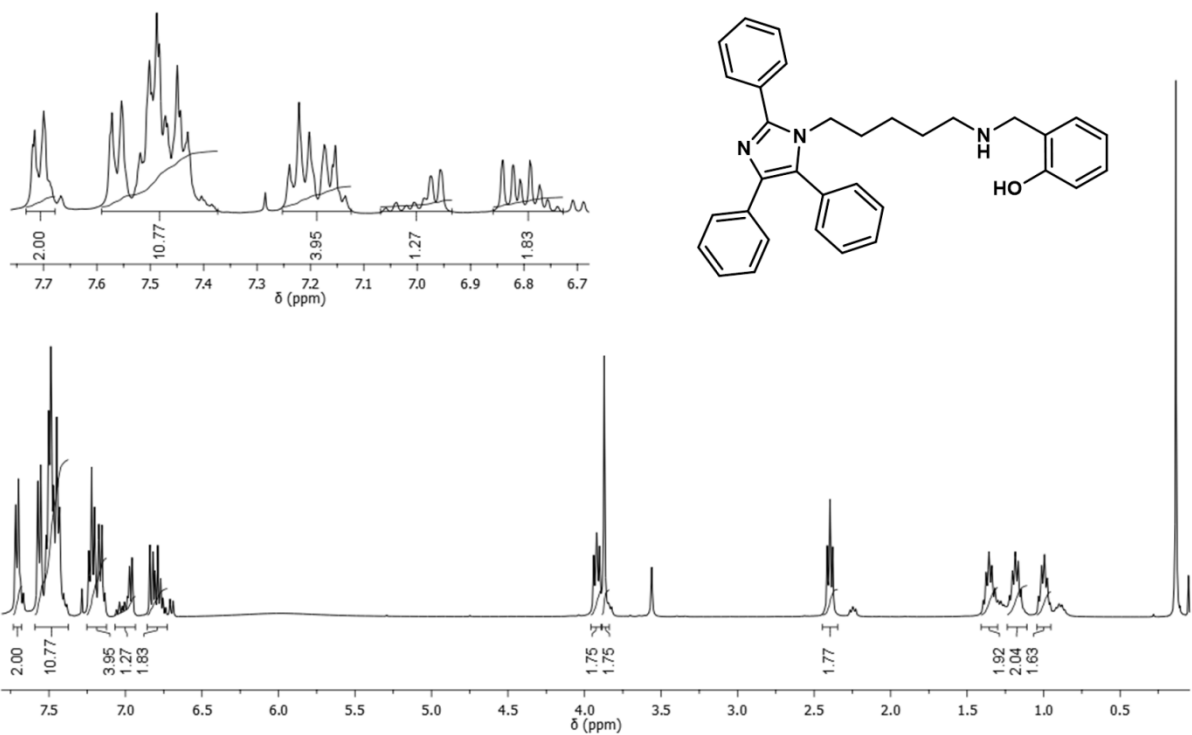
Anexo 6: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **15c**



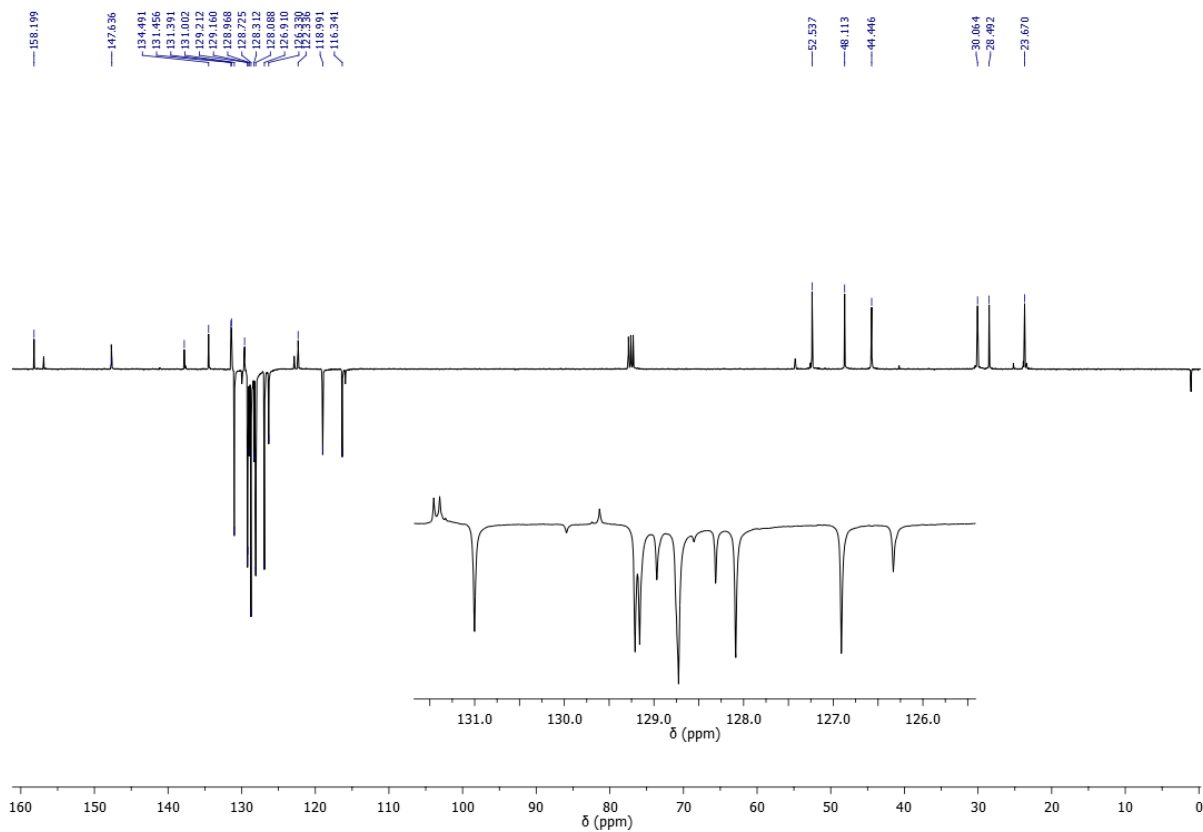
Anexo 7: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **15d**



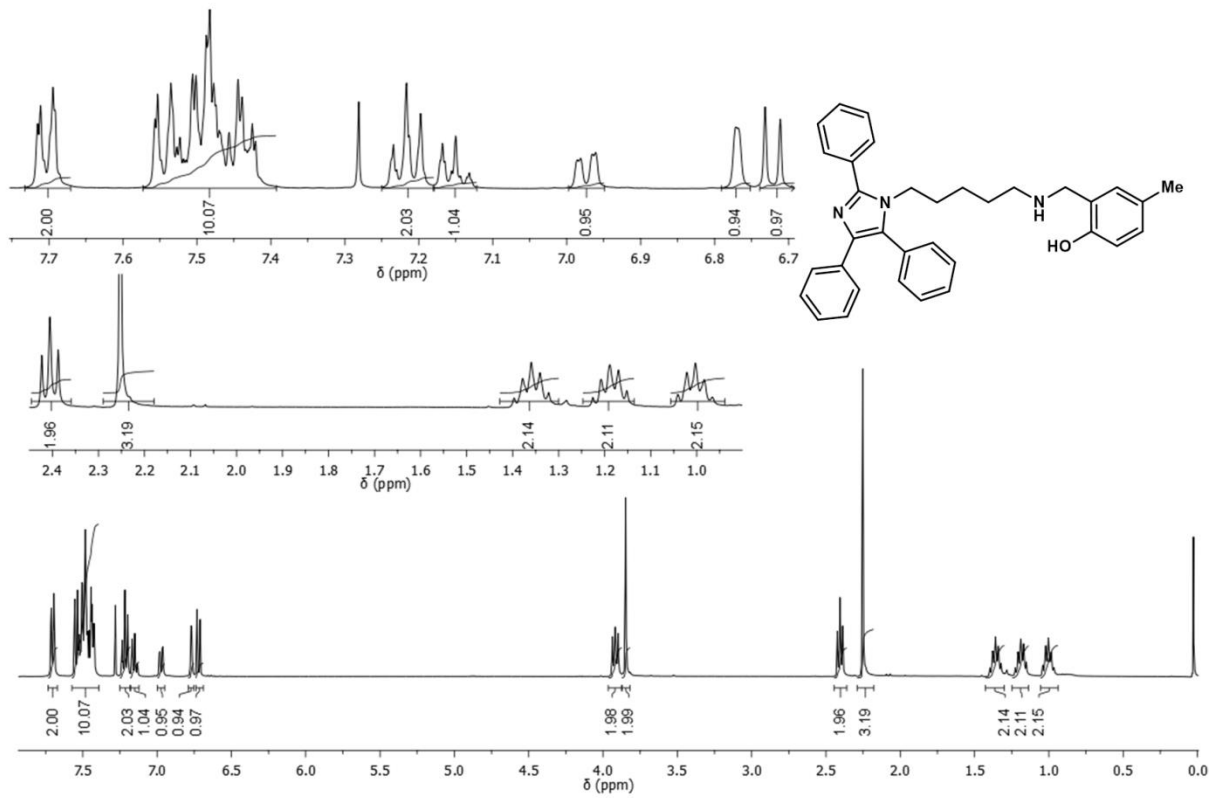
Anexo 8: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto **15d**



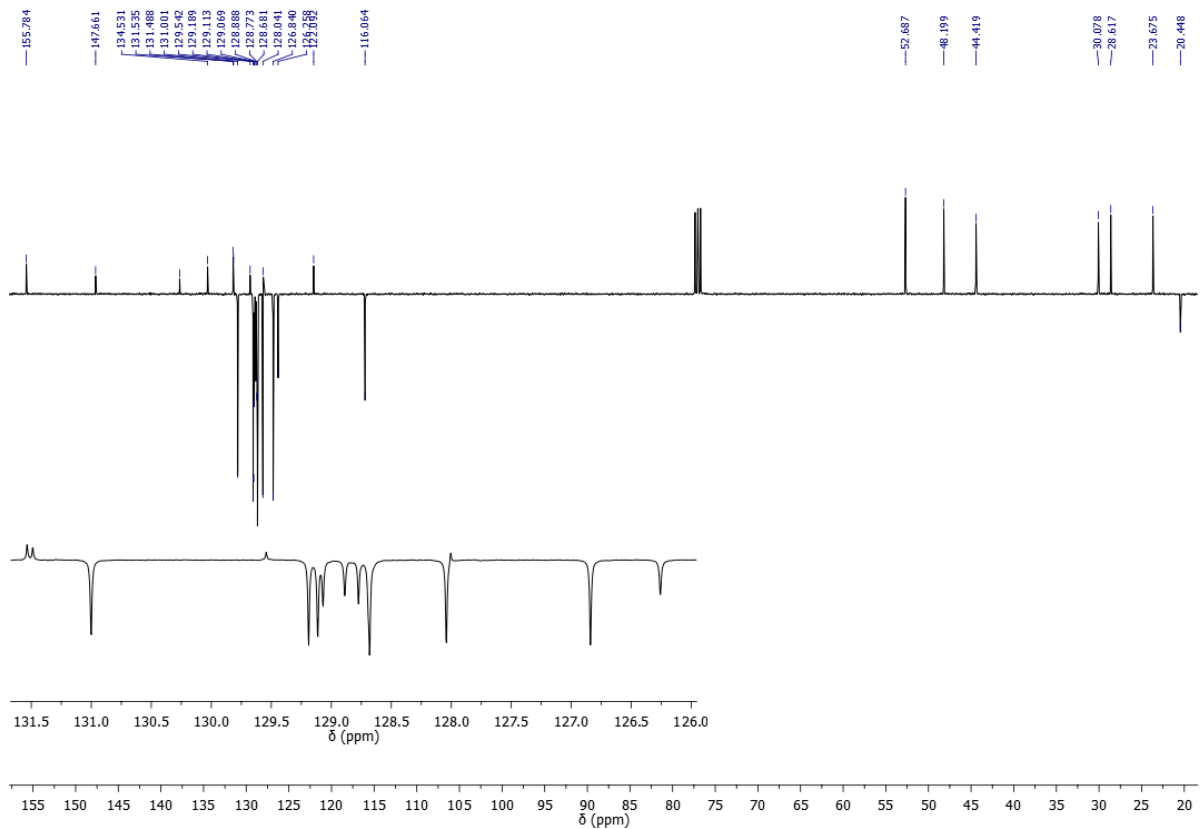
Anexo 11: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **16a**



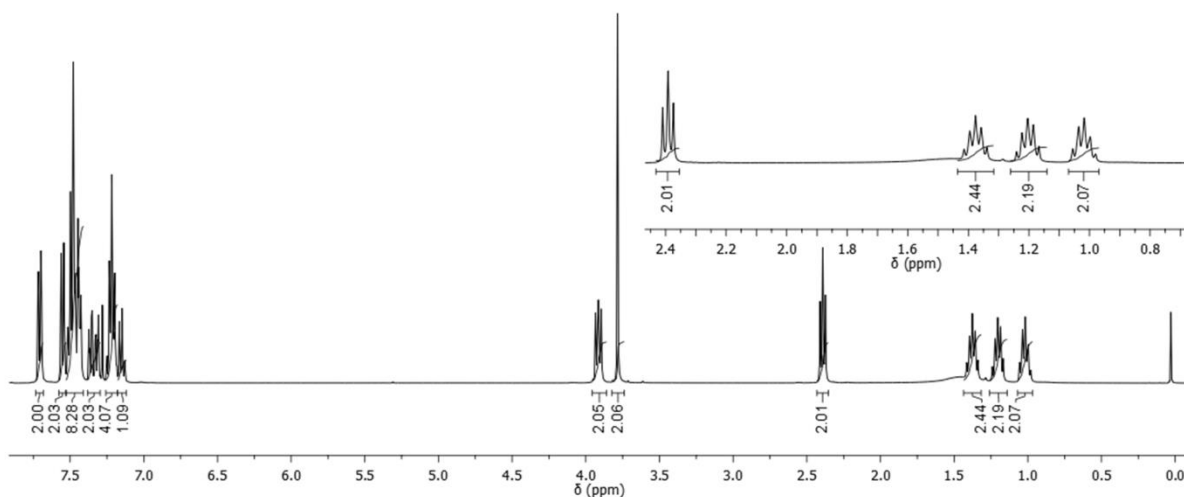
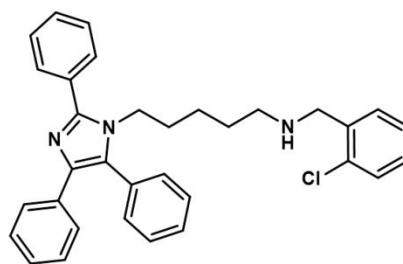
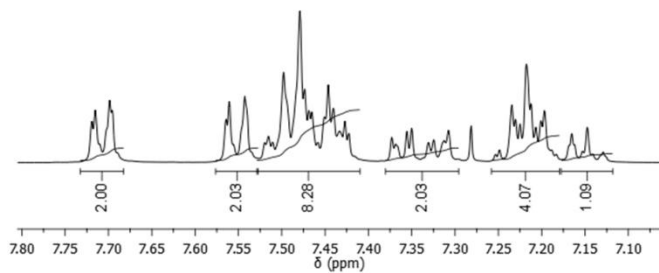
Anexo 12: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto **16a**



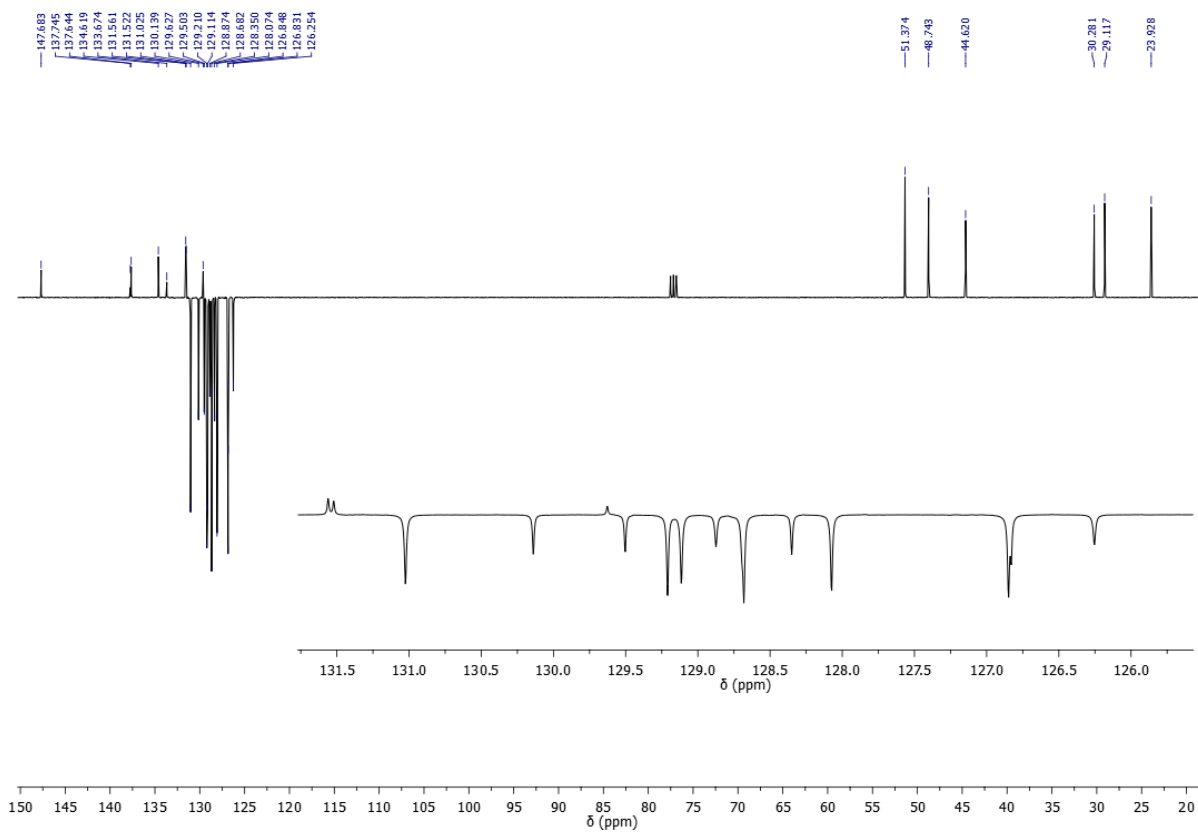
Anexo 13: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **16b**



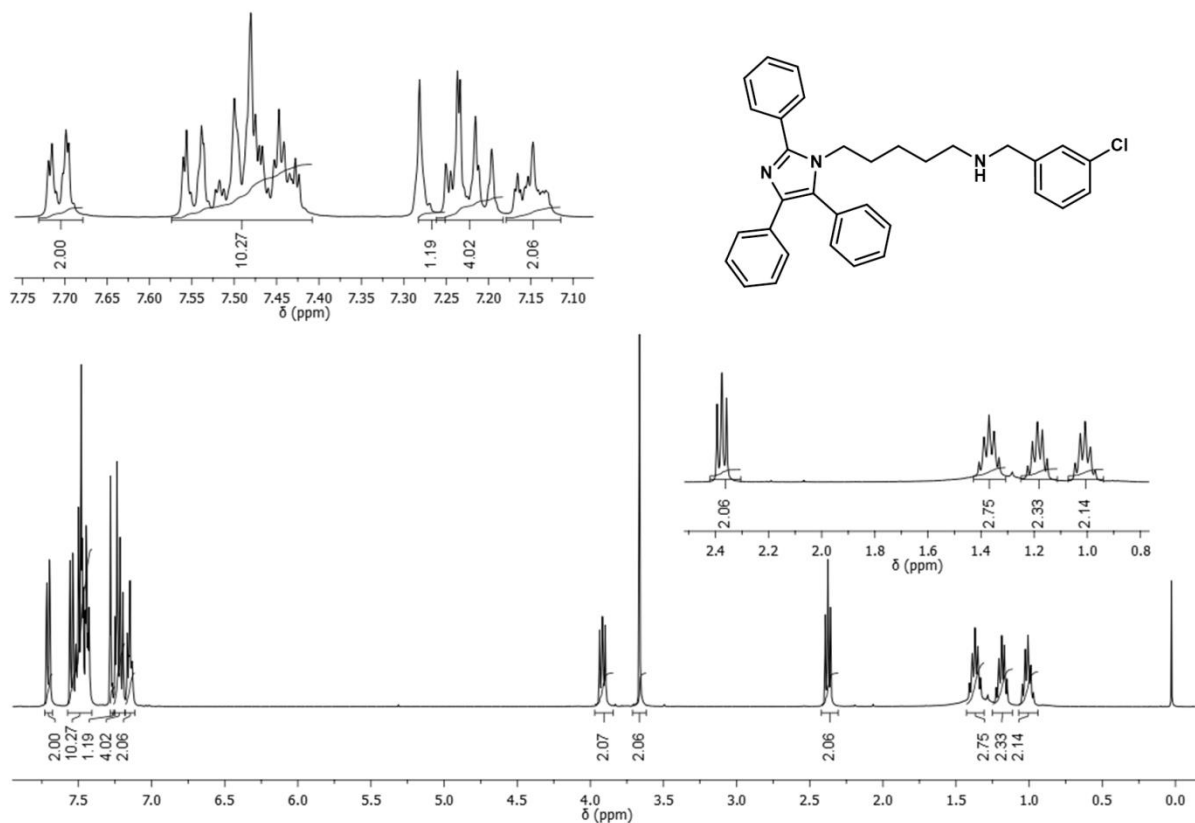
Anexo 14: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **16b**



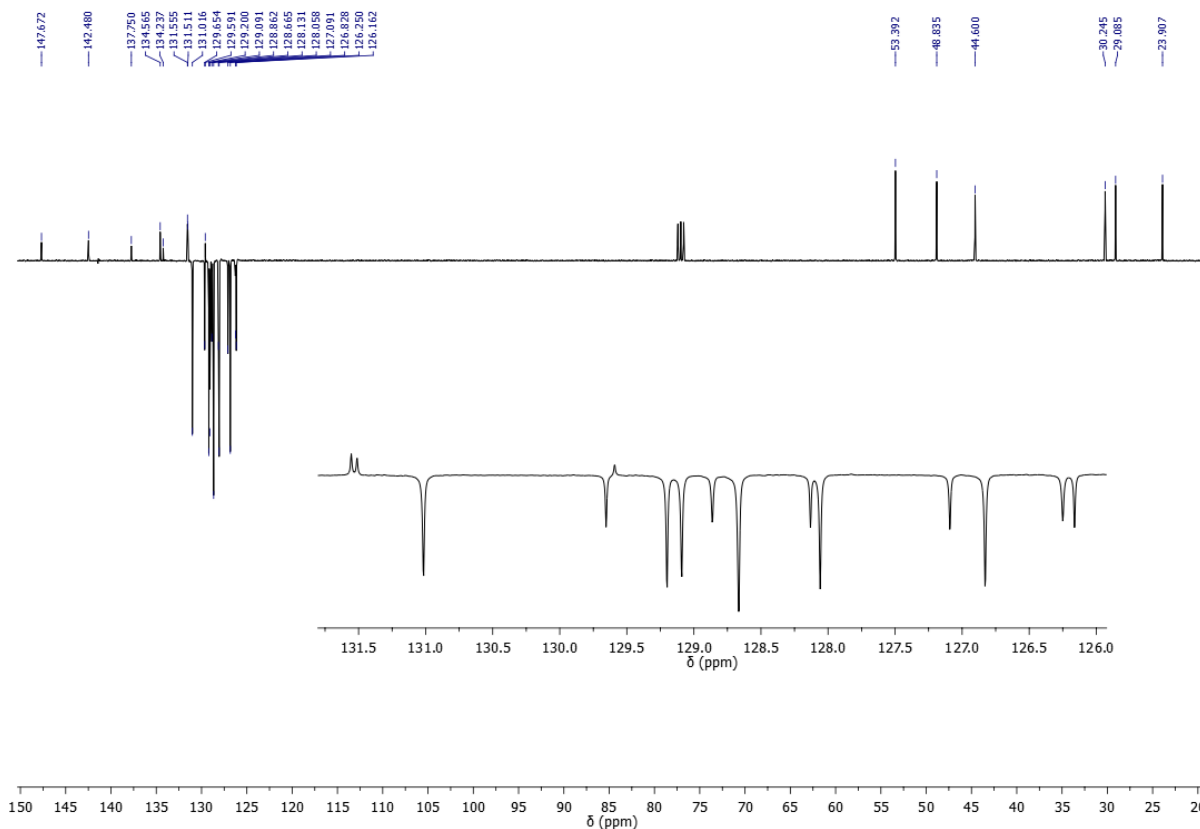
Anexo 15: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **16c**



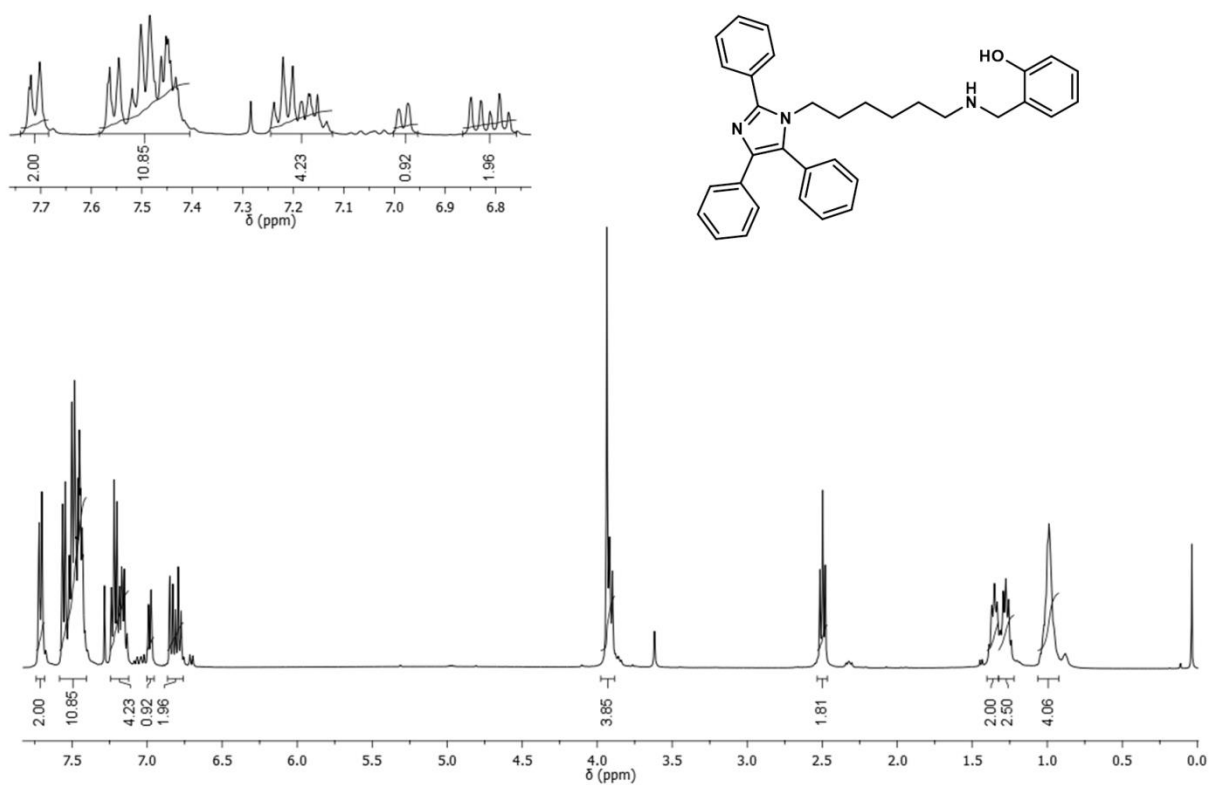
Anexo 16: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto **16c**



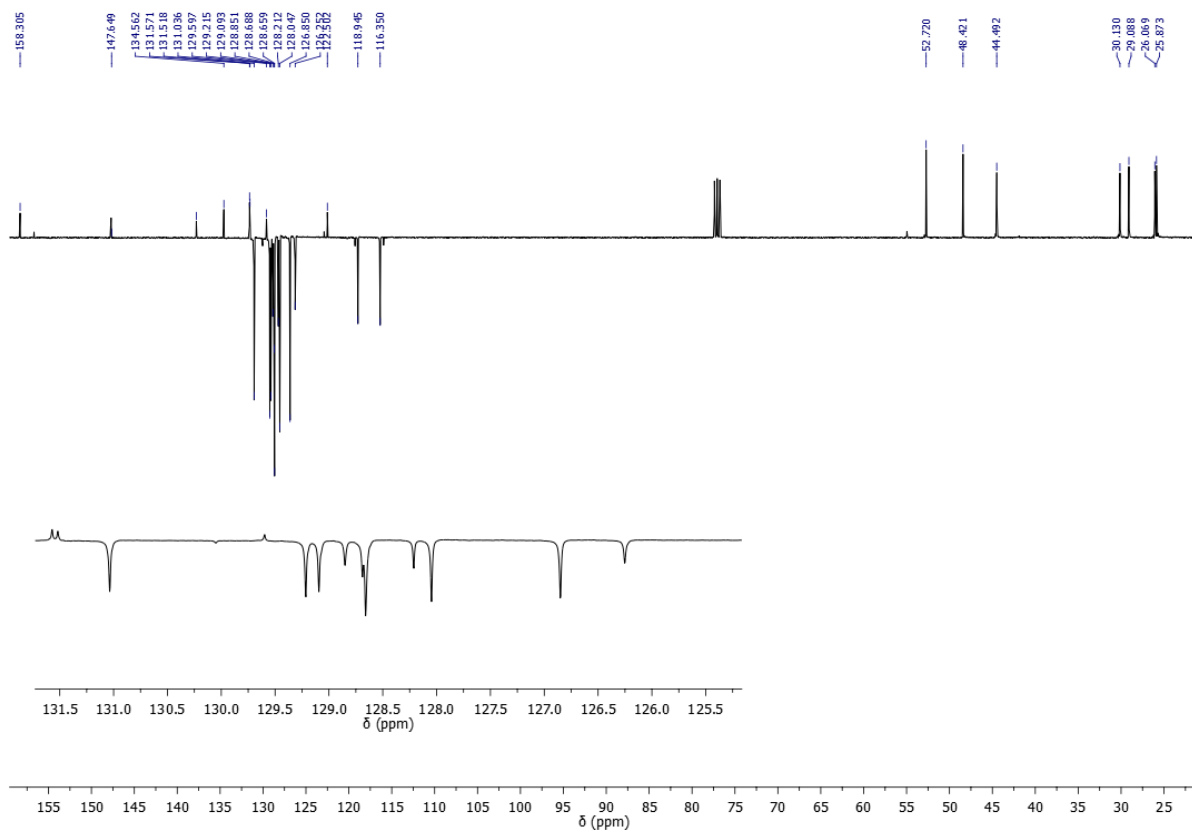
Anexo 17: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **16d**



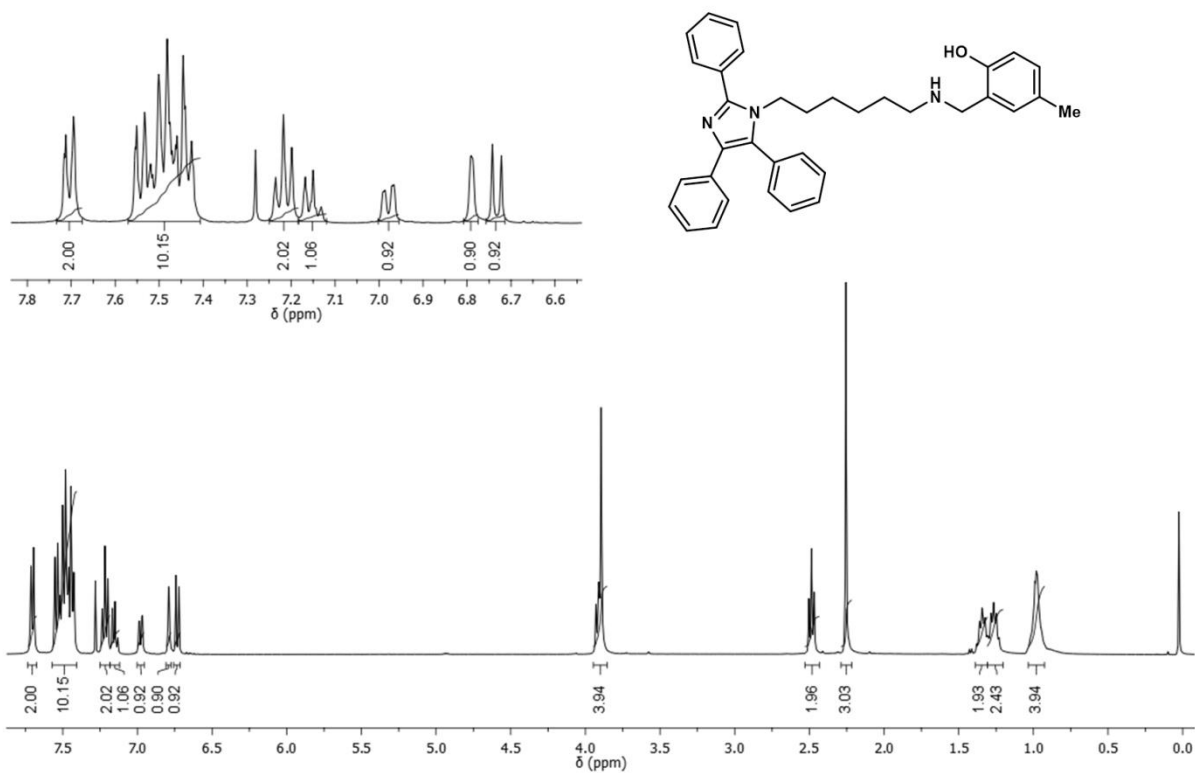
Anexo 18: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **16d**



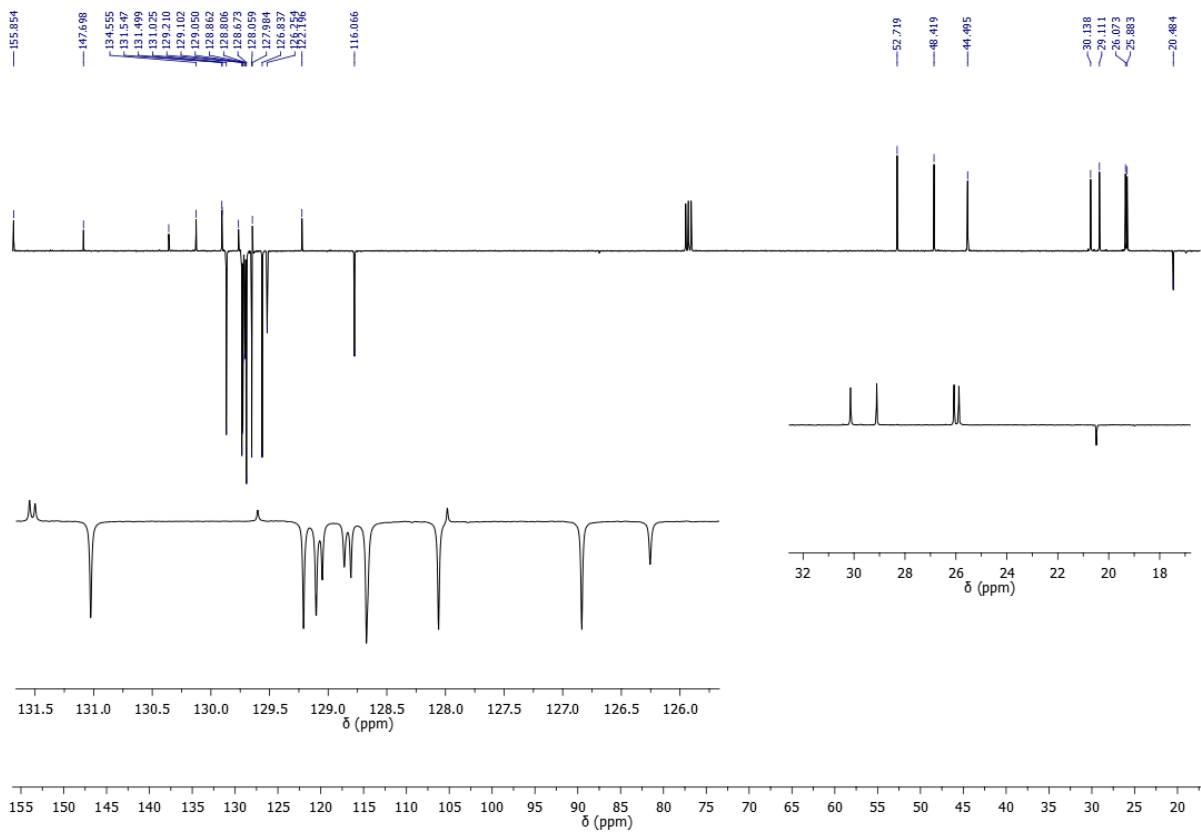
Anexo 21: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **17a**



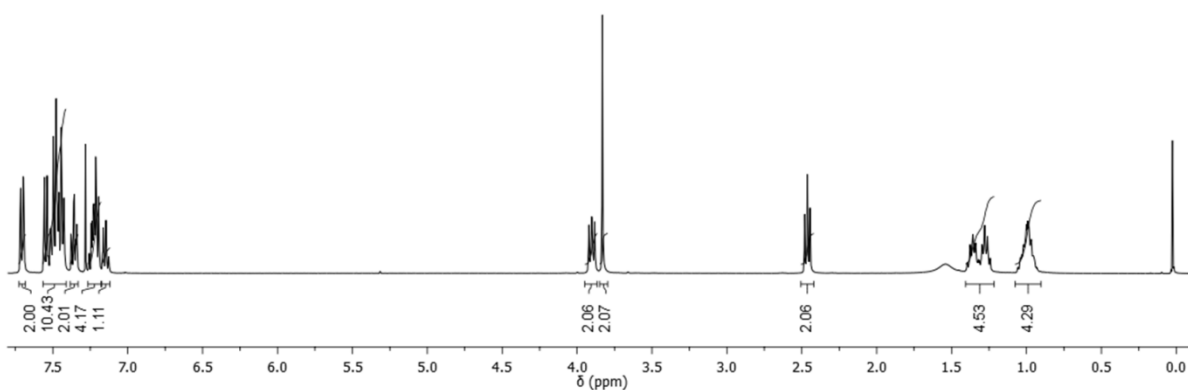
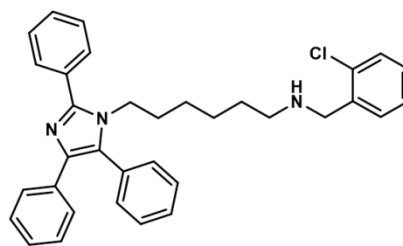
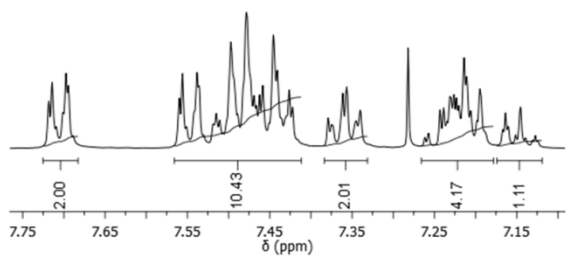
Anexo 22: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **17a**



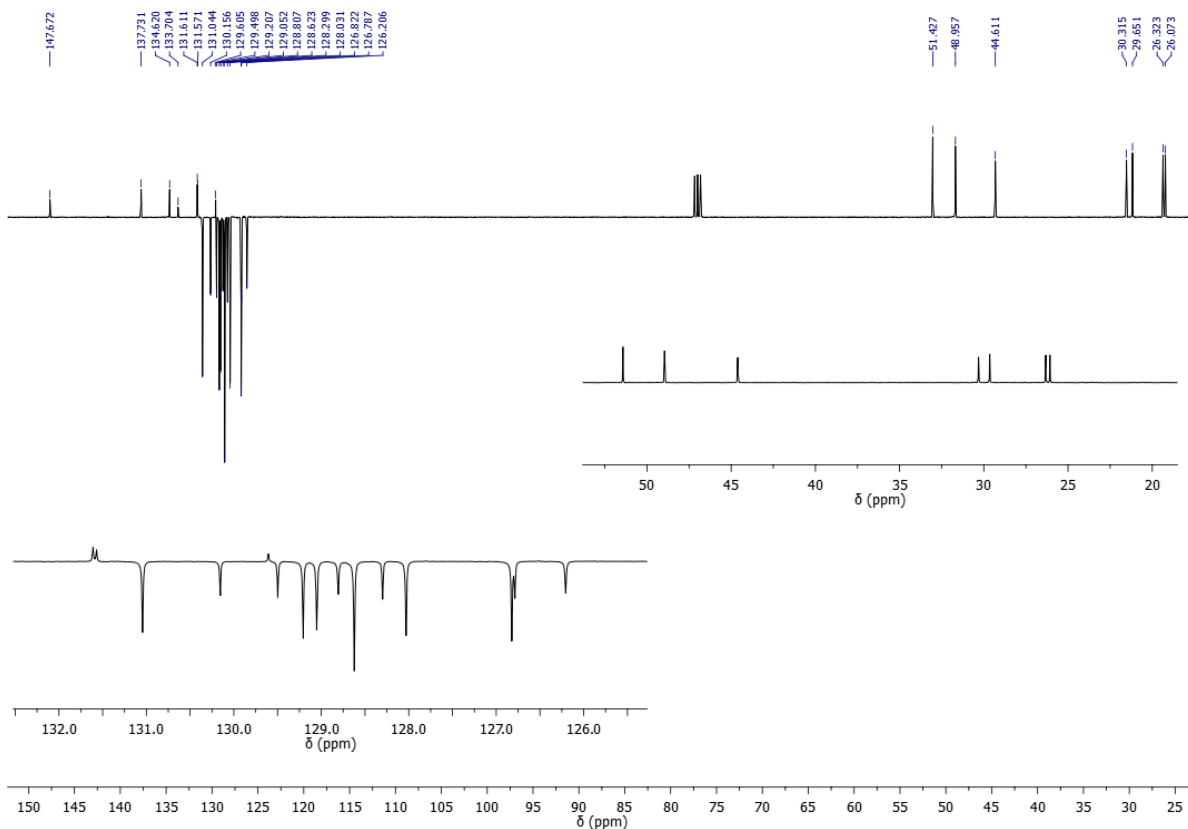
Anexo 23: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **17b**



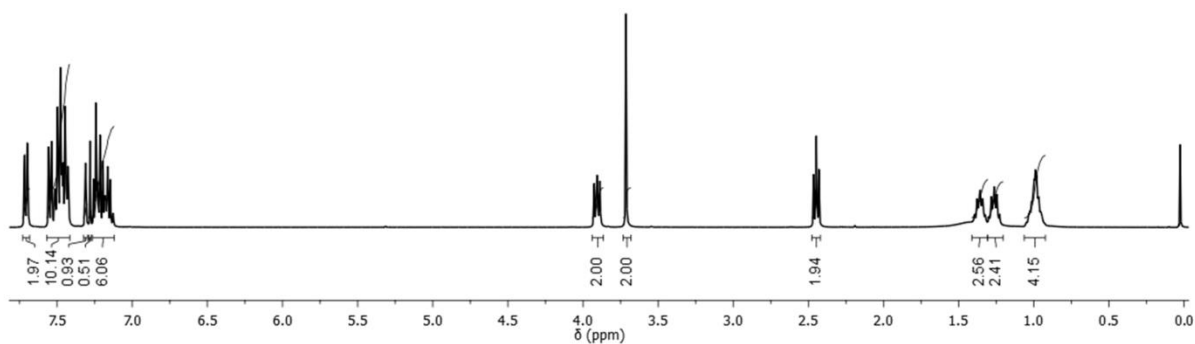
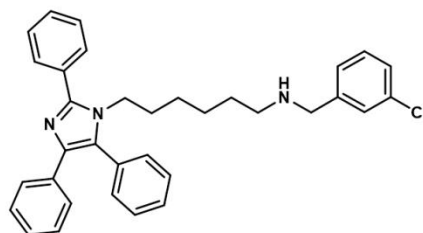
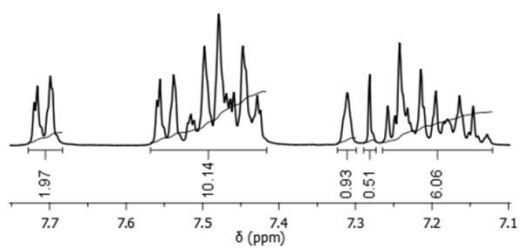
Anexo 24: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **17b**



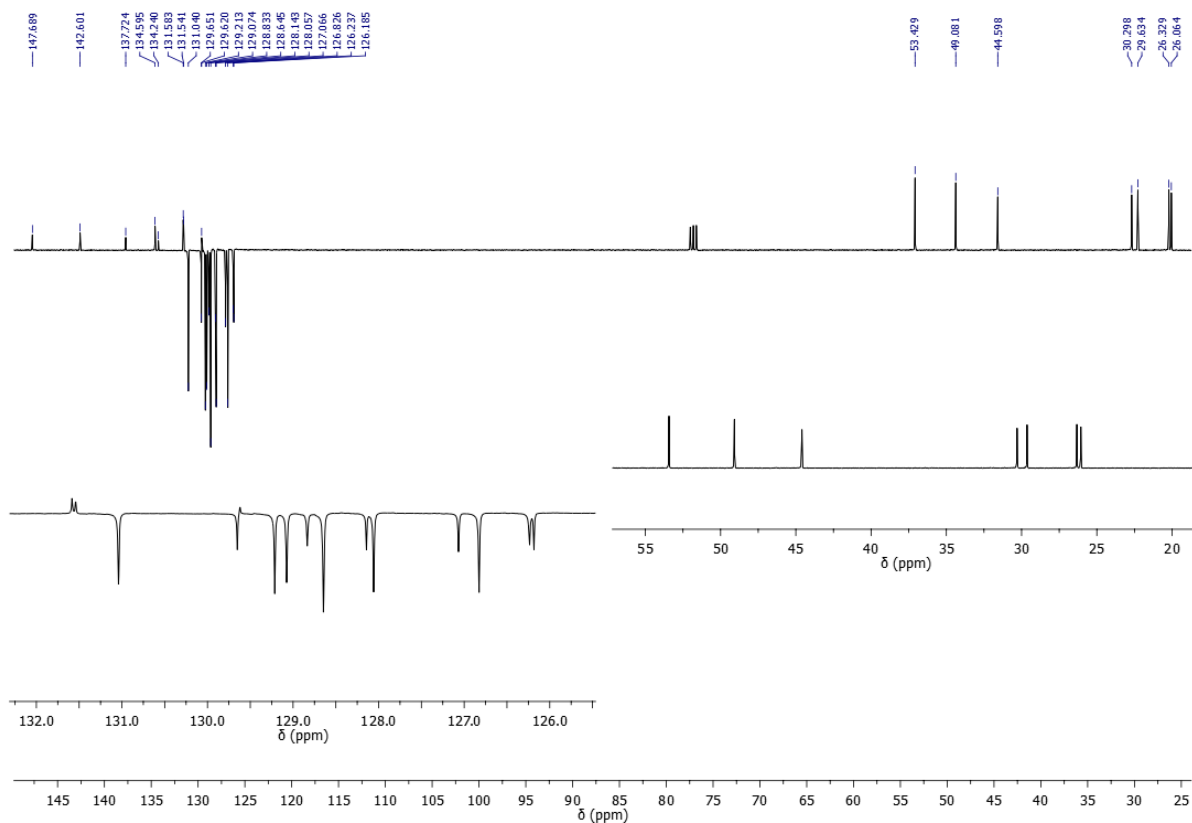
Anexo 25: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **17c**



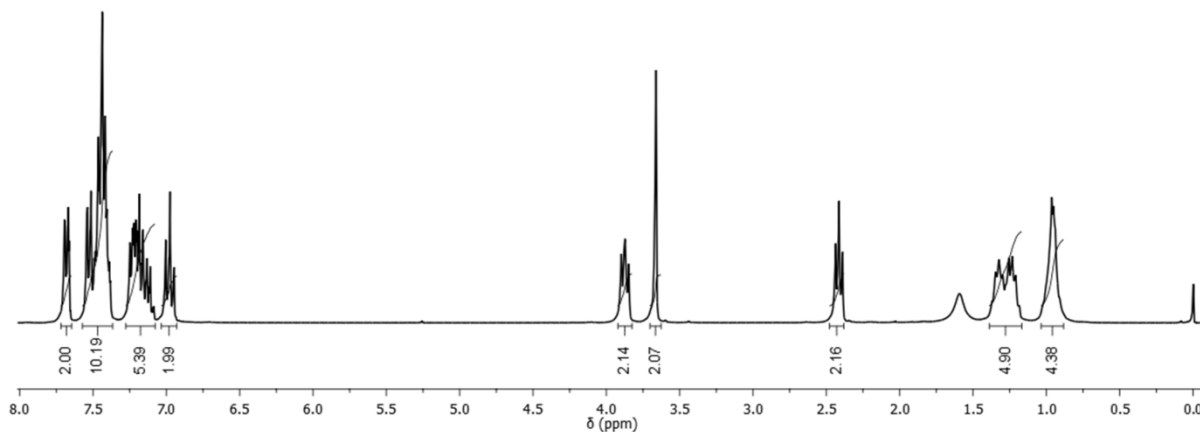
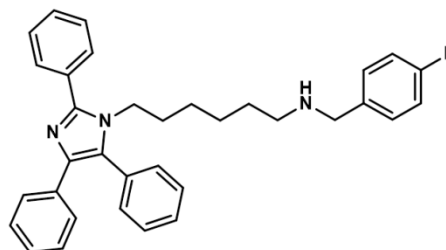
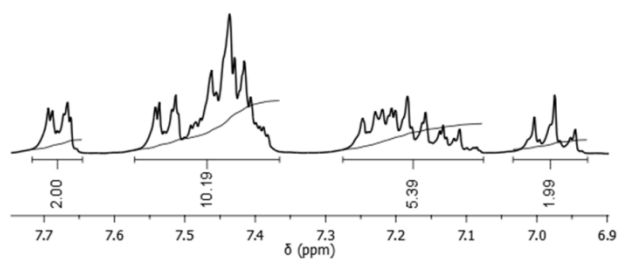
Anexo 26: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto **17c**



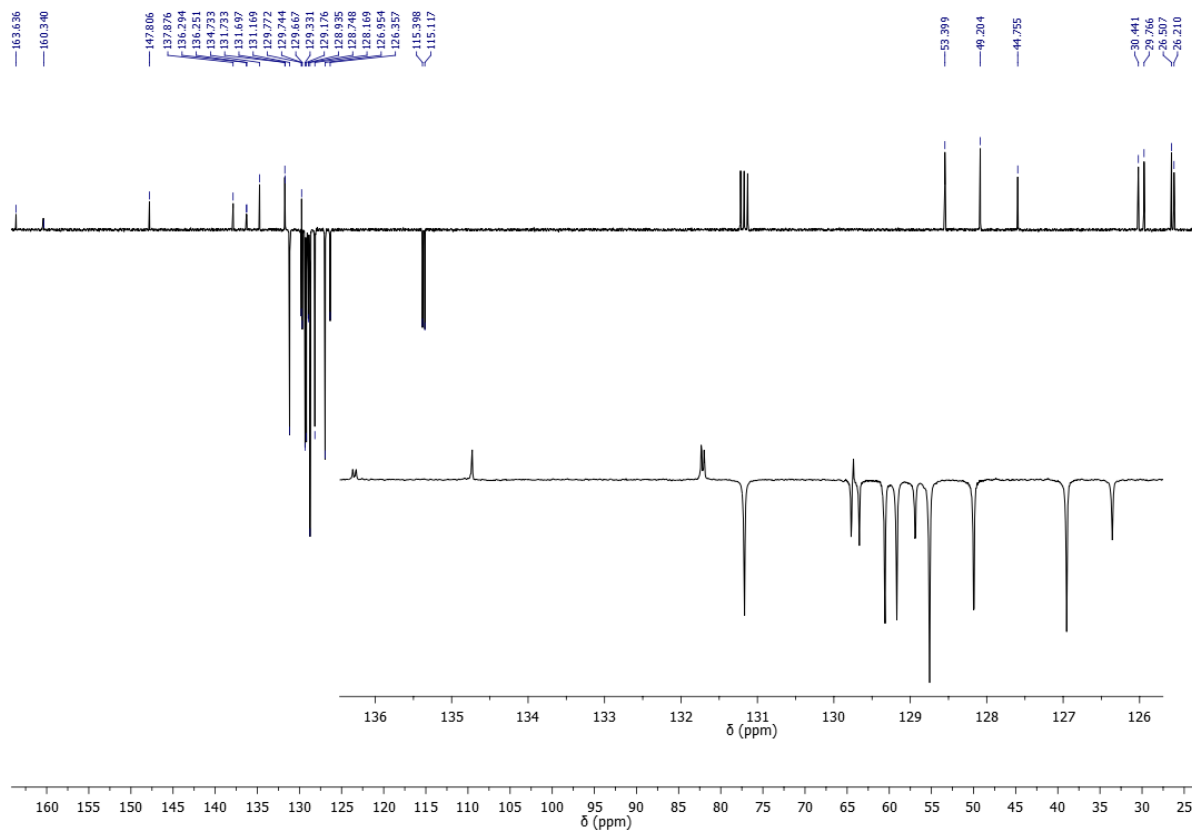
Anexo 27: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **17d**



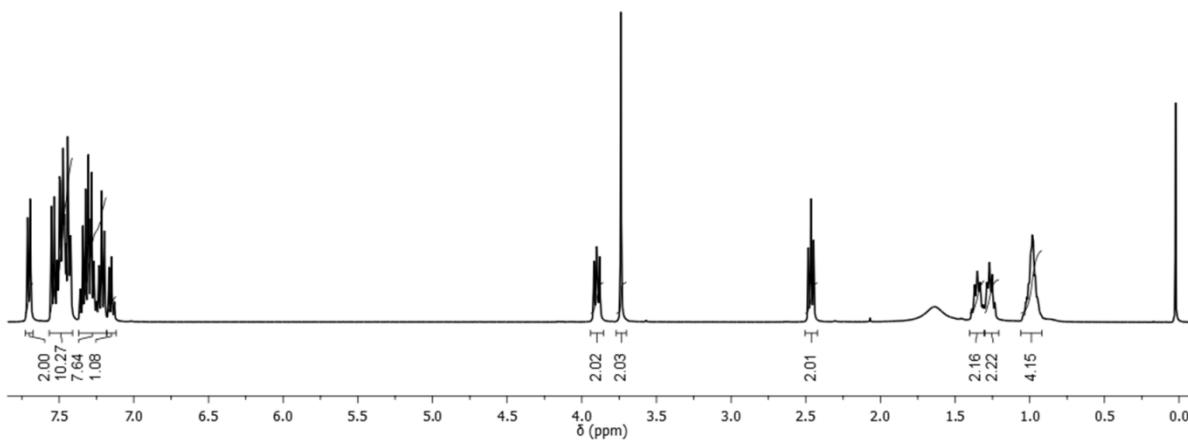
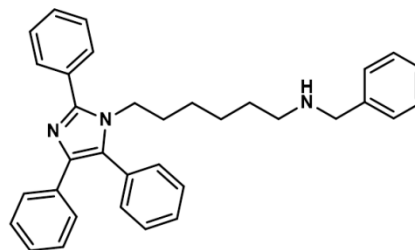
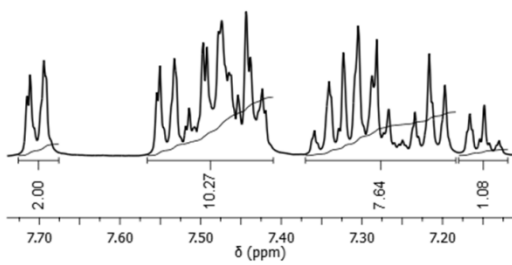
Anexo 28: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto **17d**



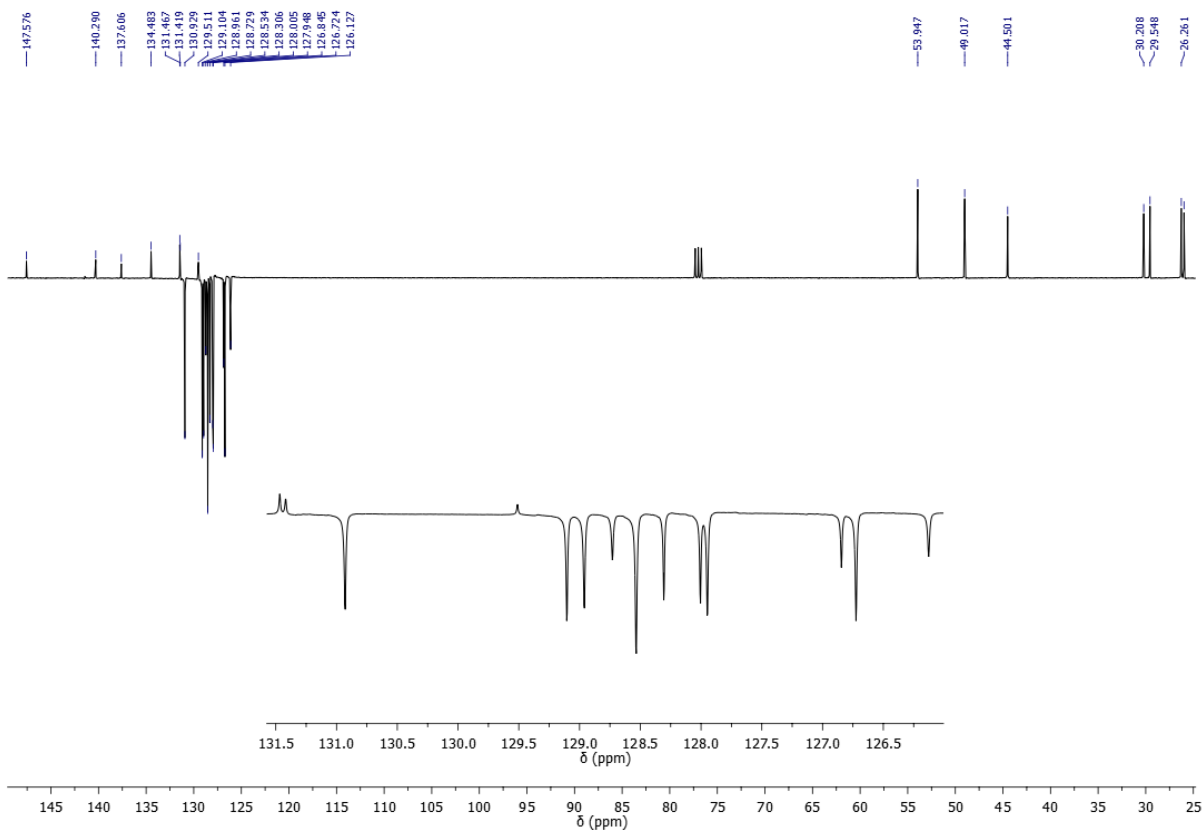
Anexo 29: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **17e**



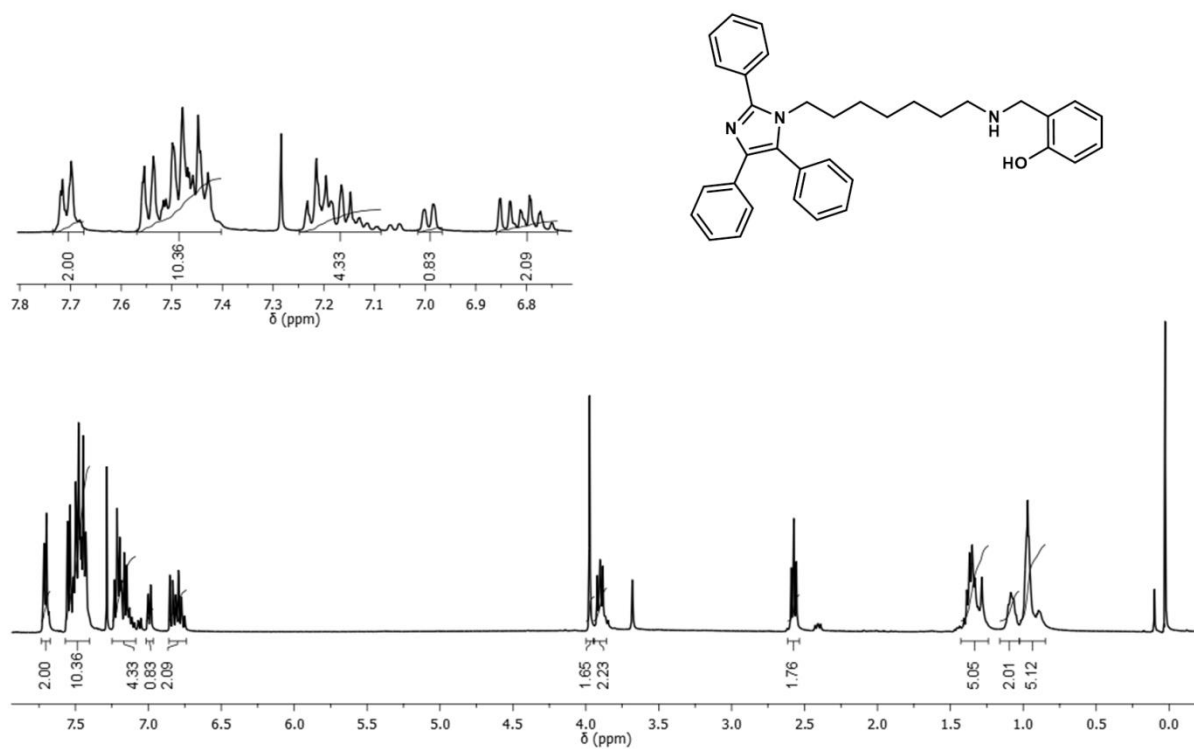
Anexo 30: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto **17e**



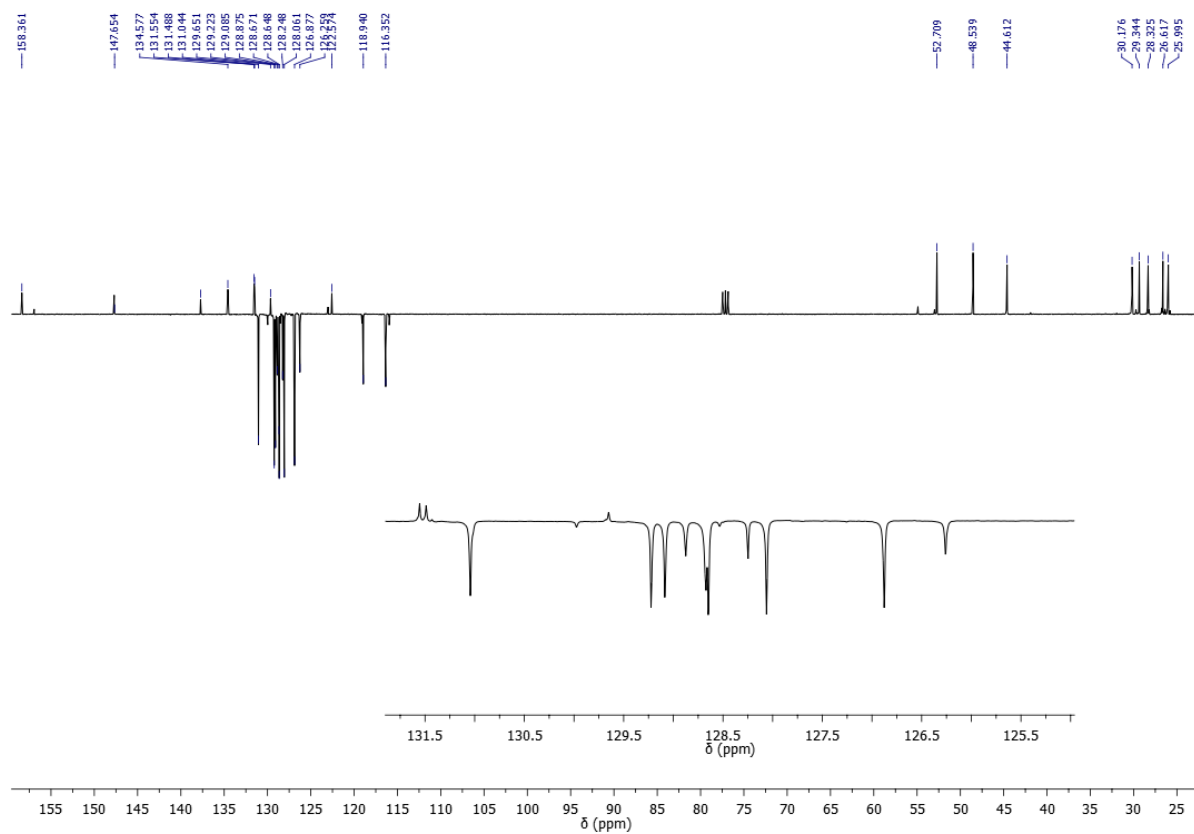
Anexo 31: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto **17f**



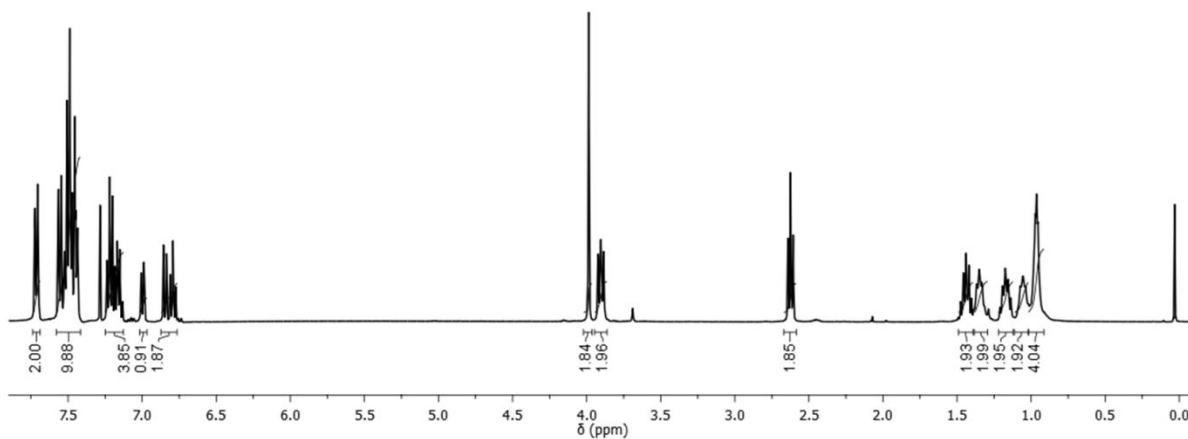
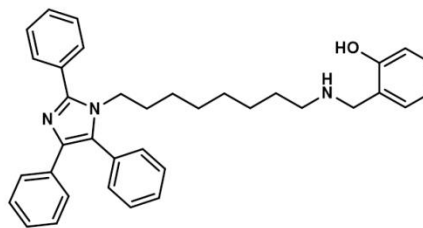
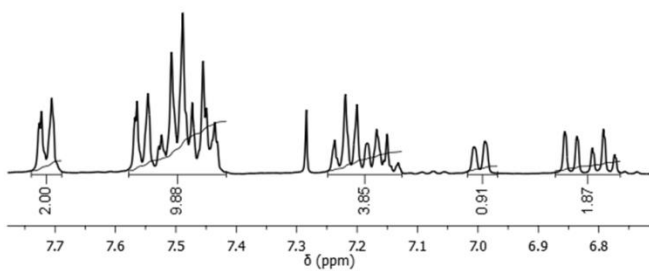
Anexo 32: Espectro de RMN de ^{13}C (APT, CDCl_3 , 101 MHz) do composto **17f**



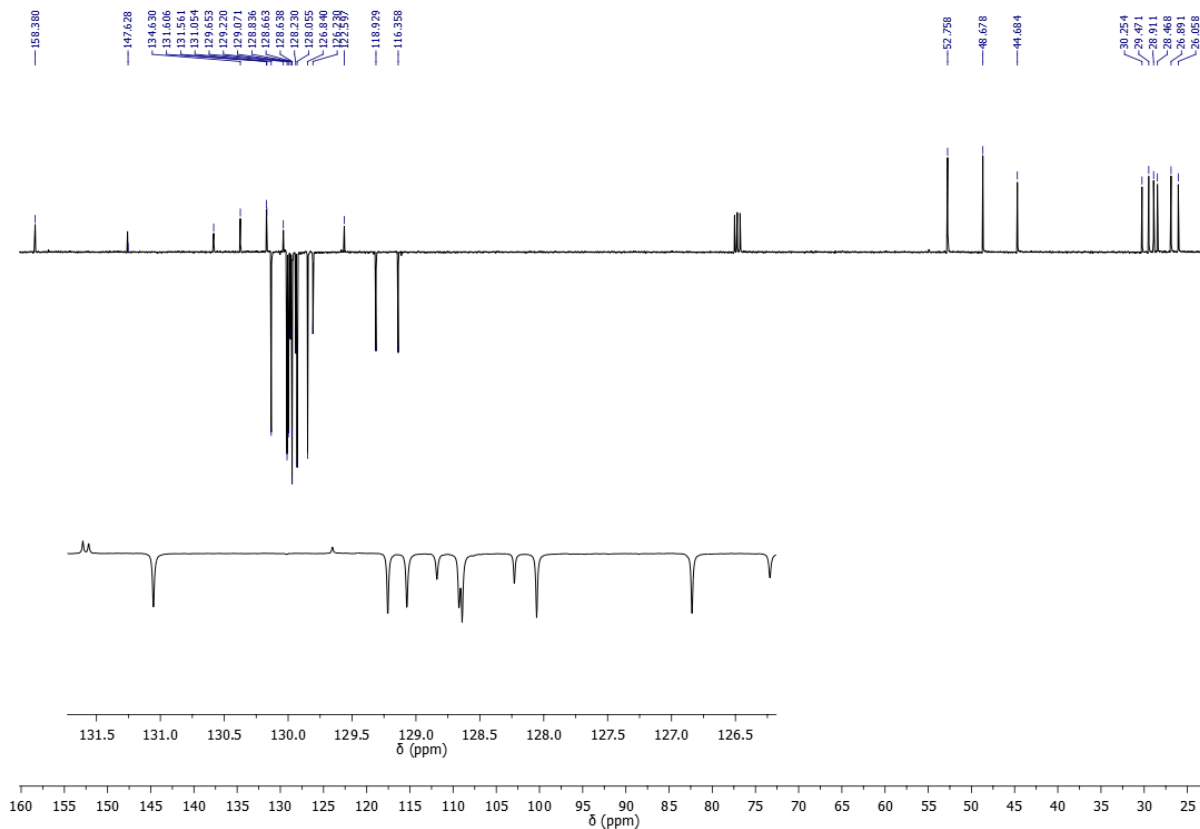
Anexo 33: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto **18**



Anexo 34: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto **18**



Anexo 35: Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do composto 19



Anexo 36: Espectro de RMN de ¹³C (APT, CDCl₃, 101 MHz) do composto 19