

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

GABRIELA DA COSTA FRANARIN

**SÍNTESE DE INIBIDORES DE COLINESTERASES CONTENDO OS NÚCLEOS
LOFINA E DERIVADO DA D-XILOSE COM POTENCIAL APLICAÇÃO NO
TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER**

PORTO ALEGRE

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

GABRIELA DA COSTA FRANARIN

**SÍNTESE DE INIBIDORES DE COLINESTERASES CONTENDO OS NÚCLEOS
LOFINA E DERIVADO DA D-XILOSE COM POTENCIAL APLICAÇÃO NO
TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER**

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

Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi

Orientador

PORTO ALEGRE

2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, de alguma forma, me ajudaram nessa caminhada. Principalmente à minha família que sempre esteve presente. Agradeço, também, aos amigos formados durante essa jornada, sem eles nada seria possível.

Agradeço aos meus colegas de trabalho, o doutorando João Paulo Bizarro Lopes por todo conhecimento compartilhado, pelo coleguismo e pela compreensão em todos os momentos, o mestrando Viktor Saraiva Câmara e a colega Ana Júlia por tornarem os momentos no laboratório mais leves e prazerosos. Por último, agradeço ao Prof. Dr. Marco Antonio Ceschi, pela seriedade e competência durante todo o período de orientação, sem eles a realização desse trabalho não seria viável.

Agradeço à UFRGS pela oportunidade de ter recebido um ensino de qualidade e gratuito, o que infelizmente ainda é reservado a uma minoria no nosso país.

Por fim, agradeço a todas as mulheres que já cruzaram meu caminho e me mostraram, de algum modo, que somos capazes apesar das dificuldades impostas pela nossa sociedade, graças a elas é possível, para mim, acreditar em um futuro cada vez mais igualitário, seja na ciência ou em qualquer outra área.

RESUMO

Atualmente a doença de Alzheimer (DA) permanece sem cura, do mesmo modo a causa da patologia segue desconhecida. Os principais sintomas da doença estão atrelados aos déficits na transmissão colinérgica, sendo assim, uma das estratégias para o tratamento paliativo da doença consiste na restauração dos níveis do neurotransmissor acetilcolina no sistema nervoso central, através de fármacos que atuam como inibidores reversíveis de enzimas colinesterases (ChEI). A tacrina foi o primeiro fármaco aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento sintomático da DA. Nesse contexto, os análogos diméricos da tacrina apresentaram capacidade inibitória de enzimas colinesterases satisfatoriamente maior do que a tacrina. Moléculas do tipo bis-tacrina demonstram interação simultânea nos dois sítios das enzimas, tanto o catalítico (CAS), como o periférico (PAS). Seguindo essa lógica de *design*, novas moléculas ChEI híbridas que possuam dois núcleos diferentes, os quais tenham a capacidade de interação com ambos sítios da enzima, além de possível atuação em algum outro fator da doença, que é multifatorial, vêm sendo amplamente estudadas.

No presente trabalho, a estratégia de hibridização molecular foi utilizada com o intuito de sintetizar moléculas híbridas que contenham os núcleos lofina e derivados de carboidratos unidos por uma cadeia espaçadora metilênica. Com o objetivo de sintetizar esses híbridos, foi necessário primeiramente realizar a síntese do intermediário *N*-alquilaminolofina. Para a síntese desse intermediário foi realizada a estratégia de proteção/desproteção de um dos grupamentos amino, para posteriormente realizar a reação tetracomponente a fim de formar o núcleo lofina. Uma reação de substituição nucleofílica entre as *N*-alquilaminolofinas e os derivados de carboidratos eletrofílicos foi realizada, gerando as moléculas híbridas finais de interesse. Os compostos obtidos neste trabalho foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , além de terem sido feitos ensaios preliminares *in vitro* de atividade de inibição das enzimas colinesterases, os quais mostraram uma alta afinidade desses compostos com as enzimas colinesterases. Deve-se ressaltar que a presença do núcleo carboidrato pode conferir maior biocompatibilidade e menor toxicidade aos fármacos. Além disso, cálculos de modelagem molecular dos híbridos foram realizados para verificar as interações intermoleculares no sítio ativo das enzimas.

Palavras-chave: Alzheimer, Colinesterase, Lofina, Carboidratos.

ABSTRACT

Despite decades of extensive research, there is still no cure for Alzheimer's disease (AD) and its cause remains unknown. The main symptoms of this disease are linked to the deficits in the cholinergic transmission. Therefore, one of the palliative treatment strategies of the disease is the restoration of the neurotransmitter acetylcholine levels in the central nervous system through drugs that act as reversible cholinesterase inhibitors (ChEI). Tacrine was the first drug approved by the Food and Drug Administration (FDA) for the symptomatic treatment of AD. In this context, the dimeric analogs of tacrine showed greater inhibitory capacity of cholinesterase enzymes than tacrine. Bis-tacrine molecules demonstrate simultaneous interaction in both catalytic (CAS) and peripheral (PAS) sites. Following this design logic of new ChEI molecules, hybrid drugs that have two different nuclei have been extensively studied. This kind of drugs have the ability to interact with both enzyme sites and possibly act in some other factor of the disease, since it is a multifactorial disease.

In this work, the molecular hybridization strategy was used to synthesize hybrid molecules containing the lophine nuclei and carbohydrate derivatives bound by a methylene spacer. In order to synthesize these hybrids, it was first necessary to synthesize the *N*-alkylaminolophine intermediate. For the synthesis of this intermediate the protection/deprotection strategy of one of the amino groups was carried out, which was followed by the tetracomponent reaction in order to form the lophine nuclei. A nucleophilic substitution reaction between the *N*-alkylaminolophines and the electrophilic carbohydrate derivatives was performed, generating the final hybrid molecules. The compounds obtained in this work were characterized by ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy, in addition to preliminary *in vitro* studies of inhibition activity of the cholinesterase enzymes which showed a high affinity of the compounds with the cholinesterase enzymes. It should be emphasized that the presence of the carbohydrate nucleus may confer greater biocompatibility and lower toxicity to the drugs. In addition, docking studies of the hybrids were performed in order to verify the enzyme ligand interactions in the active site of the enzymes.

Key words: Alzheimer, Cholinesterase, Lophine, Carbohydrates.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Biossíntese do neurotransmissor acetilcolina.	4
Esquema 2: Hidrólise da Acetilcolina.	4
Esquema 3: Reação de proteção das 1,n-alcanodiaminas.	14
Esquema 4: Reação de obtenção das 1,n-alkilaminolofinas.	14
Esquema 5: Mecanismo da reação tetracomponente.	15
Esquema 6: Reação de desproteção do grupo amino.	16
Esquema 7: Síntese dos híbridos lófina(n)-derivados de carboidratos	17

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Neurotransmissor acetilcolina, ACh.	3
Figura 2: Representação da sinapse química colinérgica.	5
Figura 3: Representação da cavidade enzimática das colinesterases	7
Figura 4: Fármacos utilizados no tratamento da DA.	8
Figura 5: Ação do bis-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase	9
Figura 6: Exemplos de híbridos que contêm dois núcleos farmacológicos	10
Figura 7: Duas séries de híbridos sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa.	10
Figura 8: Núcleo lofina derivado do núcleo imidazol.	11
Figura 9: Estrutura numerada do híbrido lofina(4)-derivado da xilose	18
Figura 10: Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz).....	18
Figura 11: Ampliação do espectro de RMN de ^1H entre 2,1 e 4,3 ppm.....	19
Figura 12: Espectro de ^{13}C do composto 15a	19
Figura 13: Interação entre o grupo lofina do inibidor lofina(5)-D-Xilose com Trp231.....	23
Figura 14: Resultado de docking do composto lofina(5)- D- Xilose na AChE.....	23

ABREVIATURAS

δ	Deslocamento químico
A β	Beta amiloide
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
Acetil-CoA	Acetil-coenzima A
BuChE	Butirilcolinesterase
CAS	Sítio ativo catalítico
ChAT	Acetiltransferase
ChE	Colinesterases
ChEI	Inibidor de colinesterases
DA	Doença de Alzheimer
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
PAS	Sítio periférico aniônico
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SNC	Sistema Nervoso Central
TFA	Ácido trifluoroacético
TS	Tosilato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	2
2.1 OBJETIVO GERAL.....	2
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
3.1 A DOENÇA DE ALZHEIMER	2
3.2 HIPÓTESE COLINÉRGICA.....	3
3.3 ENZIMAS COLINESTERASES	5
3.4 INIBIDORES DE COLINESTERASES	7
3.5 ESTRATÉGIA DE HIBRIDIZAÇÃO MOLECULAR	9
3.6 NÚCLEO LOFINA E DERIVADOS IMIDAZÓLICOS	10
3.7 NÚCLEOS DERIVADOS DE CARBOIDRATOS	12
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.1 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO <i>N</i> -ALQUILAMINOLOFINA	13
4.2 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS LOFINA-DERIVADOS DE CARBOIDRATOS	16
4.3 INIBIÇÃO DAS ENZIMAS COLINESTERASES	20
4.4 MODELAGEM MOLECULAR	21
5 CONCLUSÃO	24
6 PARTE EXPERIMENTAL	25
6.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
6.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	25
6.1.2 Solventes e Reagentes	25
6.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PROTEÇÃO DAS 1, <i>N</i> -ALCANODIAMINAS (3a-c).....	26
6.2.1 (4-aminobutil)carbamato de <i>terc</i>-butila (3a)	26
6.2.2 (5-aminopentil)carbamato de <i>terc</i>-butila (3b)	26
6.2.3 (6-aminoocetil)carbamato de <i>terc</i>-butila (3c)	26

6.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SINTESE TETRACOMPONENTE DE <i>terc</i> -BUTIL(<i>N</i> -(2,4,5-TRIFENIL-1H-IMIDAZOL-1-IL)ALQUIL)CARBAMATO DE <i>terc</i> -BUTILA (7a-c).....	27
6.3.1 (4-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)butil)carbamato de <i>terc</i> -butila (7a).....	27
6.3.2 (5-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)pentil)carbamato de <i>terc</i> -butila (7b).....	27
6.3.3 (8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octil)carbamato de <i>terc</i> -butila (7c).....	28
6.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA A DESPROTEÇÃO DE 7A-C E OBTENÇÃO DAS <i>N</i> -(2,4,5-TRIFENIL-1H-IMIDAZOL-1-IL)ALCANO-1-AMINA (13a-c).....	28
6.4.1 4-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)butano-1-amina (13a).....	28
6.4.2 5-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)pentano-1-amina (13b).....	29
6.4.3 8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octano-1-amina (13c).....	29
6.5 PREPARAÇÃO GERAL PARA A SINTESE DOS HÍBRIDOS LOFINA(N)-DERIVADO DE CARBOIDRATOS.....	29
6.5.1 Híbrido lofina(4)-derivado da D-Xilose.....	30
6.5.2 Híbrido lofina(5)-derivado da D-Xilose.....	30
6.5.3 Híbrido lofina(8)-derivado da D-Xilose.....	31
7 REFERÊNCIAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência existente, correspondendo a cerca de 60 a 80% dos casos. Tendo em vista o crescente impacto social desta doença, é recorrente a necessidade de pesquisas destinadas a identificar e entender melhor esse tipo de condição. A etiologia da DA permanece desconhecida, sendo seu principal fator de risco a idade avançada. O evento desencadeador da patologia não é conhecido, sendo assim, não existe cura para a DA, apenas tratamento paliativo. Dentre os diversos sintomas que a doença acarreta, o mais expressivo é a perda progressiva da memória que está associada aos déficits na transmissão colinérgica. Além disso, a DA é uma doença multifatorial, ou seja, diversos fatores são possíveis causas do seu desenvolvimento.

A principal estratégia terapêutica vigente atualmente é baseada na hipótese colinérgica, que se fundamenta na restauração dos níveis do neurotransmissor acetilcolina (ACh) no cérebro. A maioria dos fármacos utilizados para o tratamento paliativo da DA foram desenvolvidos a partir dessa hipótese, a qual postula que a perda das funções colinérgicas no sistema nervoso central contribui significativamente para o declínio cognitivo associado à idade avançada e à DA. O tratamento é, então, embasado na inibição das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE), enzimas responsáveis pela hidrólise do neurotransmissor ACh, através de fármacos inibidores reversíveis de enzimas colinesterases (ChEI). Nesse contexto, a tacrina foi o primeiro fármaco aprovado para atuar contra a DA, mostrando-se um potente ChEI, entretanto, devido a seus sérios problemas relacionados aos efeitos colaterais, sendo a hepatotoxicidade o principal dentre eles, esse fármaco não se encontra mais disponível para o tratamento da DA.

O desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes e com menos efeitos colaterais contra a DA é de relevante importância, portanto a estratégia mais utilizada atualmente para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da DA é a de hibridização molecular. Essa estratégia consiste no planejamento de novos protótipos híbridos mais eficazes, devido à combinação de dois ou mais núcleos bioativos, contribuindo para a ação multialvo, o que é muito importante, visto que a DA é uma

doença multifatorial. Dentre os núcleos com importante atividade biológica, destacam-se os derivados do núcleo imidazol e os derivados de carboidratos. O primeiro apresenta diversas aplicabilidades na área de química medicinal, e os carboidratos, por serem biomoléculas presentes no organismo humano, também podem contribuir de diversas formas em diferentes fatores da DA, além de aumentarem a polaridade da molécula, tornando mais provável a possibilidade de administração via oral.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo a síntese, caracterização, avaliação biológica e modelagem molecular de híbridos inibidores das enzimas colinesterases contendo os núcleos lofina e derivados de carboidratos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Síntese dos intermediários *N*-alquilaminolofina, empregando a estratégia de proteção/desproteção seletiva da alcanodiamina e a reação de condensação tetracomponente.
- Síntese dos híbridos lofina-derivados de carboidratos.
- Análise biológica de inibição das enzimas AChE e BuChE.
- Modelagem molecular (*docking*).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

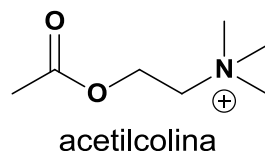
3.1 A DOENÇA DE ALZHEIMER

A Doença de Alzheimer (DA) foi descoberta em 1906 pelo médico psiquiatra e neuropatologista alemão Alois Alzheimer quando publicou o estudo de caso de sua paciente Auguste Deter de 51 anos.¹ Atualmente a DA, que é a principal causa de

demência entre idosos, afeta aproximadamente 5,3 milhões de pessoas nos Estados Unidos. No Brasil estima-se que um milhão de pessoas sofram da doença ² e no mundo todos os casos provavelmente ultrapassarão 100 milhões até 2050.³ O principal fator de risco da doença de Alzheimer é a idade avançada, visto que a incidência dobra a cada 5 anos depois dos 65 anos.

A DA é um distúrbio neurodegenerativo que afeta amplas áreas do córtex cerebral e do hipocampo, acarretando perda progressiva e irreversível de importantes funções cerebrais, gerando distúrbios cognitivos, como perda de memória, alteração no humor, dificuldade na fala, ansiedade e depressão.² A DA está associada ao acúmulo de formas insolúveis da proteína β -amiloide ($A\beta$) e à agregação da proteína tau em microtúbulos de emaranhados neurofibrilares nos neurônios, além de atrofia do córtex cerebral, degeneração neurovascular e diminuição das sinapses. Outros sinais bioquímicos também são observados na DA, como, por exemplo, estresse oxidativo, neuroinflamação, desregulação de cálcio, deficiência e distribuição alterada das mitocôndrias, oligomerização do peptídeo $A\beta$, toxicidade sináptica e problemas na homeostase metálica.⁴ Como já citado, o principal sintoma da DA é a perda progressiva da memória que ocorre, principalmente, devido aos déficits na transmissão colinérgica. A transmissão sináptica colinérgica se trata da sinapse que ocorre no sistema nervoso central utilizando a acetilcolina (ACh, Figura 1) como neurotransmissor.

Figura 1: Neurotransmissor acetilcolina, ACh.

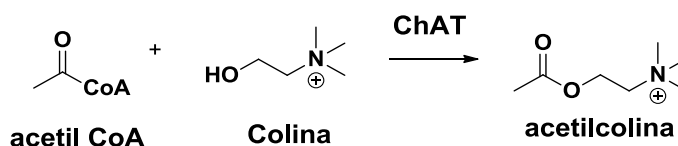


3.2 HIPÓTESE COLINÉRGICA

No início da década de 80 foi postulada a primeira hipótese que busca explicações para os sintomas da DA, a hipótese colinérgica.^{5,6} Dentre as disfunções observadas no sistema colinérgico de pacientes que apresentam a doença estão a diminuição na concentração da enzima colina acetiltransferase (ChAT), que é responsável pela síntese da acetilcolina (ACh), no córtex e no hipocampo, assim como uma redução variável dos

neurônios colinérgicos localizados no núcleo basal de Meynert.^{7,8} Tal hipótese sugere que uma disfunção de neurônios contendo acetilcolina contribui para o declínio cognitivo. A perda da função colinérgica (diminuição dos níveis do neurotransmissor ACh) no sistema nervoso central contribui significativamente para o declínio cognitivo associado à idade avançada e à DA.⁹ Isso se explica pelo fato de a sinapse química estar correlacionada às principais funções cognitivas. A sinapse química ocorre entre o neurônio pré-sináptico e o neurônio pós-sináptico, na região chamada fenda sináptica. A primeira etapa é a síntese do neurotransmissor ACh, por meio da reação entre a acetil-coenzima A (Acetil-CoA) e a colina, catalisada pela colina acetiltransferase (ChAT) na região ativa do neurônio pré-sináptico (Esquema 1).¹⁰

Esquema 1: Biossíntese do neurotransmissor acetilcolina.



O neurotransmissor acetilcolina é armazenado em vesículas transportadoras e liberado na fenda sináptica após a abertura de diversos canais iônicos que transmitem o impulso nervoso. Ao ser liberada na fenda sináptica a ACh se liga aos receptores específicos, canais iônicos presentes na membrana do neurônio pós-sináptico, promovendo a abertura desses canais e a entrada de íons Na⁺ e K⁺ na célula o que gera a despolarização da membrana e um novo impulso nervoso no neurônio pós-sináptico. O excesso da ACh é, então, hidrolisado pela enzima acetilcolinesterase (AChE) que se encontra ancorada na membrana do neurônio pós-sináptico, produzindo colina e ácido acético (Esquema 2). A colina é captada novamente pelo neurônio pré-sináptico, encerrando a sinapse química (Figura 2).^{10,11}

Esquema 2: Hidrólise da Acetilcolina.

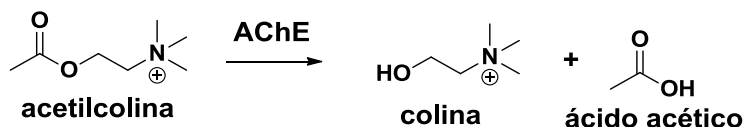
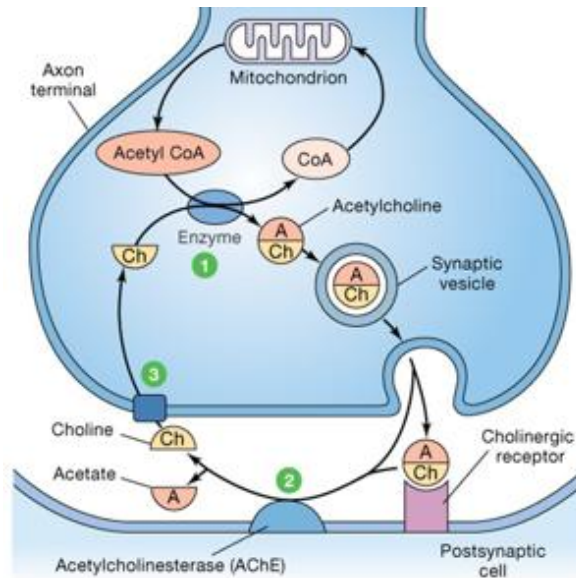


Figura 2: Representação da sinapse química colinérgica. ¹⁰



3.3 ENZIMAS COLINESTERASES

Um aspecto importante da função cerebral das colinesterases está relacionado às diferenças entre as duas enzimas existentes: acetilcolinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) e butirilcolinesterase (BuChE, EC 3.1.1.8) (Figura 3) que são serino hidrolases (superfamília que contém mais de 200 enzimas) amplamente encontradas em várias espécies animais.¹² Essas duas enzimas diferem geneticamente, estruturalmente e por sua cinética.¹³ Ambas são capazes de hidrolisar a acetilcolina (ACh), porém a AChE possui uma atividade hidrolítica 10^{13} vezes maior do que a BuChE à mesma temperatura e pH.¹⁴

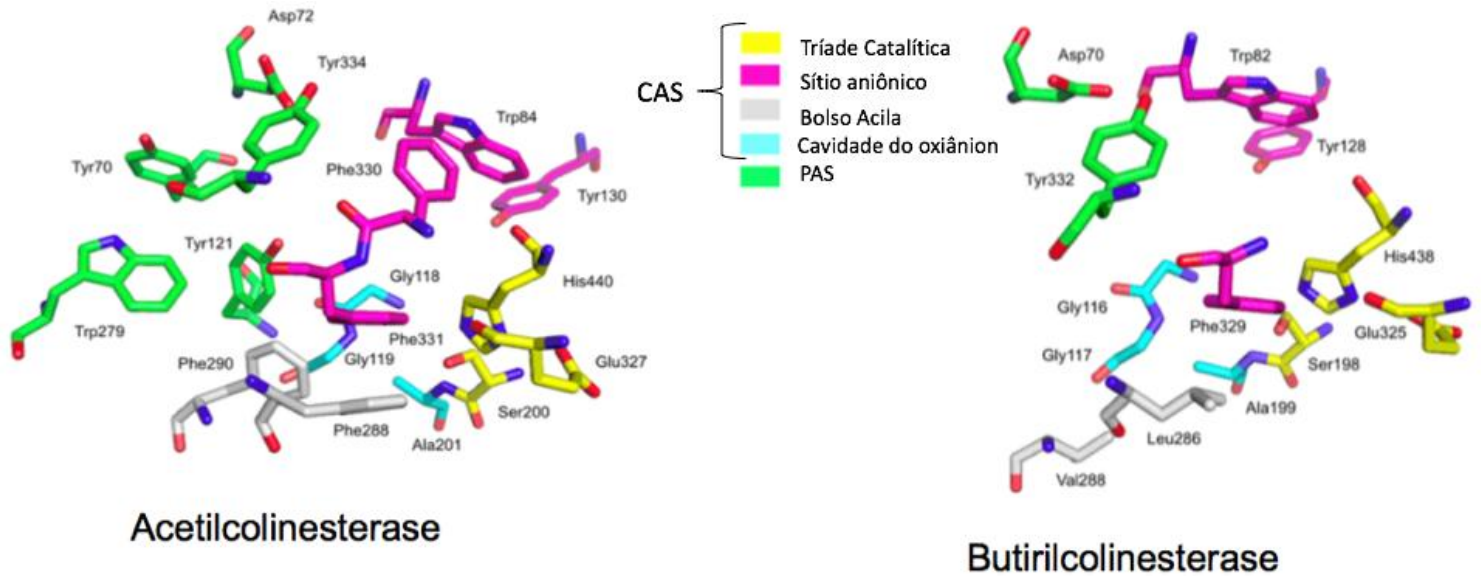
A AChE é encontrada no sistema nervoso em grande quantidade, seu principal papel biológico é o término da transmissão de impulsos nas sinapses colinérgicas por hidrólise rápida do neurotransmissor ACh.¹⁵ Segundo pesquisas, a AChE também é responsável pela modulação do fluxo sanguíneo cerebral, agregação de peptídeos β -amiloide, ativação e expressão da proteína APP95, fosforilação da proteína tau e tem influência nos processos inflamatórios, além de interagir com a proteína β -amiloide, levando à criação de complexos estáveis e formação de placas senis.¹⁶

A enzima AChE possui dois sítios, o catalítico ativo (CAS) e o aniônico periférico (PAS). O CAS é constituído pelos resíduos de aminoácidos Ser200, His440 e Glu327, que formam a tríade catalítica da enzima, parte responsável pela transferência do grupo acetil da acetilcolina para a Ser200. O sub sítio aniônico, também situado no CAS, é composto principalmente pelo resíduo Trp84, que é responsável por se ligar ao íon amônio quaternário da acetilcolina via interações cátion- π .¹⁷ O CAS se encontra no fundo de uma cavidade estreita hidrofóbica de aproximadamente 20Å de profundidade. Já o PAS se localiza na entrada da cavidade e é composto por cinco resíduos de aminoácidos: Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279, Tyr334, o PAS é responsável por atividades extras, incluindo a interação com a proteína β -amilóide.¹⁸

A BuChE é sintetizada no fígado, se encontra em grande quantidade no plasma e também no sistema nervoso. A BuChE hidrolisa vários ésteres carboxílicos e fosfóricos e participa do mecanismo regulatório dos níveis da AChE na sinapse colinérgica, é capaz de hidrolisar moléculas maiores, como a butirilcolina, por exemplo. Durante o progresso da DA a razão BuChE/AChE aumenta, pois o nível de BuChE no hipocampo e córtex temporal cresce significativamente, constatando a sua função de biomarcador da DA, o que favorece a busca de inibidores seletivos de BuChE para serem utilizados em casos avançados.¹⁹

Comparando as duas enzimas ChEs, percebe-se que as BuChE são capazes de interagir com substratos maiores que as AChE pelo fato de possuírem aminoácidos menos volumosos no sítio ativo, principalmente no PAS. O PAS da BuChE é composto pelos resíduos de aminoácidos alifáticos menos volumosos, então é possível afirmar que a enzima BuChE é menos seletiva que a AChE. As diferenças estruturais dessas enzimas podem explicar a maioria das diferenças de atividade das enzimas. Estudos recentes mostraram que a ausência da BuChE em cérebros de ratos modelos, levou a uma diminuição do depósito das placas A β , conservado as funções cerebrais em certas regiões.²⁰

Figura 3: Representação da cavidade enzimática das colinesterases. ¹⁷

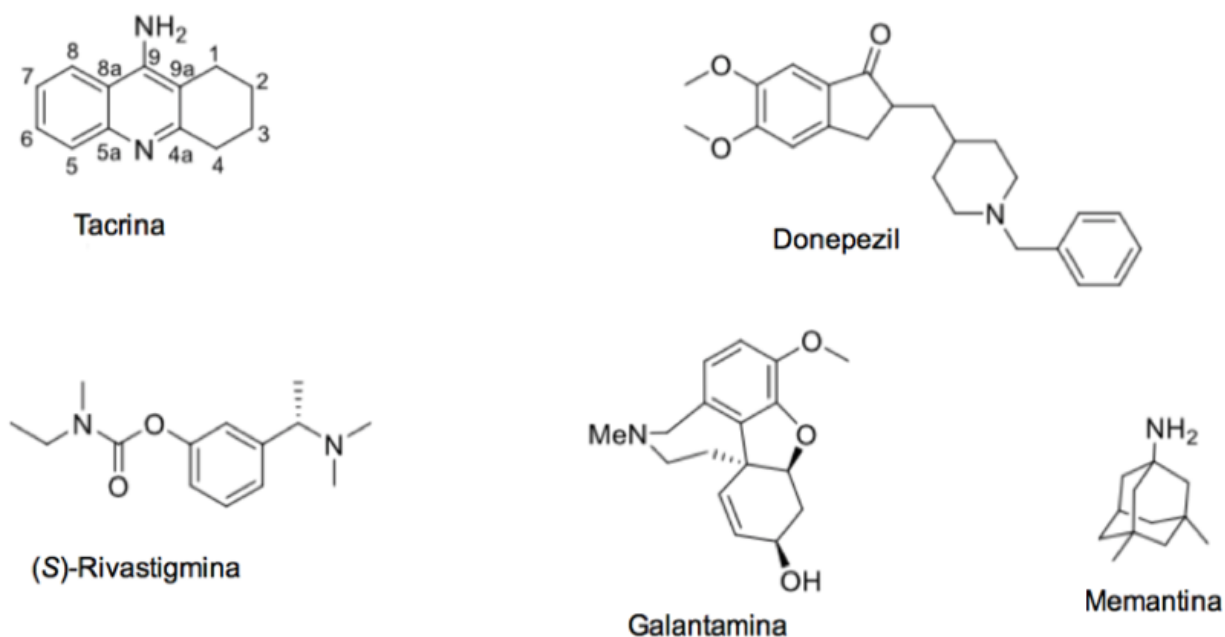


3.4 INIBIDORES DE COLINESTERASES

O primeiro fármaco aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), em 1993, foi a tacrina (9-amino-1,2,3,4-tetraidroacridina) comercializado como Tacrinal® ou Cognex® que é um inibidor reversível de enzimas colinesterases (ChEI), porém, atualmente, esse fármaco encontra-se em desuso devido aos seus efeitos colaterais muito significativos, sendo o principal dentre eles a hepatotoxicidade.²¹ Dentre as cinco drogas aprovadas até agora contra a DA, quatro delas são caracterizadas como ChEIs, que além da tacrina, são: Donepezil (Aricept®), (S)-Rivastigmina (Exelon®) e Galantamina (Razadyne®). O quinto fármaco, a Memantina (Namenda XR®) (Figura 4), é do tipo antagonista de receptores de *N*-metil-D-aspartato (NMDA), que impede a ativação desses receptores pelo glutamato, evitando o influxo livre de Ca^{2+} e a consequente excitotoxicidade.²² Apesar de estes fármacos possuírem um alto potencial de inibição frente às enzimas ChEs, apresentam efeitos colaterais muito acentuados. Como ainda não foi encontrada a cura para a DA, os fármacos ChEI citados apenas garantem o tratamento paliativo da doença, amenizando seus sintomas, pois ao atuarem como inibidores de colinesterases aumentam os níveis do neurotransmissor acetilcolina no cérebro, como consequência diminuem temporariamente os déficits cognitivos causados pela DA. O objetivo é, portanto, desenvolver fármacos que sejam

simultaneamente potentes inibidores de ChEs e que provoquem efeitos colaterais menos relevantes do que os fármacos aprovados até agora.

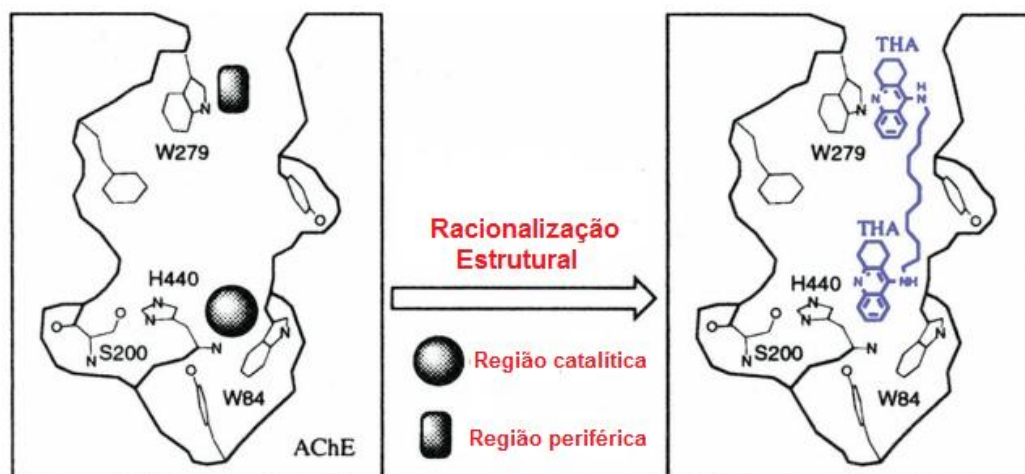
Figura 4: Fármacos utilizados no tratamento da DA.



A tacrina segue sendo um núcleo referência devido à sua alta afinidade com o sítio ativo da AChE, e mesmo sendo um fármaco que possui elevado grau de hepatotoxicidade, esse núcleo continua servindo de base para a pesquisa de futuros possíveis fármacos.

Neste contexto, com base nos estudos de Pang e colaboradores o análogo dimérico da tacrina bis(7)-tacrina foi mil vezes mais potente na inibição da AChE do que a da tacrina e possuiu maior seletividade na inibição da AChE em relação à BuChE.²³ A maior atividade comparada a tacrina é explicada devido à ação simultânea do dímero nos CAS e PAS da AChE (Figura 5). Além disso, a partir de estudos computacionais foi determinado que a distância entre o CAS e o PAS é de 16 Å, e o espaçamento de sete carbonos metilênicos permite uma distância de 18 Å entre os átomos de nitrogênio de cada núcleo tacrina, visto que esse valor é próximo, possibilita uma interação mais eficaz.²⁴

Figura 5: Ação do bis-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase. ²³



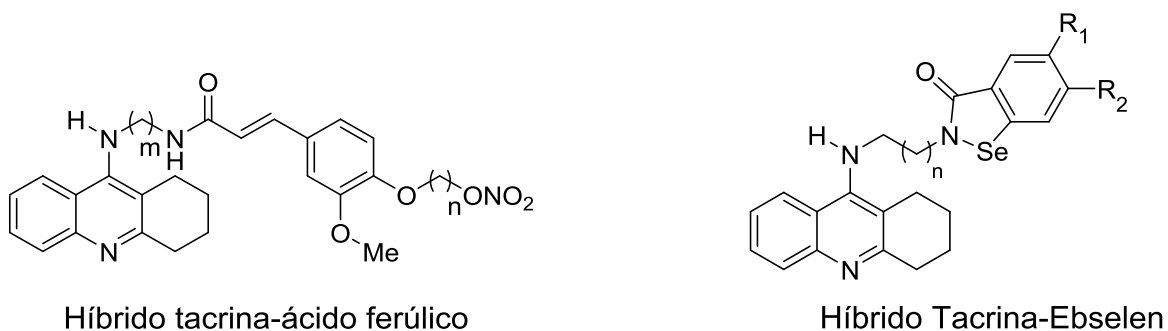
Análogos quirais do bis(7)-tacrina foram sintetizados pelo nosso grupo em suas duas séries enantioméricas, a partir da (*R*)-(+)- e da (*S*)-(-)-pulegona, e mostraram alta afinidade com as enzimas colinesterases. Uma diferença significativa foi observada na atividade de inibição das enzimas AChE e BuChE entre os antípodas ópticos, evidenciando diferentes afinidades nas interações AChE-inibidor quiral. Juntamente com estudos de modelagem molecular que foram realizados, esse trabalho representa uma contribuição importante no entendimento da estereosseletividade da AChE. ²⁵

3.5 ESTRATÉGIA DE HIBRIDIZAÇÃO MOLECULAR

Devido à complexidade patológica da DA, um fármaco com um único alvo específico pode não ser suficientemente eficaz para produzir os efeitos clínicos desejados. A vantagem dos híbridos é a possível ação frente a diferentes fatores da doença. Se tratando de uma doença multifatorial, o foco é que tais moléculas interajam simultaneamente com o CAS e o PAS das ChEs e com algum outro fator da DA. A tacrina além de ser um fármaco inibidor de enzimas colinesterases, atua em outros fatores da doença, como, por exemplo, a diminuição da lesão oxidativa induzida pelo β -amiloide ($A\beta$) ²⁶ e redução da produção de espécies reativas de oxigênio. ²⁷ Portanto, tendo em vista as propriedades vantajosas do núcleo tacrina, o estudo de moléculas híbridas foi muito importante para o desenvolvimento de novos ChEI, como por exemplo, híbridos

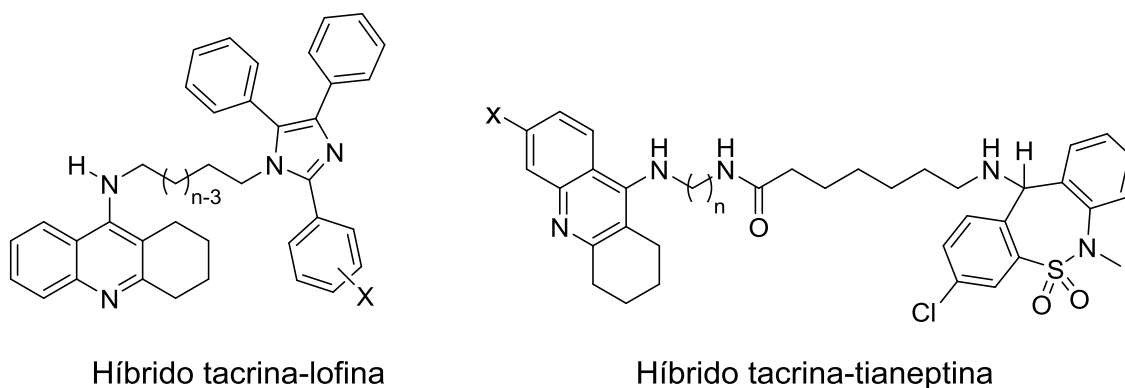
tacrina-benzotiazol,²⁸ tacrina-ebesen,²⁹ tacrina-selegilina,³⁰ tacrina-ácido ferúlico,³¹ tacrina-resveratrol,³² entre outros (Figura 6), que além de apresentarem atividade ChEI, atuaram em algum outro fator da DA .

Figura 6: Exemplos de híbridos que contêm dois núcleos farmacológicos



Seguindo essa linha de pesquisa, nosso grupo sintetizou os híbridos tacrina-lofina³³ e tacrina-tianeptina³⁴ (Figura 7) que apresentaram alto poder inibidor das enzimas AChE e BuChE. Além disso, os híbridos tacrina-tianeptina não alteraram a integridade celular.

Figura 7: Duas séries de híbridos sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa.



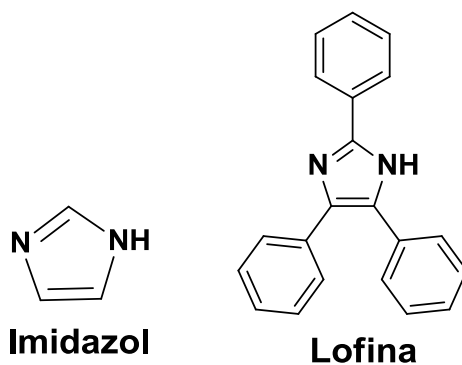
3.6 NÚCLEO LOFINA E DERIVADOS IMIDAZÓLICOS

Derivados do núcleo imidazol ocupam um lugar importante na área da química medicinal por possuírem ampla gama de atividades biológicas. O imidazol (Figura 8) é

um núcleo heterocíclico aromático de cinco membros, possui caráter doador e receptor de ligações de hidrogênio e alta afinidade por metais. Seus derivados são conhecidos por serem analgésicos, anti-inflamatórios, antiparasitários, inibidores da agregação plaquetária, e agentes antiepiléticos.³⁵ O imidazol pode ser encontrado em muitas drogas, como dacarbazina, metanidazol, cimetidina, flumazenil, entre outras. Além de formar a estrutura principal de alguns componentes bem conhecidos de organismos humanos, como a histidina de aminoácidos, a vitamina B12, purinas, histamina e biotina. No projeto de possíveis fármacos inibidores de enzimas ChE sua principal função é a de intensificar as interações π - π *stacking* com os resíduos de aminoácidos do sítio ativo.³⁶

Já a lofina (2,4,5-trifenil-1H-imidazol, Figura 8) é um derivado imidazólico que apresenta três substituintes fenílicos nas posições 2, 4 e 5 do imidazol, e possui atividade antioxidante e antibiótica.³⁷ Nosso grupo de pesquisa sintetizou anteriormente híbridos contendo os núcleos tacrina e lofina com atividade ChEI. Neste mesmo trabalho foram sintetizados uma série de dímeros bis(n)lofina no qual o dímero bis(8)-lofina mostrou-se um potente inibidor da AChE na escala de concentração nanomolar. Este estudo mostrou a possibilidade de inibição de enzimas colinesterases com o núcleo lofina, utilizando a estratégia de hibridização molecular na melhoria de protótipos multialvo para o tratamento de doenças multifatoriais.³³

Figura 8: Núcleo lofina derivado do imidazol.



3.7 NÚCLEOS DERIVADOS DE CARBOIDRATOS

Os carboidratos são biomoléculas que possuem atividades essenciais à vida, sendo componentes estruturais básicos dos seres vivos. Carboidratos são estruturas ricas em centros assimétricos, se ligam facilmente a outras moléculas com diferentes tipos de ligação, e são comercialmente disponíveis. O interesse frente a estas estruturas no desenvolvimento de novos fármacos é devido a sua alta afinidade com o organismo e a solubilidade em meio biológico. No âmbito do desenvolvimento de moléculas híbridas que tenham o papel de inibidoras de colinesterases, a presença de carboidratos acoplados a outro núcleo inibidor de colinesterases pode ser uma estratégia multialvo interessante para o tratamento da DA.³⁸

Os carboidratos estão envolvidos em muitos processos biológicos importantes, são os componentes básicos do DNA dos seres vivos, sendo essenciais para vários processos de reconhecimento e transformações específicas.³⁹ A importância dos açúcares nos processos de reconhecimento biológico está estritamente relacionada com as ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila dos carboidratos e as porções polares de aminoácidos em interações proteína-ligante. Portanto, estas interações polares são bastante exploradas nas interações proteína-carboidrato.^{40, 41} No entanto, os anéis de carboidratos também são capazes de formar interações CH/ π com os resíduos aromáticos através de interações de dispersão, com contribuição eletrostática e parcialmente estabilizadas por efeito hidrofóbico em sistemas solvatados.^{42, 43} O resíduo de aminoácido mais rico em elétrons, triptofano (Trp, W) é descrito como oceptor de interações de CH/ π mais comum.⁴¹

Nos últimos anos, alguns compostos contendo *scaffolds* de carboidratos foram estudados como promissores candidatos para o tratamento da DA. Em 2007, E. Perissutti e colaboradores sintetizaram derivado de glucosil(-)-galantamina e estes compostos apresentaram pequena porcentagem de inibição de enzimas AChE, que poderiam ser explicados pelo impedimento estérico na posição 6 de galantamina, o que proporciona uma menor interação de galantamina no sítio ativo da enzima. Apesar da menor inibição enzimática, a incorporação de porções de carboidratos na galantamina poderia melhorar a biodisponibilidade no sistema nervoso central.⁴⁴ Vários nucleosídeos de purina com

configuração D-gluco, D-manno e D-galacto foram inibidores competitivos e seletivos para enzimas BuChE.⁴⁵ De outra forma, nucleosídeos de purina contendo derivados de ácido D-glucorônico apresentaram atividades inibitórias seletivas moderadas para a enzima AChE.⁴⁶ Recentemente, alguns isonucleosídeos como sistemas derivados de purina e pirimidina ligados a porções metil glicopiranosidil em C-6 foram avaliados como inibidores de colinesterases e apresentaram efeitos inibitórios significativos, especialmente com a fração de açúcar protegida.⁴⁷ Uma série de estudos com selenofuranosídeos demonstrou várias atividades associadas a possíveis terapias para a DA, tais como antioxidante, envolvimento no processo inflamatório da DA, efeito antidepressivo e proteção contra perda de memória em camundongos.^{48,49}

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

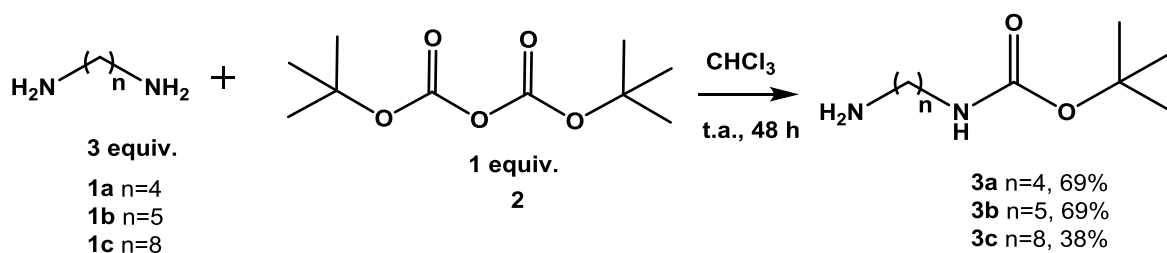
Para realizar a síntese das moléculas híbridas contendo os núcleos lofina e derivados de carboidratos, foram sintetizados primeiramente os intermediários *N*-alquilaminolofinas.

4.1 SÍNTESE DO INTERMEDIÁRIO *N*-ALQUILAMINOLOFINA

Uma rota sintética de três etapas foi utilizada para a síntese das *N*-alquilaminolofinas. Na primeira etapa foi empregado o método de proteção seletiva de um dos grupos amino das 1,*n*-alcanodiaminas com o grupo protetor dicarbonato de *tert*-butila (Boc₂O, **2**). A segunda etapa dessa rota sintética é a formação do núcleo lofina através da reação de condensação tetracomponente. Por último, a desproteção do grupo amino em meio ácido leva à formação do intermediário *N*-alquilaminolofina de interesse.

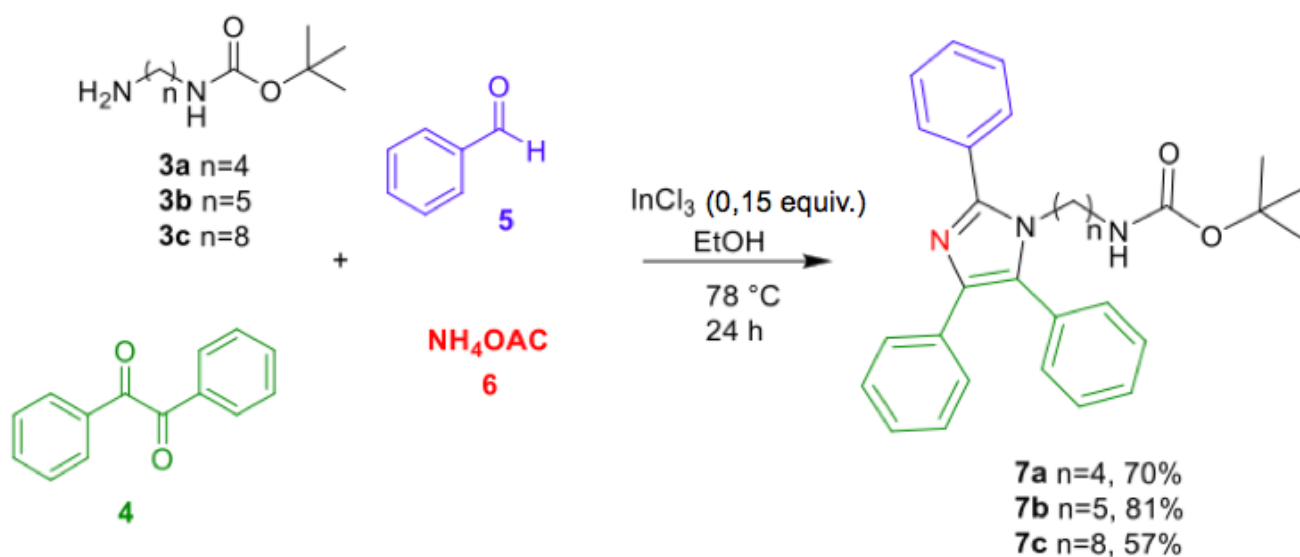
A proteção seletiva de um dos grupamentos amino das 1,*n*-alcanodiaminas **1a-c** foi realizada utilizando excesso de diamina e adição lenta de **2** à 0 °C.⁵⁰ As 1,*n*-alcanodiaminas protegidas **3a-c** foram obtidas com rendimentos entre 38 e 69% após purificação por cromatografia em coluna (Esquema 3).

Esquema 3: Reação de proteção das 1,n-alcanodiaminas.



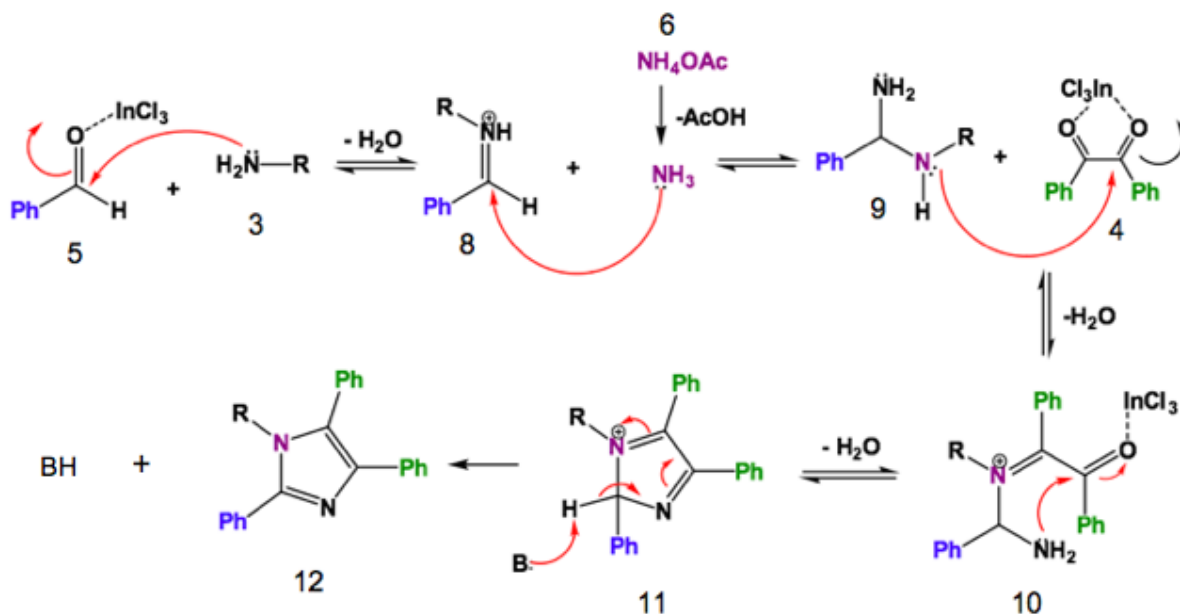
Após a obtenção das 1,n-alcanodiaminas protegidas, realizou-se a reação de condensação tetracomponente (Esquema 4) entre a 1,n-alcanodiamina protegida **3a-c**, a benzila **4**, o benzaldeído **5** e o acetato de amônio **6**, utilizando tricloreto de índio (InCl₃) como catalisador.³³ Os produtos dessa reação foram as *N*-alquilaminolofinas protegidas **7a-c** com rendimentos entre 57 e 70% após purificação por cromatografia em coluna.

Esquema 4: Reação de obtenção das 1,n-alquilaminolofinas.



A proposta do mecanismo da reação tetracomponente entre benzila, benzaldeído e acetato de amônio, utilizando o tricloreto de índio como catalisador para a formação da lofina é apresentada a seguir (Esquema 5).

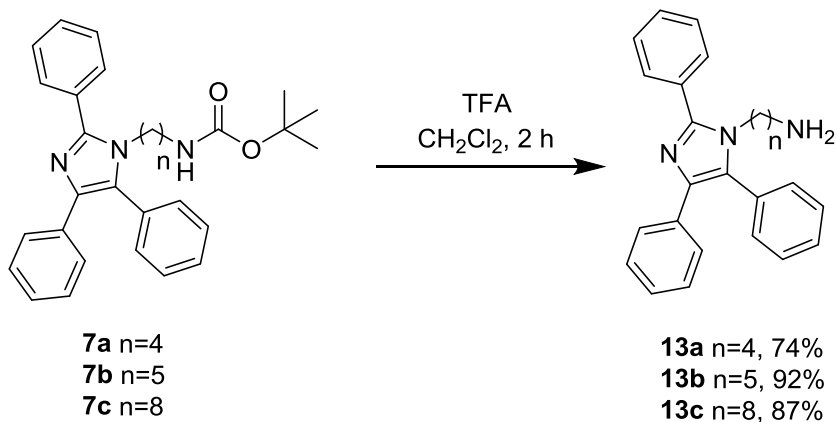
Esquema 5: Mecanismo da reação tetracomponente.



Como representado no Esquema 5, o tricloreto de índio atua como o ácido de Lewis ativando a carbonila do benzaldeído **5**. Ao aumentar o caráter eletrofílico desta carbonila ela é capaz de sofrer o ataque nucleofílico da amina primária **3** formando, então, o íon imínio **8** e eliminando água. Em seguida, a imina sofre um ataque nucleofílico da amônia, formada *in situ* a partir do acetato de amônio (**6**), resultando na diamina **9**. O grupo amino secundário em **9** realiza o ataque nucleofílico a uma das carbonilas da benzila (**4**), que se encontra ativada pelo ácido de Lewis, resultando no íon imínio **10** e na eliminação de água. Na sequência, o ataque nucleofílico intramolecular do grupo amino à carbonila ativada resulta no intermediário cíclico **11**. Por último, a eliminação de um próton de **11** leva a aromatização do anel e resulta no imidazol tetrassubstituído de interesse **12**.

Como última etapa da rota sintética, realizou-se a desproteção do grupo amino. A reação de hidrólise em meio ácido das *N*-alquilaminolofinas protegidas **7a-c** conduz à formação do intermediário *N*-alquilaminolofina **13a-c** de interesse (Esquema 6). Os produtos foram obtidos em rendimentos de 74 a 92% após purificação por cromatografia em coluna.

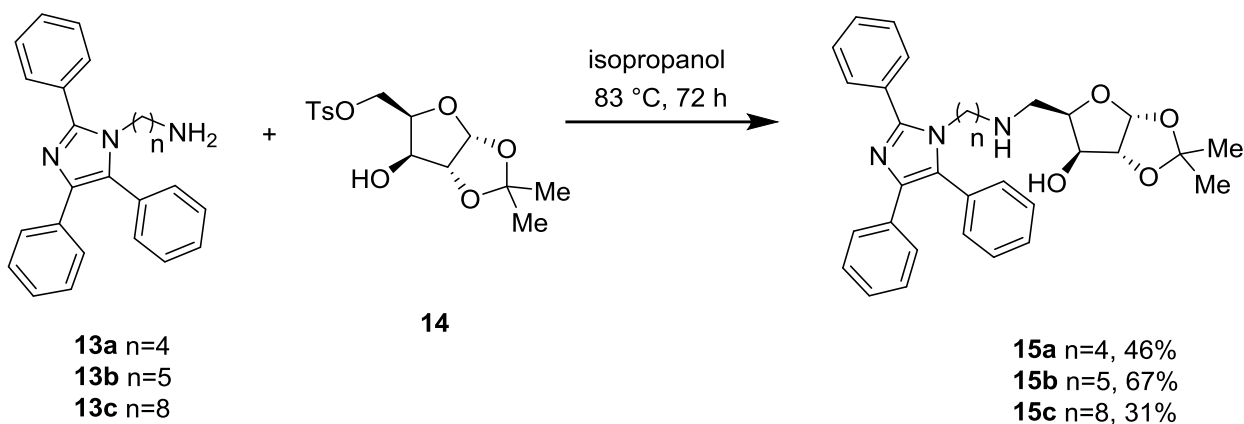
Esquema 6: Reação de desproteção do grupo amino.



4.2 SÍNTESE DOS HÍBRIDOS LOFINA-DERIVADOS DE CARBOIDRATOS

O intermediário derivado tosilado da D-xilose foi disponibilizado pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Diogo Seibert Lüdtkke, com o qual nosso grupo possui colaboração. Os monossacarídeos comerciais foram transformados em derivados na forma de tosilatos eletrofílicos, por serem bons grupos de saída para reações do tipo substituição nucleofílica. Os híbridos lofina-derivados de carboidratos foram sintetizados através da reação de substituição nucleofílica entre as *N*-(1,*n*-diaminoalquil)-lofinas e o derivado tosilado de carboidrato (Esquema 7). Neste trabalho o derivado de carboidrato utilizado foi o tosilato da D-xilose (**14**), e as condições de reação adotadas foram aquecimento de 83 °C durante 72 h, utilizando isopropanol como solvente.⁵¹ As moléculas híbridas finais foram obtidas com rendimentos entre 31 e 67% após purificação por coluna cromatográfica.

Esquema 7: Síntese dos híbridos lofina(n)-derivados de carboidratos



O espectro de RMN de ^1H do híbrido **15a** é apresentado na Figura 10. No espectro em questão, são observados entre 7 e 8 ppm os sinais referentes ao núcleo lofina. Em 7,7 ppm tem-se o duplete típico do H14 das lofinas, esses sinais foram atribuídos em outras moléculas contendo o núcleo lofina em trabalhos anteriores do nosso grupo.⁵² Em 5,91 ppm observa-se o sinal referente ao hidrogênio H4 ligado ao carbono anomérico do açúcar, que é um duplete com $^3J = 3,7$ Hz devido ao acoplamento *cis* com H5 ($\delta = 4,46$ ppm). Não é observado acoplamento *trans* entre H5 e H6, situação característica de anéis furanosídicos de carboidratos, onde o ângulo entre essas ligações é de aproximadamente 90° .

Os hidrogênios H8 são diastereotópicos e, portanto, podem aparecer em deslocamentos químicos diferentes, como de fato foi observado, em 2,76 e 3,21 ppm, com constante de acoplamento geminal $^2J = 13,0$ Hz. O H8 observado em 3,21 ppm é um duplo duplete, com uma constante $^3J = 3,5$ Hz e atribui-se ao acoplamento em *cis* com H7. Devido ao ângulo de ligação *trans* H7-H8 ser aproximadamente 90° , esse acoplamento dificilmente é observado, como já discutido acima. Os hidrogênios H9 são observados como multipletos em 2,24 ppm. Os dois singletos intensos entre 1,34 e 1,48 ppm são referentes aos hidrogênios das metilas H1 e H2 do grupo protetor acetonídeo.

Figura 9: Estrutura numerada do híbrido lofina(4)-derivado da D-xilose (**15a**)

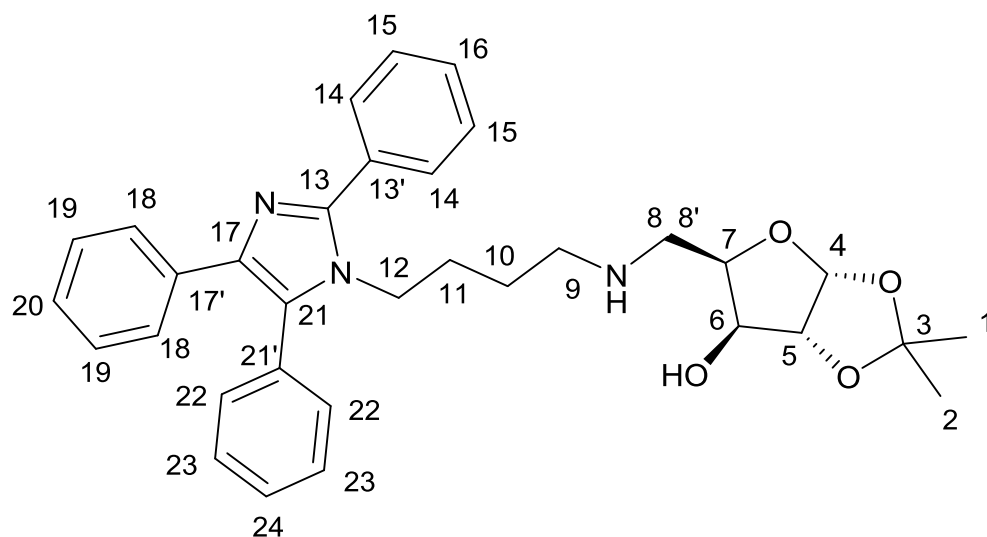


Figura 10: Espectro de RMN de ^1H de **15a** (CDCl_3 , 300 MHz)

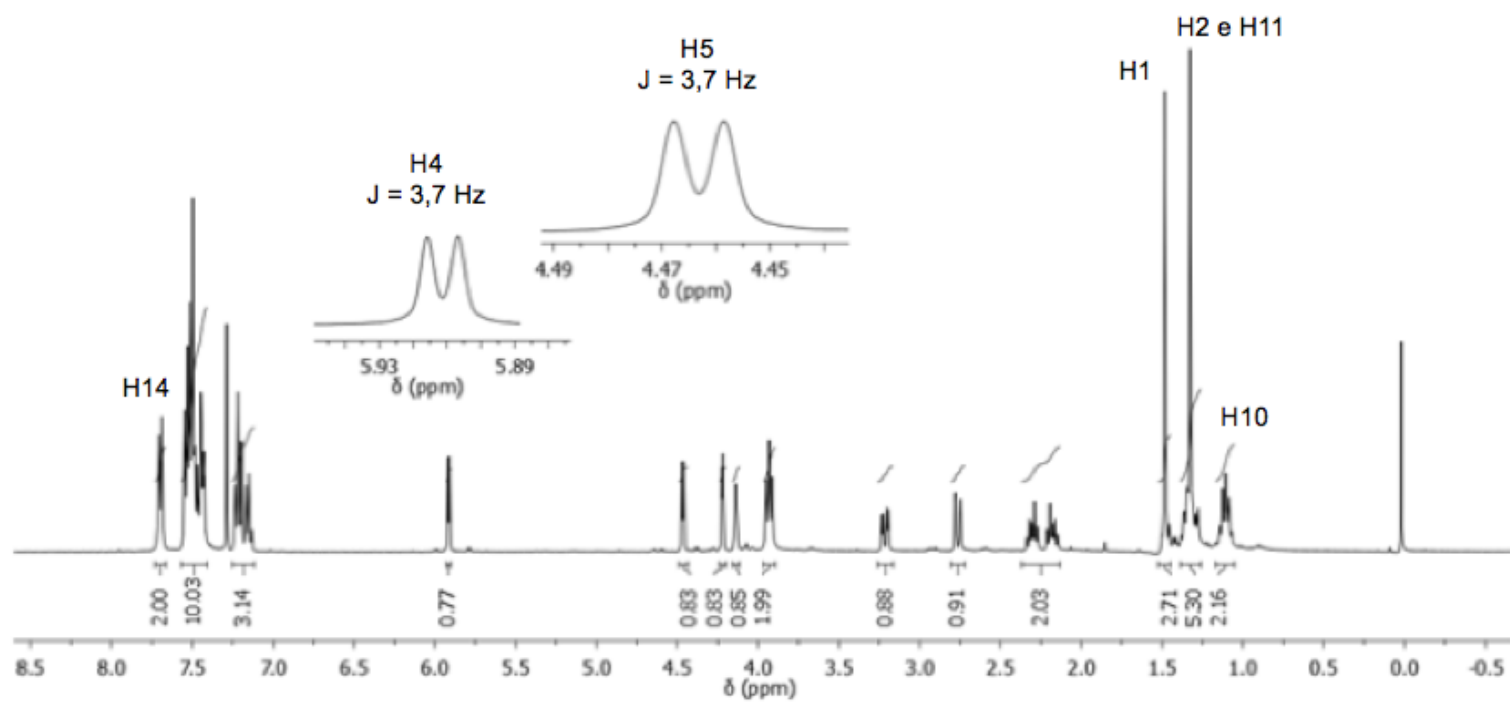
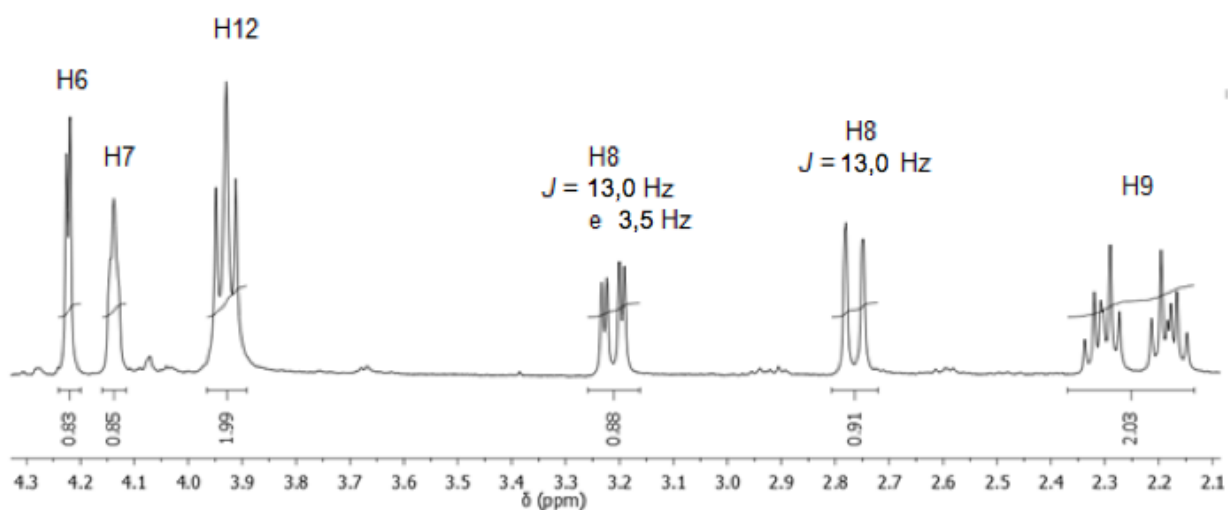
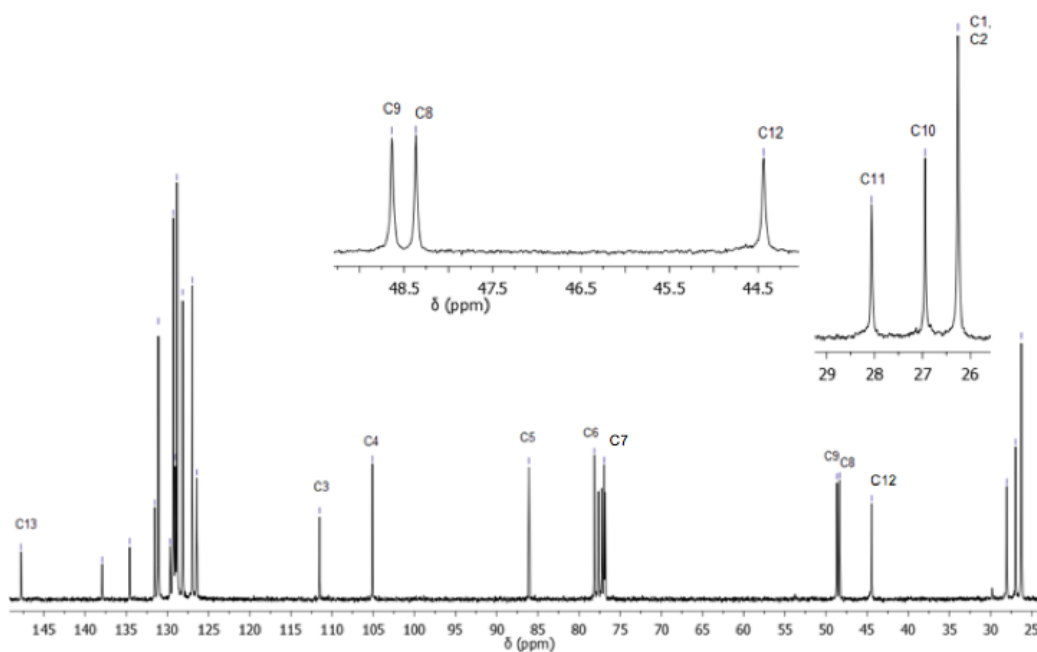


Figura 11: Ampliação do espectro de RMN de ^1H entre 2,1 e 4,3 ppm.



No espectro de RMN ^{13}C apresentado na Figura 12 observa-se em 147,7 ppm o carbono referente ao C13, em 111,5 ppm o sinal referente ao C3, em 105,1 ppm referente ao carbono anomérico C4. Em 86,1 ppm destaca-se o sinal do C5, em 78,1 ppm do C6. Já em 48,6 ppm temos o sinal do C9 e em 48,4 ppm referente ao C8.

Figura 12: Espectro de RMN de ^{13}C do composto **15a** (CDCl_3 , 300 MHz)



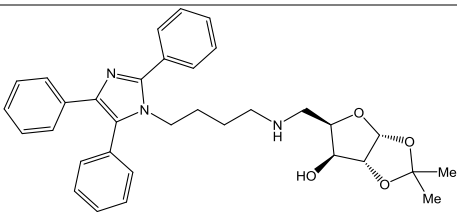
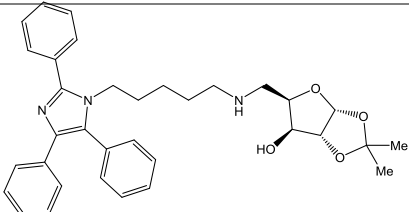
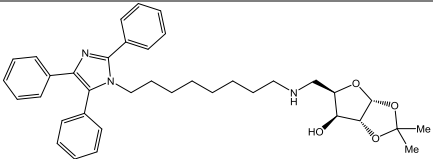
4.3 INIBIÇÃO DAS ENZIMAS COLINESTERASES

As moléculas resultantes neste trabalho foram os híbridos contendo os núcleos lofina e derivados de carboidratos, que foram avaliados quanto à capacidade de inibição das enzimas colinesterases (ChE): acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) através do método de Ellman.⁵³ As análises biológicas foram realizadas em parceria com o Laboratório de Bioquímica de Proteínas e Peptídeos na Fundação Oswaldo Cruz - IOC (FioCruz), no Rio de Janeiro.

Foram sintetizados 3 compostos híbridos lofina-D-xilose ligados por uma cadeia espaçadora metilênica, e foram realizadas análises de inibição das colinesterases, os resultados do IC₅₀ estão apresentados na Tabela 1.

Através dos resultados de IC₅₀, que é a concentração necessária das moléculas para inibir em 50% a atividade das enzimas colinesterases, pode-se constatar que as moléculas sintetizadas se mostram seletivas para as enzimas BuChE. Essa seletividade pode ser explicada primeiramente pela presença do núcleo lofina, que é um grupamento volumoso, portanto a interação com as enzimas BuChE é facilitada em comparação às AChE, pois estas possuem resíduos de aminoácidos mais volumosos no sítio ativo que a BuChE, proporcionando, dessa forma, uma interação mais eficaz com as BuChE. Percebe-se, também, que as moléculas que possuem uma cadeia espaçadora metilênica menor (n=4, n=5) apresentaram maior seletividade para BuChE, entretanto a molécula com n=8 apresentou a melhor atividade inibitória para BuChE, pois possui o menor valor de IC₅₀.

Tabela 1: Híbridos sintetizados

Molécula	Rendimento	IC ₅₀	
		IC ₅₀ [Intervalo de confiança] AChE (μM)	IC ₅₀ [Intervalo de confiança] BuChE (μM)
 <p>LOFINA-XILOSE n = 4</p>	46%	1,23 [0,52 a 2,91]	0,295 [1,80 a 4,85]
 <p>LOFINA-XILOSE n = 5</p>	67%	3,79 [1,82 a 7,86]	0,277 [1,72 a 4,45]
 <p>LOFINA-XILOSE n = 8</p>	31%	1,89 [0,88 a 4,07]	1,30 [0,94 a 1,80]

4.4 MODELAGEM MOLECULAR

Os estudos de modelagem molecular dos híbridos foram feitos pelo no Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC), em Petrópolis-RJ. Métodos computacionais de *docking* molecular receptor-ligante são de grande importância para o planejamento e desenho de novos fármacos. O objetivo é o de explicar o modo de ligação e a afinidade de um candidato a fármaco dentro do sítio ativo de um receptor alvo envolvido em alguma doença investigada.⁵⁴ Para o estudo de modelagem molecular referente à enzima AChE

foi utilizado o método de *ensemble docking*, que consiste na realização do *docking* molecular em cada estrutura representante com o objetivo de incluir implicitamente a flexibilidade proteica. Neste contexto, as estruturas selecionadas foram do *Torpedo californica*. Os estudos de *ensemble docking* foram realizados com o programa de *docking* molecular GOLD.

Os compostos sintetizados nesse trabalho se mostraram seletivos para a enzima BuChE, pois apresentaram valores de IC₅₀ menores em relação à enzima AChE, sendo ambos os resultados na faixa de concentração micromolar. Essa diferença de atividade pode ser explicada pela diferença dos resíduos de aminoácidos presentes nas cavidades das enzimas. Como a BuChE apresenta aminoácidos menos volumosos, é possível que ocorra a interação com substratos mais volumosos, sendo assim uma enzima menos seletiva. O fato de o grupo lofina ser um núcleo volumoso explica parcialmente essa diferença nas atividades, pois possivelmente há uma dificuldade maior de interação no sítio de ligação mais estreito da AChE.

As interações envolvidas entre enzima e substrato são através de interação eletrostática entre o grupo amino, carregado positivamente, com a cadeia lateral do Asp70. Há também interação do tipo T-stacking com o resíduo Trp231 do sítio hidrofóbico envolvido na seletividade para BuChE (Figura 13). Em relação às enzimas AChE ocorrem, provavelmente, interações de *stacking* com resíduos aromáticos do núcleo lofina no fundo do sítio de ligação (Trp84, Phe330, Trp432), e ligação de hidrogênio entre o grupo hidroxila da xilose com a cadeia principal da Phe288 (Figura 14).

Figura 13: Interação entre o grupo lofina do inibidor lofina(5)-D-Xilose com Trp231 localizado em um sítio de ligação adjacente no fundo da cavidade da enzima BuChE (PDB ID 5K5E). Interação de stacking está representada como linha pontilhada azul.

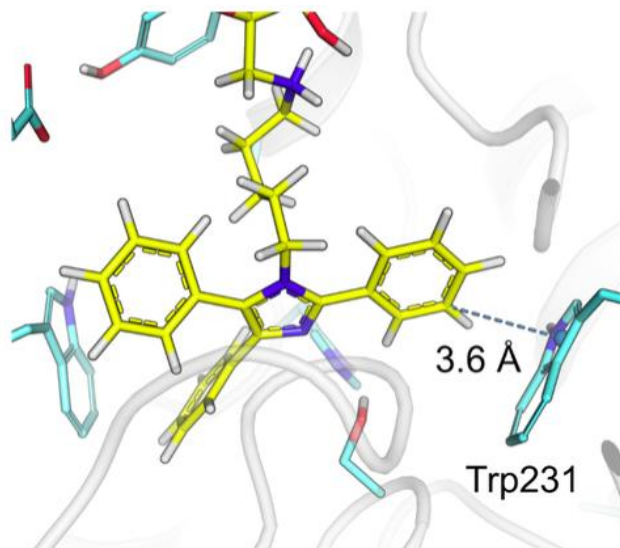
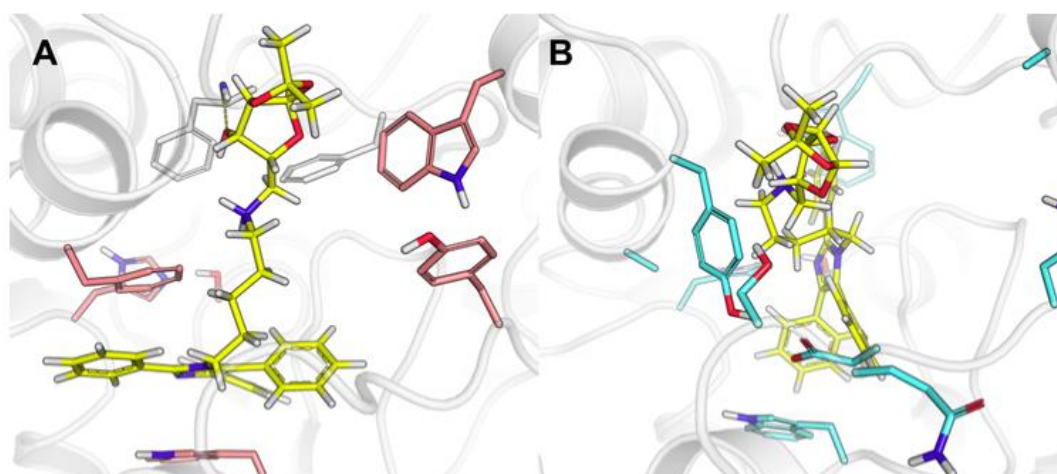


Figura 14: Resultado de docking do composto lofina(5)- D- Xilose na AChE: 1ZGC (A) e na BuChE: 5K5E (B).



5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizadas três moléculas híbridas contendo os núcleos lofina e derivados da D-xilose unidos por uma cadeia espaçadora metilênica. Para a obtenção do núcleo lofina foi adotada uma metodologia de reação de proteção seletiva das alcanodiaminas, em seguida foi empregada a reação do tipo tetracomponente, e finalmente a desproteção do grupamento amino gerando os intermediários nucleofílicos contendo o núcleo lofina e o grupo amino separados por uma cadeia metilênica espaçadora. A partir dessas moléculas contendo o núcleo lofina foi possível realizar a síntese de novos híbridos, acoplando núcleos eletrofílicos, neste caso os derivados de D-xilose. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de ^1H e ^{13}C .

As moléculas híbridas finais de interesse foram obtidas com pureza apropriada conforme verificada nos espectros de RMN de ^1H . Assim sendo, foram enviadas para o Laboratório de Bioquímica de Proteínas e Peptídeos na Fundação Oswaldo Cruz - IOC (FioCruz), onde foram realizados os ensaios de inibição das enzimas colinesterases. As três moléculas apresentaram bons resultados de IC_{50} em relação às enzimas AChE e BuChE na escala micromolar. Além disso, alguns compostos se mostraram seletivos para a BuChE, ao apresentarem maior atividade de inibição de uma enzima em relação à outra, fato que é muito interessante visto que a concentração da enzima BuChE aumenta em casos avançados da DA. Foram feitos, do mesmo modo, estudos de modelagem molecular dos híbridos em parceria com o Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC). Esse estudo molecular evidenciou a dupla interação enzimática mostrando a interação do núcleo lofina no fundo da cavidade enzimática e a interação de hidrogênio do grupamento hidroxila na entrada da cavidade enzimática.

6 PARTE EXPERIMENTAL

6.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os intermediários e híbridos sintetizados foram caracterizados por RMN de ^1H e de ^{13}C .

6.1.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

As análises de RMN de ^1H e de ^{13}C foram realizadas em uma solução de clorofórmio deuterado no espectrômetro Varian VNMRS modelo INOVA, 300 MHz, no Instituto de Química da UFRGS. O tempo de relaxação em ambas as análises foi de 1,0 segundo. Os sinais são descritos em ordem decrescente de deslocamento químico. Os deslocamentos químicos (δ) são apresentados em partes por milhão (ppm), considerando o tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. As multiplicidades são representadas da seguinte forma: s = singlete, sl = singlete largo, d = duplete, t = tripleto, q = quarteto, qn = quinteto, dd = duplo duplete, m = multiplete; o número de hidrogênios foi deduzido da integral relativa e a constante de acoplamento (J) é dada em Hertz (Hz).

6.1.2 Solventes e Reagentes

Para a purificação por cromatografia em coluna foi utilizada como fase estacionária sílica gel 60 Å (70-230 mesh) fornecida pela Acros. Na cromatografia por camada delgada (CCD) utilizaram-se placas de alumínio com 0,2 mm de sílica gel 60F-254 (Macherey-Nagel). A trietilamina P.A. utilizada na fase móvel para cromatografia foi fornecida pela Aldrich e os demais solventes P.A. utilizados nas reações e nas purificações pela Nuclear. O isopropanol de grau HPLC foi fornecido pela Tedia.

6.2 PROCEDIMENTO GERAL PARA A PROTEÇÃO DAS 1,N-ALCANODIAMINAS (3a-c)

A uma solução contendo 3 equivalentes (39,0 mmol) de 1,N-alcanodiamina dissolvida em 240 mL de clorofórmio, adicionou-se com um funil de adição, a 0 °C, o dicarbonato de di-*terc*-butila (Boc₂O; 1,0 equiv., 6,5 mmol) dissolvido em 6,0 mL de clorofórmio, durante 2 h. Após a adição, a reação ficou à temperatura ambiente. Ao final do tempo reacional de 24 h, filtrou-se o sólido branco formado e o líquido remanescente foi evaporado em rotaevaporador. O óleo obtido foi dissolvido em acetato de etila e lavado com solução saturada de NaCl (3x35 mL). O produto foi extraído da fase aquosa com AcOEt (2x25 mL) e os extratos orgânicos foram combinados, secos com Na₂SO₄, 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).

6.2.1 (4-aminobutil)carbamato de *terc*-butila (3a)

Óleo amarelo ; rendimento : 69% ; RMN de ¹H (CDCl₃) δ 4,68 (sl, 1H), 3,17-3,10 (m, 2H), 2,73 (t, *J*= 6,8 Hz, 2H), 1,62 (sl, 2H), 1,57-1,49 (m, 4H), 1,46 (s, 9H).

6.2.2 (5-aminopentil)carbamato de *terc*-butila (3b)

Óleo amarelo; rendimento: 69%

6.2.3 (6-aminoocetil)carbamato de *terc*-butila (3c)

Óleo amarelo; rendimento: 38%; RMN de ¹H (CDCl₃) δ 4,67 (sl, 1H), 3,13-3,05 (m, 2H), 2,70-2,59 (m, 2H), 1,51-1,34 (m, 8H), 1,31-1,22 (m, 15H); RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 155,7; 78,4; 41,9; 40,3; 33,5; 29,8; 29,2; 29,0; 28,2; 26,6; 26,5.

6.3 PROCEDIMENTO GERAL PARA A SINTESE TETRACOMPONENTE DE *tert*-BUTIL(*N*-(2,4,5-TRIFENIL-1*H*-IMIDAZOL-1-IL)ALQUIL)CARBAMATO DE *tert*-BUTILA (**7a-c**)

Às 1,*n*-alcanodiaminas protegidas foram misturados a benzila (2,0 mmol), o benzaldeído (2,0 mmol), o acetato de amônio (2,0 mmol ; pré-seco sob alto vácuo), o InCl₃ (0,3 mmol) e 2 mL de etanol absoluto. A reação ocorreu à 80 °C, sob refluxo, por 12 h. Após este período mais 2,0 mmol de benzaldeído, de benzila e de acetato de amônio foram adicionados, e a mistura reacional permaneceu sob refluxo por mais 12 h. Após o término da reação o solvente foi evaporado e o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente Hexano:AcOEt:Et₃N com eluição por gradiente (90 : 9 : 1; 80 : 19 : 1 ; 70 : 29 :1 ; 60 : 39 : 1 ; 50 : 49 : 1 ; 0 : 99 : 1).

6.3.1 (4-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)butil)carbamato de *tert*-butila (**7a**)

Óleo amarelo; rendimento: 70%; RMN de ¹H (CDCl₃) δ 7,69-7,63 (m, 2H), 7,55-7,37 (m, 10H), 7,24-7,08 (m, 3H), 4,22 (sl, 1H), 3,90 (t, 2H), 2,86-2,66 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 1,35-1,32 (m, 2H), 1,16-1,05 (m, 2H); RMN de ¹³C (CDCl₃) δ 155,9; 147,8; 137,9; 134,6; 131,5; 131,1; 129,6; 129,3; 129,1; 128,9; 128,8; 128,2; 127,0; 126,4; 125,6; 79,3; 44,4; 39,7; 28,6; 27,7; 26,8.

6.3.2 (5-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)pentil)carbamato de *tert*-butila (**7b**)

Sólido branco; rendimento: 81% p.f. 59-60 °C; IV (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 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 ; 136,9 ; 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

6.3.3 (8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octil)carbamato de *terc*-butila (7c)

Óleo amarelo; rendimento: 57%; RMN de 1H (DMSO- d_6) δ 7,78-7,66 (m, 2H), 7,55-7,39 (m, 10H), 7,21-7,08 (m, 3H), 6,80-6,70 (m, 1H), 3,93-3,80 (m, 2H), 2,83-2,79 (m, 2H), 1,36 (s, 9H), 1,29-1,19 (m, 4H), 1,07-0,76 (m, 8H); RMN de ^{13}C (DMSO- d_6) δ 156,0; 147,2; 137,0; 135,2; 131,6; 131,3; 130,2; 129,6; 129,3; 129,2; 129,1; 128,5; 126,6; 125,7; 77,7; 44,6; 40,3; 29,9; 29,8; 28,8; 28,6; 28,3; 26,6; 25,8.

6.4 PROCEDIMENTO GERAL PARA A DESPROTEÇÃO DE 7a-c E OBTENÇÃO DAS N-(2,4,5-TRIFENIL-1H-IMIDAZOL-1-IL)ALCANO-1-AMINA (13a-c)

Ao (*N*-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)alquil)carbamato de *terc*-butila (1,0 mmol) dissolvido em 2,2 mL de CH_2Cl_2 , foi adicionado 1,0 mL de ácido trifluoroacético. A reação durou 2 h à temperatura ambiente. Em seguida o TFA foi evaporado no rotaevaporador utilizando diclorometano como co-solvente. Após o óleo obtido foi ressolubilizado em 2 mL de CH_2Cl_2 e foram adicionados 522 mg de carbonato de sódio. A mistura foi mantida sob agitação por 2 h até completa neutralização. O sólido foi filtrado, e o solvente foi evaporado em rotaevaporador em alto vácuo. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente $CHCl_3:MeOH:Et_3N$ (90:9:1).

6.4.1 4-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)butano-1-amina (13a)

Óleo amarelo; rendimento: 74%; RMN de 1H ($CDCl_3$) δ 7,72-7,66 (m, 2H), 7,54-7,39 (m, 10H), 7,23-7,08 (m, 3H), 3,97-3,84 (m, 2H), 2,34 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 1,43- 1,26 (m, 2H), 1,23 (sl, 2H), 1,07 (qn, $J = 7,2$ Hz, 2H); RMN de ^{13}C ($CDCl_3$) δ 147,8; 137,9;

134,7; 131,7; 131,6; 131,1; 129,7; 129,3; 129,2; 129,0; 128,9; 128,8; 128,2; 126,9; 126,4; 44,6; 41,3; 30,3; 27,9.

6.4.2 5-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)pentano-1-amina (13b)

Óleo amarelo; rendimento: 92%; IV (KBr) $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3433, 3058, 2922, 2851, 1595, 1503, 1437, 768, 692; RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) 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); 1,48 (br, 2H); 1,32 (dt, $J = 15,0$; 7,5 Hz; 2H); 1,14 – 0,86 (m, 4H); RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) 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 $[\text{M-H}]^+$ 382,2278; encontrado 382,2278

6.4.3 8-(2,4,5-trifenil-1H-imidazol-1-il)octano-1-amina (13c)

Óleo amarelo; rendimento: 87%; RMN de ^1H (CDCl_3) δ 7,73-7,65 (m, 2H), 7,57-7,38 (m, 10H), 7,33-7,08 (m, 3H), 3,94-3,81 (m, 2H), 2,60 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H), 1,63 (sl, 2H), 1,40-1,24 (m, 4H), 1,16-0,94 (m, 8H); RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ 147,7; 137,7; 134,7; 131,7; 131,6; 131,1; 129,7; 129,3; 129,1; 128,9; 129,7; 128,1; 126,9; 126,3; 44,8; 42,2; 33,6; 30,4; 29,1; 28,6; 26,7; 26,2.

6.5 PREPARAÇÃO GERAL PARA A SÍNTESE DOS HÍBRIDOS LOFINA(n)-DERIVADO DE CARBOIDRATOS

Uma mistura contendo 0,3 mmol do derivado tosilado da D-xilose e 0,6 mmol das aminas contendo o núcleo lofina foi diluída em 1,0 mL de isopropanol, previamente armazenado em peneira molecular para remoção do excesso de água. A mistura foi ambientada em atmosfera inerte e mantida sob aquecimento a 83 °C em um frasco vedado e sob agitação durante 72 horas. Decorrido este tempo, a reação foi diluída em 20 mL de diclorometano e tratada com soluções aquosas saturadas de NaHCO_3 (20 mL), seguido de NaCl (20 mL) e água (20 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro, e

o solvente foi evaporado em rotaevaporador. O produto bruto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como mistura eluente hexano : AcOEt (1 : 1) até a remoção do tosilato de partida e CHCl₃ : CH₃OH (98 : 2) até a remoção do produto puro da fase estacionária.

6.5.1 Híbrido lofina(4)-derivado da D-Xilose

Sólido amarelo; rendimento: 46%; ponto de fusão: 67-68° C; $[\alpha]_D^{20} = +19,0^\circ$ (c 0,237, CH₂Cl₂); IV (KBr) ν_{max}/cm^{-1} : 3059, 2983, 2937, 2853, 1434, 1372, 1213, 1161, 1069, 1001, 781, 697; RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) d 7,70 (dd, *J* = 7,9, 1,3 Hz, 2H); 7,56 – 7,41 (m, 10H); 7,24 – 7,11 (m, 3H); 5,91 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H); 4,46 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H); 4,22 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H); 4,14 (s, 1H); 3,93 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H); 3,21 (dd, *J* = 13,0, 3,5 Hz, 1H); 2,76 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H); 2,39 – 2,11 (m, 2H); 1,49 (s, 3H); 1,39 – 1,27 (m, 5H); 1,16 – 1,02 (m, 2H); RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) d 147,8; 137,9; 134,6; 131,5; 131,1; 129,6; 129,3; 129,0; 128,8; 128,1; 127,0; 126,4; 111,5; 105,1; 86,0; 78,1; 76,9; 48,6; 48,4; 44,4; 28,1; 26,9; 26,3; HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 540,2857; encontrado 540,2851.

6.5.2 Híbrido lofina(5)-derivado da D-Xilose

Sólido amarelo; rendimento: 67%; ponto de fusão: 53-54 °C; $[\alpha]_D^{20} = -107,6^\circ$ (c 0,196, CH₂Cl₂); RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) d 7,72 – 7,63 (m, 2H); 7,57 – 7,36 (m, 10H); 7,24 – 7,09 (m, 3H); 5,91 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H); 4,45 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H); 4,23 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H); 4,15 (s, 1H); 4,06 (s, 1H); 3,88 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 3,27 (dd, *J* = 12,9, 3,4 Hz, 1H); 2,81 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H); 2,48 – 2,11 (m, 2H); 1,47 (s, 3H); 1,31 (s, 5H); 1,08 (s, 2H); 0,96 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H); RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) d 147,8; 138,0; 134,7; 131,7; 131,6; 131,2; 129,7; 129,4; 129,3; 129,1; 128,9; 128,2; 127,0; 126,4; 111,6; 105,2; 86,2; 78,4; 77,0; 49,2; 48,6; 44,6; 30,2; 28,7; 27,0; 26,3; 23,8; HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 554,3013; calculado 554,3012.

6.5.3 Híbrido lofina(8)-derivado da D-Xilose

Óleo amarelo; rendimento: 31%; $[\alpha]_D^{20} = +38,7^\circ$ (c 0,281, CH₂Cl₂); RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,68 (dd, $J = 8,0, 1,6$ Hz, 2H); 7,55 – 7,37 (m, 10H); 7,23 – 7,07 (m, 3H); 5,94 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H); 4,48 (d, $J = 3,7$ Hz, 1H); 4,27 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H); 4,23 – 4,10 (m, 2H); 3,90 – 3,81 (m, 2H); 3,36 (dd, $J = 13,0, 3,5$ Hz, 1H); 2,93 (d, $J = 11,8$ Hz, 1H); 2,65 – 2,38 (m, 2H); 1,54 – 0,79 (m, 15H); RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ 147,6; 137,7; 134,5; 131,5; 131,6; 131,0; 129,6; 129,2; 129,0; 128,8; 128,6; 128,0; 126,8; 126,2; 111,4; 105,0; 86,0; 78,1; 76,9; 49,5; 48,4; 44,6; 30,2; 29,7; 29,3; 28,9; 28,4; 26,8; 26,1; 26,0; HRMS-ESI: calculado [M-H]⁺ 596,3483; calculado 596,3481.

7 REFERÊNCIAS

1. BERCHTOLD, N.C.; COTMAN, C.W.. Evolution in the Conceptualization of Dementia and Alzheimer's Disease: Greco-Roman Period to the 1960s. **Neurobiology of Aging**, v. 19, n. 3, p.173-189, 1998.
2. Falco et al. Alzheimer's disease: Etiological hypotheses and treatment perspectives. **Química Nova**, p.63-80, 2015.
3. VOS, T. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **The Lancet**, v. 390, n. 10100, p.1211-1259, 2017.
4. MASTERS, C. L. et al. Alzheimer's disease. **Nature Reviews Disease Primers**, p.15056-15074, 2015.
5. BARTUS, R. et al. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. **Science**, v. 217, n. 4558, p.408-414, 1982.
6. COYLE, J.; PRICE, D.; DELONG, M.. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. **Science**, v. 219, n. 4589, p.1184-1190, 1983.
7. DAVIES, P. Selective loss of central cholinergic neurons in alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 308, n. 8000, p.1403-1403, 1976.
8. KÁSA, P. ; RAKONCZAY, Z.; GULYA, K. The cholinergic system in Alzheimer's disease. **Progress In Neurobiology**, v. 52, n. 6, p.511-535, 1997
9. TERRY, A. V. The Cholinergic Hypothesis of Age and Alzheimer's Disease-Related Cognitive Deficits: Recent Challenges and Their Implications for Novel Drug Development. **Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics**, v. 306, n. 3, p.821-827, 2003.
10. BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso**. 3ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2010.
11. NELSON, D. F.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2011.
12. LONG, Jonathan Z.; CRAVATT, B. F. The Metabolic Serine Hydrolases and Their Functions in Mammalian Physiology and Disease. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p.6022-6063, 2011.
13. GIACOBINI, E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. **Pharmacological Research**, v. 50, n. 4, p.433-440, 2004.

14. HOUGHTON, P. J.; REN, Y.; HOWES, M. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. **Natural Product Reports**, v. 23, n. 2, p.181-201, 2006.
15. DVIR, H. et al. Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. **Chemico-biological Interactions**, v. 187, n. 1-3, p.10-22, 2010.
16. SILMAN, I.; SUSSMAN, J. L. Acetylcholinesterase: 'classical' and 'non-classical' functions and pharmacology. **Current Opinion In Pharmacology**, v. 5, n. 3, p.293-302, 2005.
17. BAJDA, M. et al. Structure-Based Search for New Inhibitors of Cholinesterases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 3, p. 5608-5632, 2013.
18. JOHNSON, G.; MOORE, S. The Peripheral Anionic Site of Acetylcholinesterase: Structure, Functions and Potential Role in Rational Drug Design. **Current Pharmaceutical Design**, v. 12, n. 2, p.217-225, 2006.
19. LI, Qi et al. Recent progress in the identification of selective butyrylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 132, p.294-309, 2017.
20. REID, G. A.; DARVESH, S. Butyrylcholinesterase-knockout reduces brain deposition of fibrillar β -amyloid in an Alzheimer mouse model. **Neuroscience**, v. 298, p.424-435, 2015.
21. CRISMON, M. L. Tacrine: First Drug Approved for Alzheimer's Disease. **Annals Of Pharmacotherapy**, v. 28, n. 6, p.744-751, 1994.
22. PARSONS, C. G. et al. 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**, v. 53, n. 6, p.699-723, 2007.
23. PANG, Y. et al. Highly Potent, Selective, and Low Cost Bis-tetrahydroaminacrine Inhibitors of Acetylcholinesterase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 39, p.23646-23649, 1996.
24. ZHANG, Li et al. Preclinical characterization of intestinal absorption and metabolism of promising anti-Alzheimer's dimer bis(7)-tacrine. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 357, n. 1-2, p.85-94, 2008.
25. LOPES, J. et al. Chiral Bistacrine Analogues: Synthesis, Cholinesterase Inhibitory Activity and a Molecular Modeling Approach. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, p.2218-2228, 2017.

26. XIAO, X. Q.; WANG, R. TANG, X. C.; Huperzine A and tacrine attenuate β -amyloid peptide-induced oxidative injury. **Journal Of Neuroscience Research**, v. 61, n. 5, p.564-569, 2000.
27. EZOULIN, M.j.m. et al. A new acetylcholinesterase inhibitor with anti-PAF activity modulates oxidative stress and pro-inflammatory mediators release in stimulated RAW 264.7 macrophage cells. Comparison with tacrine. **International Immunopharmacology**, v. 7, n. 13, p.1685-1694, 2007.
28. KERI, R. S. et al. Design, synthesis and neuroprotective evaluation of novel tacrine–benzothiazole hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer’s disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 15, p.4559-4569, 2013.
29. MAO, F. et al. Novel tacrine–ebselen hybrids with improved cholinesterase inhibitory, hydrogen peroxide and peroxynitrite scavenging activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 23, n. 24, p.6737-6742, 2013.
30. XIE, S. et al. Multi-target tacrine-coumarin hybrids: Cholinesterase and monoamine oxidase B inhibition properties against Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 95, p.153-165, 2015.
31. FANG, L. et al. Design and synthesis of tacrine–ferulic acid hybrids as multi-potent anti-Alzheimer drug candidates. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 9, p.2905-2909, 2008.
32. JERABEK, J. et al. Tacrine-resveratrol fused hybrids as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 127, p.250-262, 2017.
33. COSTA, J. S. et al. Synthesis of tacrine-lophine hybrids via one-pot four component reaction and biological evaluation as acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, p.556-563, 2013.
34. CESCHI, M. A. et al. Novel series of tacrine-tianeptine hybrids: Synthesis, cholinesterase inhibitory activity, S100B secretion and a molecular modeling approach. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 121, p.758-772, 2016.
35. CARDOSO, A. L. et al. Selective Synthesis of Tetrasubstituted 4-(Tetrazol-5-yl)-1H-imidazoles from 2-(Tetrazol-5-yl)-2H-azirines. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2014, n. 24, p.5159-5165, 2014.
36. PURATCHIKODY, A.; DOBLE, M.; Antinociceptive and antiinflammatory activities and QSAR studies on 2-substituted-4,5-diphenyl-1H-

- imidazoles. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 2, p.1083-1090, 2007.
37. FRIDMAN, N. et al. Crystal structures and solution spectroscopy of lophine derivatives. **Journal Of Molecular Structure**, v. 917, n. 2-3, p.101-109, 2009.
38. DWEK, R. A. Glycobiology: Toward Understanding the Function of Sugars. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 2, p.683-720, 1996.
39. OLIVERI, V.; VECCHIO, G. Glycoconjugates of Quinolines: Application in Medicinal Chemistry. **Mini-reviews In Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 15, p.1185-1194, 2016.
40. GABIUS, H. et al. From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 36, n. 6, p.298-313, 2011.
41. HUDSON, K. L. et al. Carbohydrate–Aromatic Interactions in Proteins. **Journal of The American Chemical Society**, v. 137, n. 48, p.15152-15160, 2015.
42. SPIWOK, V. CH/ π Interactions in Carbohydrate Recognition. **Molecules**, v. 22, n. 7, p.1038-1038, 2017.
43. ASENSIO, J. L. et al. Carbohydrate–Aromatic Interactions. **Accounts of Chemical Research**, v. 46, n. 4, p.946-954, 2012.
44. PERISSUTTI, E. et al. Synthesis of 6b-d-glucosyl and 6-nitroxy(–)galanthamine derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. **Die Pharmazie – An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 62, n. 6, p. 403-405, 2007.
45. SCHWARZ, S. et al. Microwave-assisted synthesis of novel purine nucleosides as selective cholinesterase inhibitors. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 12, n. 15, p.2446-2456, 2014.
46. XAVIER, N. M. et al. Synthesis of Purine Nucleosides from D-Glucuronic Acid Derivatives and Evaluation of Their Cholinesterase-Inhibitory Activities. **European Journal Of Organic Chemistry**, v. 2014, n. 13, p.2770-2779, 2014.
47. LIANG, C. et al. Effective Synthesis of Nucleosides Utilizing O-Acetyl-Glycosyl Chlorides as Glycosyl Donors in the Absence of Catalyst: Mechanism Revision and Application to Silyl-Hilbert-Johnson Reaction. **Molecules**, v. 22, n. 1, p.84, 2017.
48. BROD, L. M. P. et al. Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of (octylseleno)-xylofuranoside in the mouse tail

suspension test. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 65, p. 201-207, 2016.

49. VARGAS, J. P. et al. Synthesis of Alkylseleno-Carbohydrates and Evaluation of their Antioxidant Properties. **Journal of The Brazilian Chemical Society**, p.810-815, 2015.
50. DARDONVILLE, C. et al. Synthesis and pharmacological studies of new hybrid derivatives of fentanyl active at the μ -opioid receptor and I2-imidazoline binding sites. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 19, p.6570-6580, 2006.
51. JIN, Y.; JUST, G.. Stereoselective Synthesis of Dithymidine Phosphorothioates Using Xylose Derivatives as Chiral Auxiliaries. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 63, n. 11, p.3647-3654,1998.
52. COSTA, Jessie Sobieski da. **SÍNTESE DE COMPOSTOS HÍBRIDOS TACRINA-LOFINA, TACRINA-TIANEPTINA E DÍMEROS BIS(n)-LOFINAS COM POTENCIAL APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER**. 2014. 259 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
53. ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.
54. GUEDES, I. A., DE MAGALHÃES, C. S. DARDENNE, L. E. Receptor–ligand molecular docking. **Biophysical Reviews**, v. 6, n. 1, p. 75-87, 2013.