

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

VIVIANE CORRÊA DE ALMEIDA FERNANDES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS INIBIDORES AChE
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO

Brasília

2014

VIVIANE CORRÊA DE ALMEIDA FERNANDES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS INIBIDORES AChE
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio Soares
Romeiro

Brasília

2014

VIVIANE CORRÊA DE ALMEIDA FERNANDES

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS INIBIDORES AChE
PLANEJADOS A PARTIR DO ÁCIDO ANACÁRDICO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 24 de março de 2014.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro – UnB

Prof. Dr. Ricardo Menegatti – UFG

Profa. Dra. Djane Braz Duarte – UnB

Brasília
2014

*Esta dissertação é dedicada a meus pais, José Jair e Celma, minha Madrinha
Márcia e ao meu esposo Jefferson.*

AGRADECIMENTOS

À Deus que diante de sua onipotência e onisciência se fez e se faz presente em todos os momentos de minha trajetória.

Aos meu esposo Jefferson, pelo apoio, amizade, companheirismo e por me incentivar a desenvolver este trabalho.

Aos meus pais, José Jair e Celma, pelo amor, por acreditar em meus sonhos e por serem responsáveis pela pessoa que hoje me tornei.

À minha madrinha, Márcia Helena, que foi desde pequena responsável pela minha formação educacional.

Ao professor Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro pela orientação, discussões teóricas, pelas oportunidades, dedicação e paciência.

Aos professores e alunos do Laboratório de Farmacologia Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Dr. Newton G. Castro, Fernanda M. R. da Silva e Marina da Silva Boni pela realização dos ensaios farmacológicos.

À Margareth Amaral dos Santos Marques da Central Analítica da Universidade Católica de Brasília (UCB) pela realização dos espectros de Infravermelho (IV) e pesagem das amostras.

À MSc. Patrícia Coelho e ao Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira do Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) da Universidade Federal do Ceará pela concessão de espectros RMN ^1H e RMN ^{13}C .

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (Capes) pela concessão de bolsa de estudos.

Aos amigos do Laboratório De Desenvolvimento e Estratégia Terapêutica (LADETER) pelo incentivo, discussões e companheirismo.

À banca examinadora por aceitar o convite, e desde já pelas críticas e contribuições no enriquecimento do trabalho.

“Acredite, corra atrás, a única coisa que existe entre você e o seu sonho é o
seu medo.”

Roger Stankewski

RESUMO

FERNANDES, Viviane Corrêa de Almeida Fernandes. **Síntese e avaliação farmacológica de novos inibidores AChE planejados a partir do ácido anacárdico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa que se instala de forma lenta, progressiva e irreversivelmente. Atualmente o tratamento visa restabelecer as funções colinérgicas utilizando inibidores da acetilcolinesterase (iAChE). No âmbito do programa de pesquisa que visa à utilização dos lipídeos fenólicos do líquido da castanha do caju como arca-bouços moleculares no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos descreveram neste trabalho a síntese e a avaliação farmacológicas de novos iAChE, planejados a partir do ácido anacárdico. Neste contexto, foram sintetizados 25 compostos, fornecendo os compostos finais em rendimentos globais de 14% a 29%, sendo de 47% a 98% para a reação S_N2 com as amins-alvo. Os resultados farmacológicos referentes à inibição da AChE evidenciaram a capacidade desses ligantes atuarem sobre a enzima. Os compostos benzilamínicos apresentaram perfil de inibição da atividade anticolinesterásica que variaram de 61% a 76%, com destaque para LDT436 (**45**) e LDT438 (**51**) com IC_{50} 2,1 μ M e 4,0 μ M, respectivamente. Entre os compostos amínicos LDT532 (**48**) apresentou melhor perfil (66%, IC_{50} 6,1 μ M). Para os compostos bioisósteros piperidínicos, o derivado LDT410 (**29**) mostrou melhor perfil de inibição com IC_{50} 8,2 μ M. Os compostos piperazínicos e arilpiperazínicos não apresentaram atividade inibitória significativa (9% a 42%). Os compostos pirrolidínico e piperidínicos hidroxilados apresentaram bons resultados (53% a 63%), exceto LDT420 (**36**) com 26% de inibição. Os resultados sugerem que grupos ALH são tolerados nas posições 2 e 3 nas amins heterocíclicas do que do que na posição 4. Estudos de modelagem molecular, resolução enantiomérica e a avaliação da atividade antiagregante da proteína β amilóide induzida pela AChE compreendem às perspectivas deste trabalho para validação do planejamento estrutural visando a obtenção de inibidores duais.

Palavras-chave: Doença de Alzheimer, iAChE, LCC, Ácido Anacárdico.

ABSTRAT

FERNANDES, Viviane Corrêa de Almeida Fernandes. **Synthesis and pharmacological evaluation of new AChE inhibitors designed from anacardic acid.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease that develops slowly, progressively and irreversibly so. Currently the treatment aims to restore cholinergic functions using the acetylcholinesterase inhibitors (iAChE). As part of the research program that aims to use the phenolic lipids liquid cashew as molecular scaffolds in the development of new therapeutic agents described herein the synthesis and pharmacological evaluation of new iAChE, designed from anacardic acid. In this context, 25 final compounds were synthesized in overall yields from 14% to 29%, being from 47% to 98% the yield for the SN2 reaction of the target-amines. The pharmacological results concerning the inhibition of AChE showed the ability of these ligands act on the enzyme. The benzilamínicos derivatives showed inhibition profile of acetylcholinesterase activity ranging from 61% to 76%, highlighting LDT436 (**45**) and LDT438 (**51**) with IC₅₀ 2.1mM and 4.0mM, respectively. Among the amine derivatives LDT532 (**48**) showed the best profile (66%, IC₅₀ 6.1mM) . For bioisosters piperidine derivatives, derivative LDT410 (**29**) showed better inhibition profile with IC₅₀ 8.2 mM. The piperazine arylpiperazine derivatives and showed no significant inhibitory activity (9% to 42%). The hydroxylated piperidine and pyrrolidine derivatives showed good results (53% to 63%), other LDT420 (**36**) with 26% inhibition. The results suggest that HLA groups are tolerated in positions 2 and 3 in which the heterocyclic amines than at position 4. Computational studies in molecular modeling, enantiomeric resolution and evaluation of antiplatelet activity of AChE protein induced by amyloid β understand the perspectives of this work to validate the structural design in order to obtain dual inhibitors.

Keywords : Alzheimer's disease, AChEi, CNSL, Anacardic Acid .

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	População por faixa etária no mundo	19
Figura 2:	Projeção da população do Brasil por sexo e idade para o período de 2010 e 2050	20
Figura 3	Esquema do processo sináptico e da liberação de Ach, com envolvimento dos receptores nicotínicos (N) e muscarínicos (M).	24
Figura 4:	Clivagem da PPA pelas vias não-amiloidogênica e amiloidogênica	26
Figura 5:	Hiperfosforilação da proteína tau levando à formação de NFTs	27
Figura 6:	Estrutura dos fármacos iAChE e antagonista NMDAR	29
Figura 7:	Esquema dos neurônios pré- e pós-sináptico biossíntese e hidrólise da ACh	31
Figura 8:	Visão esquemática da estrutura da AChE representando o sítio catalítico com seus dois subsítios e o sítio aniônico periférico	32
Figura 9:	Inibidores da enzima acetilcolinesterase	33
Figura 10:	Inibidor capaz de atuar sobre o SAP	34
Figura 11:	Dímeros inibidores duais da AChE	35
Figura 12:	Memoquina (13): Inibidor dual da AChE	37
Figura 13:	Similaridade estrutural entre o substrato endógeno ACh (16) e a espectralina (31) no desenho dos protótipos LASSBio-767 (14) e LASSBio-822 (15)	38
Figura 14:	Planejamento racional do derivado LDT185 (18) por hibridação molecular	39
Figura 15:	Planejamento do LDT161 (21) e LDT167 (22) a partir do subunidade farmacofórica da memoquina (13)	40
Figura 16:	Estrutura básica do aquênio e localização do LCC	41
Figura 17:	Lipídeos não isoprenóides presentes no LCC	42
Figura 18:	Ácido anacárdico: sítios de reatividade	44

Figura 19:	Estratégia de similaridade de interação entre o dímero da tacrina e o donepezil	48
Figura 20:	Numeração e legendas empregadas na descrição de sinais em ^1H RMN e ^{13}C RMN	55
Figura 21:	Análise <i>in vitro</i> da atividade dos compostos frente à inibição da atividade da AChE, purificada de <i>E. electricus</i> , em concentração de 30 μM (média \pm EPM de triplicata).	87
Figura 22:	Lista de moléculas-alvo avaliadas frente à AChE.	90
Figura 23:	Estruturas geradas no programa Spartan 6 para mensurar as distâncias.	117
Figura 24:	Relação estrutural dos compostos com o substrato endógeno ACh	118
Figura 25:	Relação estrutural entre a memoquina (13) o donepezil (2) e os derivados benzilamínicos	121

LISTAS DE ESQUEMAS

Esquema 1:	Metodologia sintética geral para obtenção dos compostos-alvo	52
Esquema 2:	Condições reacionais e metodologia utilizada na obtenção dos compostos da série 1 e 2	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Composições químicas dos LCC natural e técnico	43
Tabela 2:	Percentual de inibição enzimática e os valores de IC ₅₀ para os derivados-alvos	88
Tabela 3:	Principais características e sinais espectroscópicos característicos em espectro RMN e no infravermelho	94
Tabela 4:	Derivados amínicos: Características químicas, fator de retenção e rendimentos	95
Tabela 5:	Derivados amínicos acíclicos: Características químicas, fator de retenção e rendimentos	96
Tabela 6:	Características químicas dos compostos LDT424 e LDT425	97
Tabela 7:	Dados de deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C - (δ, ppm) para os compostos LDT410, LDT411 e LDT412	100
Tabela 8:	Dados de deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C (δ, ppm) para os compostos LDT432, LDT433, LDT434 e LDT435	102
Tabela 9:	Dados de deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C (δ, ppm) para os compostos LDT414, LDT416, LDT417 e LDT419	104
Tabela 10:	Dados de deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C - (δ, ppm) para os compostos LDT420, LDT423, LDT429	106
Tabela 11:	Dados de deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C - (δ, ppm) para os compostos LDT436, LDT438, LDT439 e LDT488	108
Tabela 12:	Dados de deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C - (δ, ppm) para os compostos LDT441, LDT532	110
Tabela 13:	Resultados farmacológicos de inibição da	112

acetilcolinesterase bioisómeros cíclicos

Tabela 14:	Resultados farmacológicos de inibição da acetilcolinesterase para os compostos piperazínicos e arilpiperazínicos	114
Tabela 15:	Resultados farmacológicos de inibição da acetilcolinesterase para os compostos piperidínicos	116
Tabela 16:	Distâncias do átomo de oxigênio do grupo acetoxila ao átomo de nitrogênio	117
Tabela 17:	Resultados farmacológicos de inibição da acetilcolinesterase para os compostos amínicos alifáticos e benzilamínicos	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

β A – *Beta* amiloide

ALH – Aceptor de Ligação de Hidrogênio

ACh – Acetilcolina

AChE – Acetilcolinesterase

ADMET – Absorção, Distribuição, DMtabolismo, Excreção e Toxicidade

AINEs – Anti-inflamatórios Não Esferoidais

ApoE – Apolipoproteína E

BACE-1 – β -secretase 1

BACE-2 – β -secretase 2

BuChE – Butirilcolinesterase

c.c.d – Cromatografica de camada delgada

CDK5 – Ciclina Dependente de Quinase 5

ChAT – Colina Acetiltransferase

DA – Doença de Alzheimer

DCM – Diclorometano

DLH – Doador de Ligação de Hidrogênio

FTIR – Espectrofotômetro de infravermelho com Transformada de Fourier

GABA – Ácido γ -Aminobutírico

GSK3 β – Glicogênio sintase-quinase 3 β

iAChE – Inibidor da enzima acetilcolinesterase

IV – Infravermelho

IC₅₀ – Concentração requerida para adquirir 50% do efeito inibitório máximo

J – Constante de acoplamento

K_i – Constante de dissociação do agente competidor

LCC – Líquido da Castanha do Caju

LMAD – Ligante multialvo-dirigido

MO – Microondas

MAPK – Quinase ativada por mitógeno

MeCN – Acetonitrila

NFTs – Emaranhados neurofibrilares

NMDA – *N*-metil-D-aspartato

PPA – Proteína Precursora de Amilóide

PSEN1 – Presenilina 1

PSEN2 – Presenilina 2

RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RMN ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

S α PPA – Fragmento solúvel produzido pela clivagem da α -secretase

SAP – Sítio aniônico periférico

S_N2 – Substituição nucleofílica bimolecular

SNC – Sistema Nervoso Central

TEA – Trietilamina

TMS – Tetrametilsilano

UV – Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 DOENÇA DE ALZHEIMER	20
1.2 HISTÓRICO	22
1.3 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA	23
1.3.1 Hipótese Colinérgica	24
1.3.2 Hipótese Amiloide	25
1.3.3 Hipótese da Hiperfosforilação	26
1.3.4 Outros mecanismos patogênicos	27
1.4 TRATAMENTO	28
1.5 ALVOS TERAPÊUTICOS	30
1.5.1 Acetilcolinesterase (AChE)	30
1.5.2 Compostos multialvo-dirigidos	36
1.6 A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA COMO ESTRATÉGIA NO DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS	37
1.7 LIPÍDEOS FENÓLICOS PRESENTES NO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DO CAJU (LCC)	40
1.7.1 Líquido da Castanha do Caju (LCC) – Ácido Anacárdico	43
2 OBJETIVOS	46
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
2.1.1 Objetivos Específicos	46
3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	48
4 ESTRATÉGIA SINTÉTICA	51
5 PARTE EXPERIMENTAL	54
5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS	54
5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	56
5.2.1 Obtenção do Líquido da Casca da Castanha do Caju (LCC Natural)	56
5.2.2 Obtenção da Mistura de Ácidos Anacárdicos a Partir do LCC Natural	56
5.2.3 Obtenção da Mistura de 2-Metóxi-anacardatos de Metila (26)	57

5.2.4 Obtenção do Composto 2-(8-hidróxiocetil)-6-metóxi benzoato de metila (27, LDT74)	58
5.2.5 Obtenção do Composto 2-Metóxi-6-(8-(metilsulfoniloctil)benzoato de metila (28, LDT74Ms)	60
5.2.6 Procedimento Geral para Obtenção dos Compostos-alvo Sob Radiação Micro-ondas	61
5.2.7 Síntese do Composto Acetilado LDT424 (49)	78
5.2.8 Síntese do Composto Carbamoilado LDT425 (50)	79
5.2.9 Síntese dos Compostos Amínico Acíclicos LDT436 (45), LDT441 (46), LDT488 (47), LDT532 (48)	80
5.2.10 Síntese do Composto LDT438 (51)	85
5.3 METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DO PERFIL ANTICOLINESTERÁSICO	86
6 RESULTADO E DISCUSSÃO	92
6.1 METODOLOGIA SINTÉTICA	92
6.1.1 Obtenção do Composto 2-(8-Hidróxiocetil)-6-metóxi benzoato de metila (LDT74, 27)	92
6.1.2 Obtenção do Intermediário 2-Metóxi-6-(8-(metilsulfoniloctil)benzoato de metila (28, LDT74Ms)	93
6.1.3 Metodologia Geral de Obtenção dos Compostos-alvo	94
6.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DOS COMPOSTOS-ALVO	98
6.2.1 Compostos bioisómeros cíclicos	99
6.2.2 Compostos piperazínicos e arilpiperazínicos	101
6.2.3 Compostos piperidínicos substituídos	105
6.2.4 Compostos amínicos alifáticos e benzilamínicos	107
6.3 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA	111
6.3.1 Relação Estrutura Química-Atividade Anticolinesterásica	111
6.3.1.1 Compostos Bioisómeros Cíclicos	112
6.3.1.2 Compostos piperazínicos e arilpiperazínicos	113
6.3.1.3 Compostos piperidínicos	114
6.3.1.4 Compostos amínicos alifáticos e benzilamínicos	119

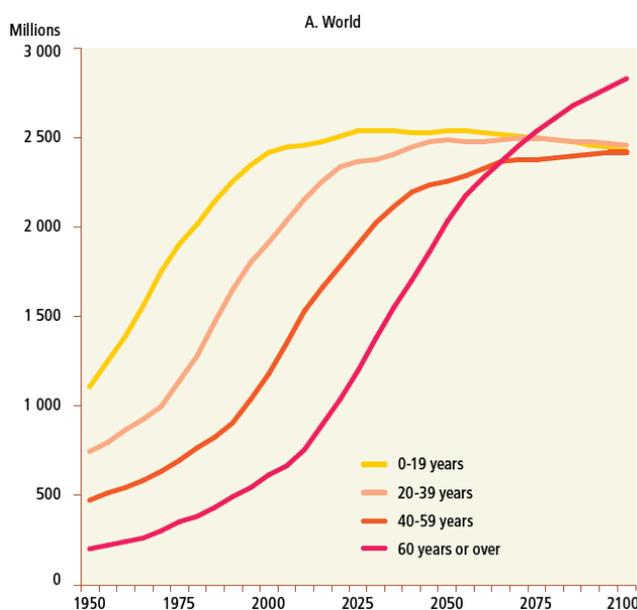
7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	124
8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	127

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A expectativa de vida da população mundial vem aumentando consideravelmente. Segundo Relatório publicado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2013, a expectativa de vida de 64 anos em 1990 subiu para 70 anos em 2010, o que reflete a melhoria na qualidade de vida e, por consequência, o aumento da população idosa [1]. Atualmente a população mundial de pessoas com mais de 60 anos é de 810 milhões e as estimativas apontam para mais de 2 bilhões de indivíduos idosos em 2050 (Figura 1) [2,3].

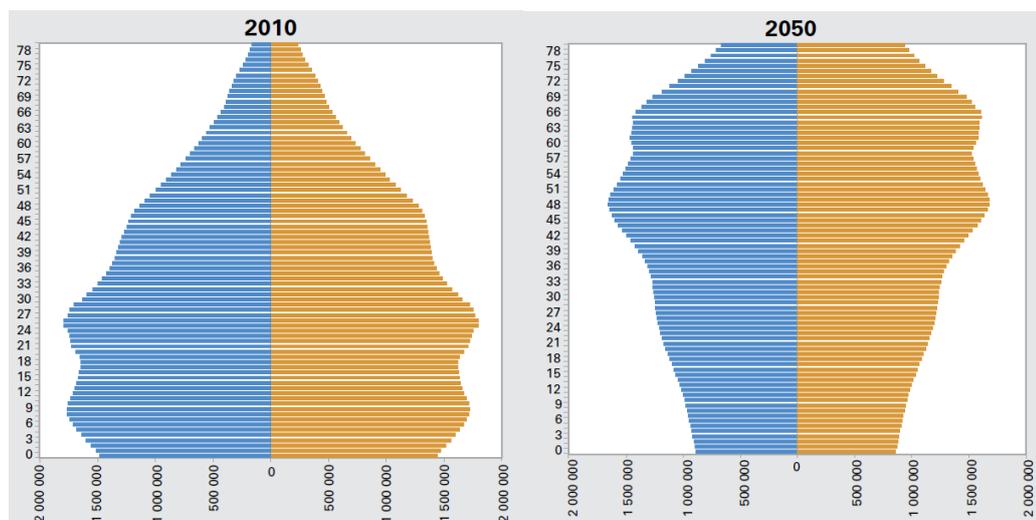
Figura 1 - População por faixa etária no mundo.



Fonte: Nações Unidas (UN), 2012 [1]

Para o Brasil as projeções não foram diferentes. Segundo a revisão de agosto de 2013 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a média da expectativa de vida para o ano de 2012 foi de 74 anos [4]. Atualmente a população idosa no Brasil é de mais de 15 milhões com estimativas de 50 milhões para o ano de 2050 (Figura 2) [5,6].

Figura 2 - Projeção da população do Brasil por sexo e idade para o período de 2010 e 2050 - Revisão 2008



Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2008 [5]

O aumento da expectativa de vida com consequente aumento da população idosa reflete a melhora da situação sanitária mundial, com melhor acesso a serviços de saúde, alimentação, medicamentos e outros fatores sociais. Entretanto o envelhecimento populacional traz consigo o aumento de doenças crônicas, principalmente doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer (DA) [6,7]. O número crescente de indivíduos com esta patologia vem alterando o quadro epidemiológico da DA, o que sinaliza maiores investimentos em saúde pública e interesse de grupos de pesquisas visando atender a esta demanda social.

1.1 DOENÇA DE ALZHEIMER

A DA é uma doença neurodegenerativa de caráter progressivo, lento e irreversível, caracterizada pela perda de memória, déficit cognitivo e demência. A DA está relacionada à idade embora existam casos de aparecimento precoce [8-10]. O número de idosos com DA associados à idade vem crescendo de maneira exponencial, modificando o quadro de prevalência da doença. Assim para regiões como América Latina, América do Norte e Ásia, o número de

doentes com DA tende a dobrar a cada 5,5 anos [11]. Atualmente, 4,7% dos indivíduos com mais de 60 anos têm demência decorrente da DA, o que compreende mais de 35 milhões de pessoas com DA. De acordo com as estimativas para o ano de 2050, este número chegará a 115 milhões, onde mais de 70% desses indivíduos estarão em países de baixo e médio desenvolvimento [12].

Poucos estudos sobre a prevalência de Alzheimer foram realizados no Brasil, onde estima-se que 7,1% da população com mais de 65 anos tenham a doença. Considerando tais valores, o quadro atual corresponde a aproximadamente 1,1 milhão de indivíduos com demência para uma população que alcança 15 milhões [13]. Estes valores implicam na necessidade de maior investimento em saúde pública visando melhor qualidade de vida, uma vez que a progressão da doença está associada à dependência de familiares e da assistência à saúde, além do aumento de custos com serviços hospitalares [12].

Em 2005, os custos mundiais com a doença de Alzheimer atingiram 315 milhões de dólares por ano, sendo 227 milhões financiados por países de elevados rendimentos e, somente 88 milhões por países de baixos e médios rendimentos. Os gastos anuais por pessoa com DA alcançaram 1.521 e 4.588 dólares em países de baixo e médio rendimentos, respectivamente, enquanto países de rendimento elevado empregaram 17.964 dólares. No entanto, parte desses valores não reflete a realidade devido à falta de dados obtidos em países de baixo e médio rendimentos [12].

No Brasil, os gastos com a Doença de Alzheimer se estende à dispensação de medicamentos considerados excepcionais devido ao alto custo. Em 2007, as expensas do Ministério da Saúde com medicamentos para a DA foi de 75,6 milhões de reais, passando para 157,8 milhões em 2011, o que corresponde a um aumento de 109% [14]. Recentemente a Portaria nº 1.298, publicada em 21 de novembro de 2013, aprovou o Protocolo e Diretrizes Terapêuticas para a Doença de Alzheimer, na qual inclui o fornecimento de medicamentos utilizados para o tratamento da DA pelo Governo [15]. São mais de 113 mil indivíduos cadastrados no Programa de Assistência Farmacêutica para o tratamento da Doença de Alzheimer do Ministério da Saúde com acesso

gratuito ao tratamento. Este número é muito inferior aos mais de um milhão de indivíduos acometidos pela doença [16].

1.2 HISTÓRICO

Em 1906, o neuropsiquiatra Alemão Alois Alzheimer apresentou seu trabalho intitulado “*Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde*” (Uma doença peculiar do córtex cerebral) no Congresso de Psiquiatria do Sudeste da Alemanha. Neste trabalho ele apresentou achados histopatológicos de uma paciente, Auguste Deter, cujo falecimento veio de forma precoce, aos 55 anos, com sintomas de demência. Os achados neurohistológicos encontrados por Alzheimer, além da perda de massa cerebral, foram denominados como emaranhados neurofibrilares (NFT) e “substância peculiar”, ambos identificados na década de 80 como agregados da proteína tau e placas de depósito da proteína β amiloide, respectivamente. Somente no ano de 1910, Emil Kräpelin, observando os mesmos achados histopatológicos descritos por Alzheimer, propôs, na oitava edição do *Handbook* de Psiquiatria, o nome de Doença de Alzheimer para homenagear seu descobridor [17-20].

A princípio, a Doença de Alzheimer estava relacionada a casos de demência precoce ou pré-senil. Entretanto, em 1968 foi comprovado que os achados histopatológicos encontrados na Doença de Alzheimer eram comuns também em casos de demência após 65 anos de idade. Portanto, a partir desta evidência, a doença de Alzheimer foi utilizada para relacionar os casos de demência senil e pré-senil [18,19].

Embora as placas e NFT sejam fatores patognomônicos da Doença de Alzheimer, atualmente considera-se que estas alterações não são responsáveis exclusivamente para a manifestação clínica da DA. Neste contexto, várias alterações fisiológicas envolvidas no desenvolvimento progressivo da doença foram identificadas. Dentre eles estão a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), alterações no controle de cálcio intraneural e processos inflamatórios [19].

1.3 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

Ainda que numerosos estudos tenham conduzido ao melhor entendimento do seu processo de instalação e desenvolvimento, pouco se sabe dos fatores etiológicos relacionados ao surgimento da doença [7,19].

Acredita-se que fatores ambientais, genéticos e psicossociais podem contribuir para a manifestação da DA. Alguns estudos demonstraram que mutações no gene da Proteína Precursora Amiloide (PPA), presenilina 1 e presenilina 2, bem como a apolipoproteína (ApoE) podem estar associados ao aparecimento da doença. As mutações nos genes da PPA, presenilina 1 ou 2 sugerem um aumento de produção da proteína β amiloide não-solúvel, resultando no aparecimento de placas senis e consequente toxicidade neural. Em adição, está comprovado que a presença do alelo da ApoE4, como fator genético, está implicado no desenvolvimento da DA tanto em suas fases precoce como tardia. Assim a isoforma ApoE4 tem sua atividade elevada, aumentando a produção da proteína β amiloide e diminuindo seu *clearance* [9,19,21-23].

Outros fatores discutidos como etiológicos para o DA compreendem a exposição ao álcool e fumo, bem como doenças como diabetes *mellitus* e aterosclerose, os quais podem aumentar a chance do indivíduo desenvolver a DA. Alguns fatores psicossociais como nível de escolaridade, atividades que requerem grau de exigência cerebral e atividade física podem influenciar no surgimento da doença. Todavia esses fatores ainda não são capazes de explicar a predisposição de um indivíduo desenvolver a patologia [7,21].

Sabe-se que três fatores bioquímicos estão envolvidos no processo fisiopatológico da doença: a deficiência de acetilcolina (ACh) nas fendas sinápticas, a presença de placas senis (depósito da proteína β amiloide) e a presença de NFT (depósito de fibrina). Assim algumas hipóteses baseadas nos achados bioquímicos foram levantadas para explicar a sua gênese e respectivamente compreendem: a hipótese colinérgica, a hipótese da amiloide e a hipótese da hiperfosforilação tau. Todavia outros fatores como a

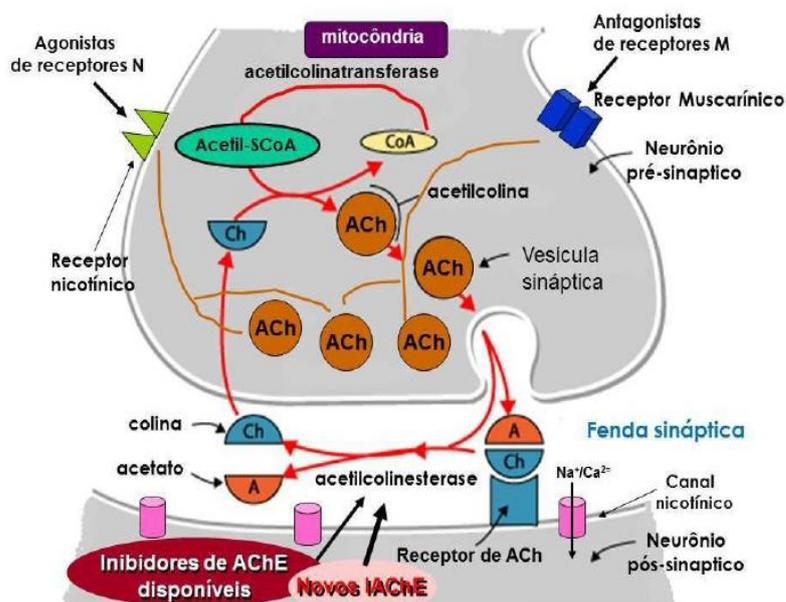
desestabilização da homeostase de cálcio (Ca^{2+}) e estresse oxidativo podem estar associados ao processo de instalação da doença [20-22].

1.3.1 Hipótese Colinérgica

Um dos sintomas observados em pacientes com DA relaciona-se à disfunção cognitiva caracterizada como perda da memória, alterações da fala, aprendizado dentre outros. Essas alterações estão ligadas ao déficit de acetilcolina (ACh) nas fendas sinápticas em algumas regiões do Sistema Nervoso Central (SNC). A baixa produção de ACh está vinculada à diminuição da atividade da enzima acetilcolintransferase [8,23-28].

Outro fator relacionado à hipótese colinérgica compreende às atividades aumentadas das enzimas butirilcolinesterase (BuChE) e acetilcolinesterase (AChE). A ACh, uma vez liberada na fenda sináptica, interage com os receptores muscarínicos (M) e receptores nicotínicos (N), e em seguida, boa parte da ACh é catabolizada pela enzima AChE liberando fragmentos de colina e acetato (Figura 3) [8,23-28].

Figura 3 - Esquema do processo sináptico e da liberação de ACh, com envolvimento dos receptores nicotínicos (N) e muscarínicos (M).



Fonte: Viegas, F. P. D. *et al.*, 2011 [8].

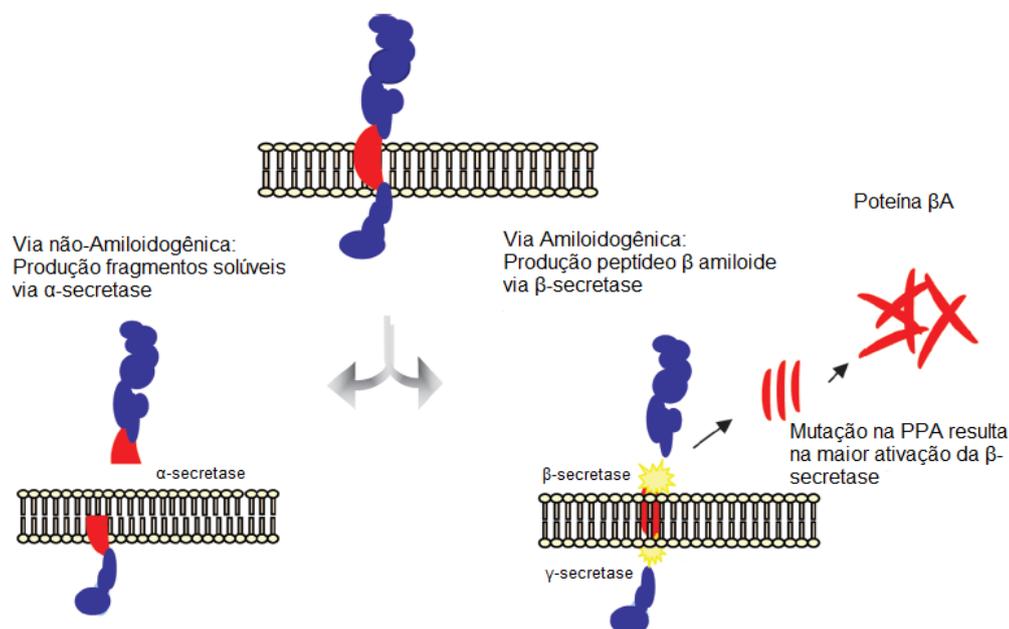
1.3.2 Hipótese Amiloide

A hipótese amiloide está baseada no acúmulo da proteína β amiloide (βA) no espaço extracelular capaz de formar placas senis que são neurotoxinas. A βA é um produto de degradação da Proteína Precursora Amiloide (PPA), proteína intramembranar com subunidades no espaço intra e extracelular. Os produtos de degradação das secretases (α -secretase, β -secretase e γ -secretase) são capazes de gerar peptídeos βA de diversos tamanhos que apresentam diferentes características de solubilidade ou toxicidade [18-30].

A degradação da PPA pode ocorrer pelas vias não-amiloidogênica ou amiloidogênica. Em processos de homeostase, a PPA é clivada pela α -secretase na subunidade solúvel *N*-terminal (sAPP α) e na subunidade *C*-terminal (C83) que, por sua vez, sofre ação da γ -secretase que libera fragmento solúvel neuroprotetor com 3kDa, compreendendo a via não-amiloidogênica. Todavia quando a clivagem da PPA ocorre via β -secretase, na subunidade maior *N*-terminal (sAPP β) e na subunidade *C*-terminal (C99), seguido de clivagem pela γ -secretase, há produção do peptídeos βA caracterizando a via amiloidogênica (Figura 4) [18-30].

A clivagem da APP pela via amiloidogênica pode gerar peptídeos βA com 38-40 resíduos de aminoácidos (βA_{38-40}) e 42 resíduos de aminoácidos (βA_{42}), sendo este último o de maior toxicidade. Uma vez produzidos e liberados no espaço extracelular, os peptídeos βA_{42} organizam-se em dímeros, trímeros e oligodímeros e, ao se ligarem a fibrinas dão origem à placa amiloide. A placa amiloide resulta na deterioração neural, além de alterar a homeostase celular, resultando na ativação de respostas inflamatórias, estresse oxidativo, formação de radicais livres, desregulação da homeostase de cálcio (Ca^{2+}), hiperfosforilação da proteína *tau* e indução da apoptose neural [21,22].

Figura 4 - Clivagem da PPA pelas vias não-amiloidogênica e amiloidogênica



Fonte: Modificado de PAULA, VJR (2009) [21]

1.3.3 Hipótese da Hiperfosforilação

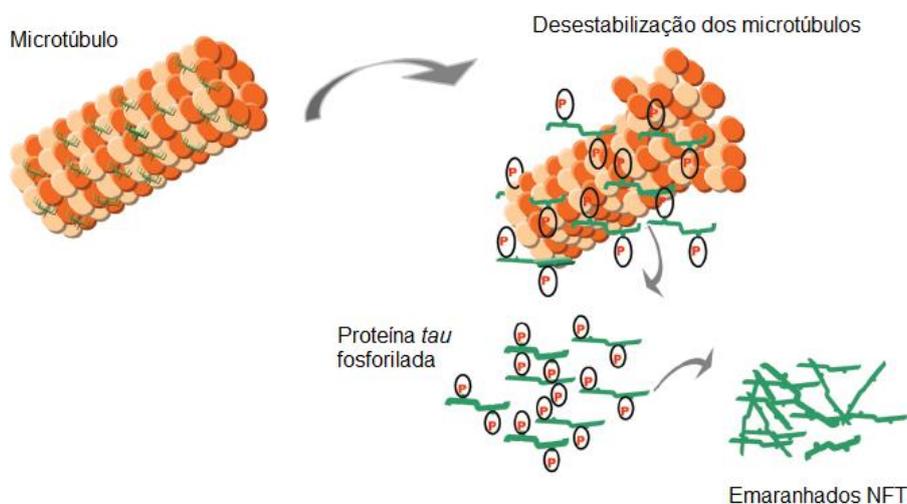
A proteína *tau*, capaz de interagir com α - e β -globulinas gerando estabilidade aos microtúbulos, é encontrada em vários tecidos com maior concentração no SNC e no Sistema Nervoso Periférico (SNP). No SNC, os microtúbulos são essenciais para ocorrência do transporte axonal a sinapse, além de gerar estabilidade estrutural aos neurônios [22-24].

Existem várias isoformas da proteína *tau* sendo três delas capazes de interagir com as tubulinas. Uma característica desta proteína é a presença de 79 resíduos de aminoácidos de serina e treonina, permitindo regiões favoráveis a processos de fosforilação. A homeostase, entre os processos de fosforilação e desfosforilação, ocorre com a mudança conformacional da proteína, garantindo que esta interaja com α - e β -globulinas, gerando a estabilização dos microtúbulos. Algumas enzimas mostraram importante papel na homeostase da fosforilação da proteína *tau*, sendo elas a glicogênio sintase-quinase 3 β

(GSK3 β), ciclinas dependentes de quinase (CDC2 e CDK5), bem como a quinase ativada por mitógeno (MAPK) [22,25-28].

No processo patológico da DA, já foi evidenciada a mutação no alelo da ApoE ϵ 4 que induz o aumento da atividade enzimática de algumas quinases como a GSK3 β . Uma vez ativada, o processo de fosforilação aumenta, desestabilizando o complexo de interação entre a proteína tau e as α - e β -globulinas, resultando no depósito desta proteína conhecido como NFT (Figura 5). A presença de NFT promove uma sucessiva cascata de eventos que resulta na morte celular. Em adição, a produção da proteína β A induz, em sua cascata de formação, o aumento da atividade de quinases como a CDC2 e CDK5, MAPK e GSK3 β , resultando na hiperfosforilação da proteína *tau*, agravando o quadro fisiopatológico de indivíduos com DA [18,25-28,32].

Figura 5 - Hiperfosforilação da proteína tau levando à formação de NFTs



Fonte: Modificado de PAULA, VJR (2009) [21]

1.3.4 Outros mecanismos patogênicos

Outras hipóteses envolvidas no processo patológico da DA estão sob investigação na literatura. Uma das alterações relevantes consiste na desregulação da homeostase de Ca^{2+} . O cálcio funciona com principal

mensageiro na sinapse neural, onde seu influxo, mediado pelo neurotransmissor glutamato, resulta em resposta excitatória. Entretanto, em processos patológicos como na DA, foi observada uma maior liberação de glutamato, resultando na maior ativação de receptores *N*-metil-D-aspartato (NMDA), o qual estimula a entrada de íons Ca^{2+} para o interior do citoplasma. Esta ação promove maior liberação de óxido nítrico (NO) nos neurônios pós-sinápticos, que servirá como mensageiro *feed-back* positivo para maior liberação de glutamato. O estímulo excessivo via glutamato torna-se excitotóxico levando à morte celular. Outros estudos demonstram que o influxo aumentado de íon Ca^{2+} resulta na maior produção da proteína β amiloide, o que agrava o processo neurodegenerativo [19,22,37].

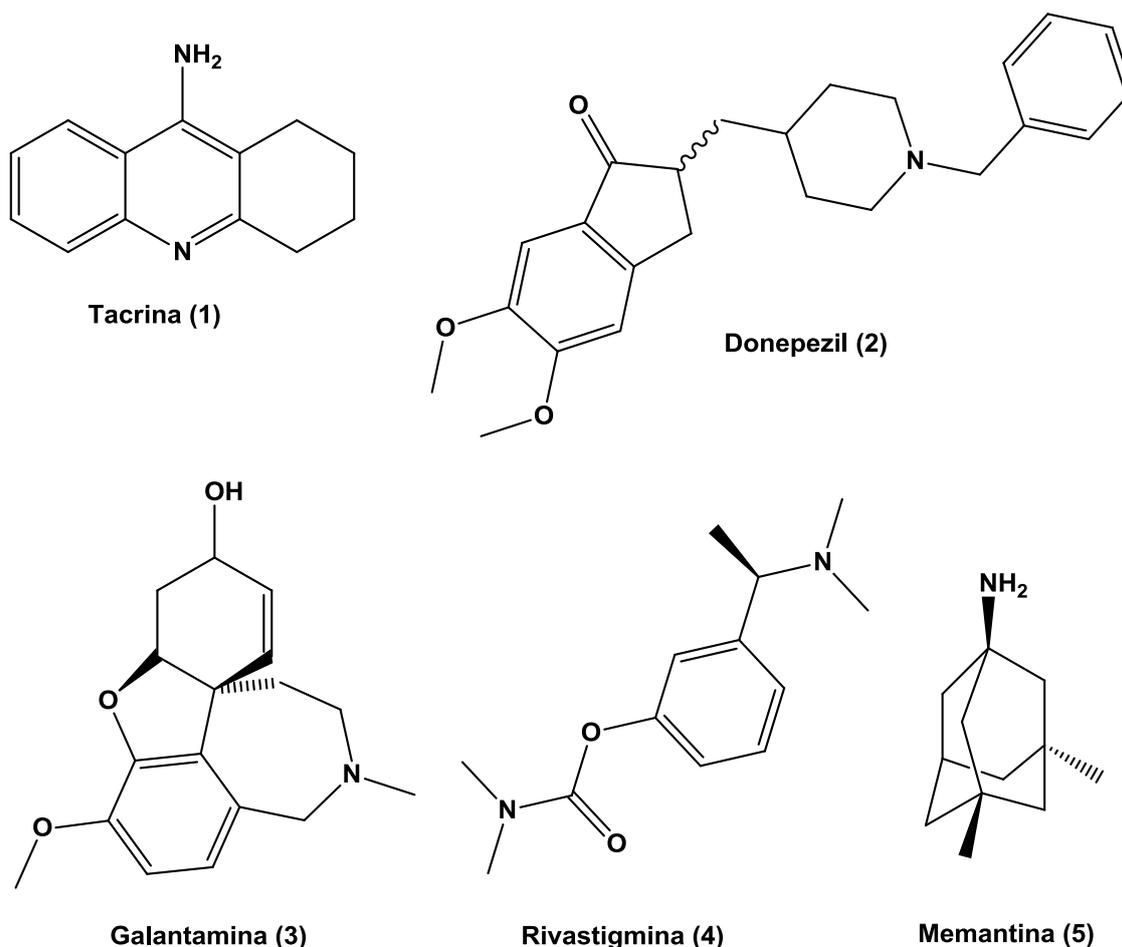
Outra hipótese levantada para justificar o processo patológico de DA está relacionada ao estresse oxidativo. É sabido que em pacientes com DA há a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (ROS) pelas mitocôndrias, induzida pela quantidade elevada de íons ferro livres, observada nesses pacientes. Assim, a presença de ROS resulta em dano celular da membrana ao aumentar produção de peróxido de lipídeos, oxidação de RNA e DNA, diminuição da síntese de proteína, dentre outros. As ROS podem ser estimuladas também pela produção da proteína β amiloide resultando em uma cadeia capaz de envolver todos os processos anteriores aqui discutidos [22,39].

1.4 TRATAMENTO

Há 20 anos apoiado na hipótese colinérgica, o tratamento para pacientes com DA baseia-se na utilização de inibidores da AChE (iAChE), tendo como finalidade restabelecer as atividades colinérgicas, melhorando as funções cognitivas e de memória por meio do aumento da concentração de ACh. O primeiro fármaco aprovado pelo FDA (*Food and Drugs Administration*) em 1993 foi a tacrina (Cognex®, 1). Todavia este foi retirado do mercado devido ao seu alto potencial hepatotóxico e por apresentar baixa biodisponibilidade. Outros

três fármacos iAChE estão sendo utilizados na clínica atualmente: donepezil (Aricept®, **2**), rivastigmina (Exelon®, **3**) e galantamina (Reminyl®, **4**) (Figura 6) [8,19,22,32,36,39].

Figura 6 - Estrutura dos fármacos iAChE e antagonista NMDAR



O donepezil (**2**) foi sintetizado na década de 80, ocupando o lugar da tacrina (**1**) em face da menor toxicidade e maior seletividade para a AChE em relação a BuChE, em torno de 1250 vezes. Uma peculiaridade do fármaco de origem natural galantamina (**4**) é que além de atuar como iAChE, age como modulador alostérico dos receptores nicotínicos aumentando a ação da ACh. Já a rivastigmina (**3**), proveniente de modificações moleculares sobre a estrutura da fisostigmina, é um inibidor de ambas AChE e BuChE. Somente em 2006, um último fármaco foi aprovado pelo FDA para o tratamento da DA: a

memantina (Namenda®, **5**) que atua como antagonista dos receptores NMDA, a fim de restabelecer o influxo de Ca^{2+} e diminuindo o processo de excitotoxicidade celular [19,22,39]. Vale destacar que na última publicação do Ministério da Saúde, somente está aprovada a utilização dos fármacos donepezil (**2**), rivastigmina (**4**) e galantamina (**3**) para o tratamento da DA. A memantina (**5**) não foi incluída na lista do Sistema Único de Saúde (SUS) por não apresentar grau comprovado de melhora dos pacientes com Alzheimer já tratado com os medicamentos estabelecidos [15].

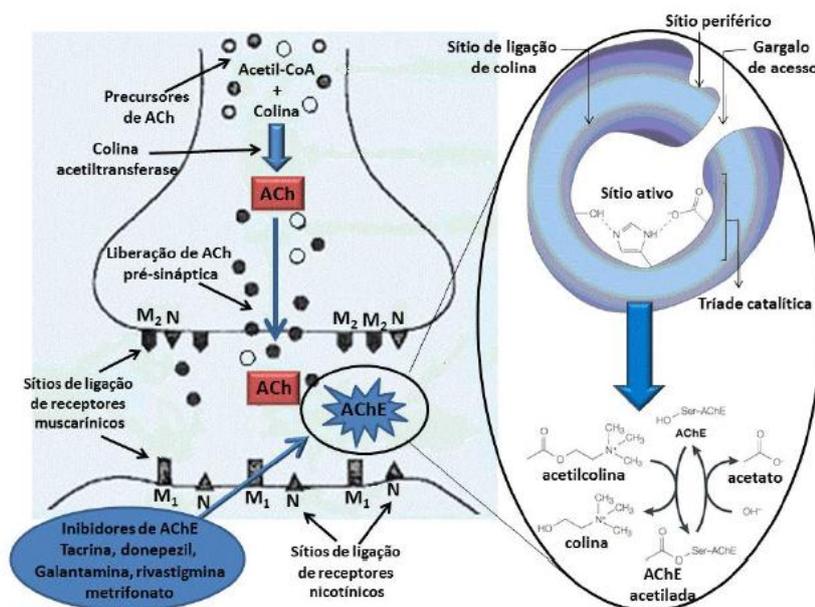
Atualmente, o arsenal terapêutico utilizado para o tratamento do Alzheimer atua como paliativo, devido à ineficácia desses compostos em impedir a progressão do processo neurodegenerativo. Novas estratégias estão sob perspectivas visando estabilizar a avanço da doença, atuando em outros alvos terapêuticos relacionados às hipóteses discutidas anteriormente [8].

1.5 ALVOS TERAPÊUTICOS

1.5.1 Acetilcolinesterase (AChE)

Tendo em vista a rápida capacidade em promover a hidrólise da acetilcolina (ACh), a acetilcolinesterase (AChE) está amplamente distribuída nas intermediações sinápticas. Por ser assim, uma enzima de ação rápida, a AChE tem como principal característica terminar os impulsos de transmissão da sinapse colinérgica (Figura 7) [40,41].

Figura 7 - Esquema dos neurônios pré- e pós-sináptico biossíntese e hidrólise da ACh.



Fonte: Viegas, FPD [15]

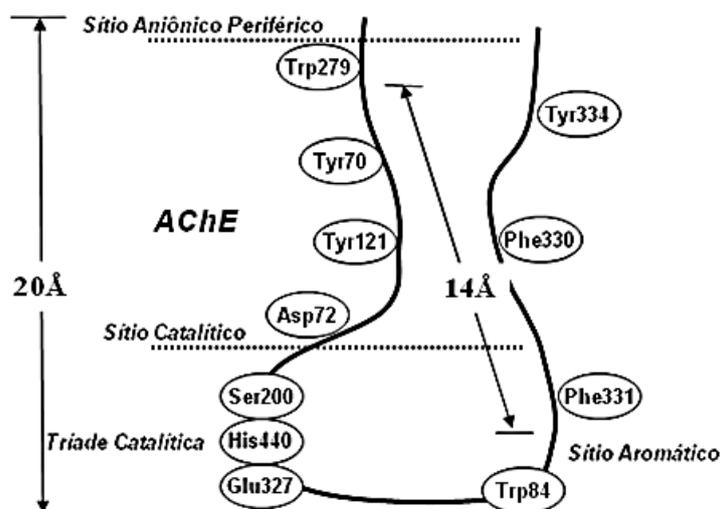
A ampla existência de diferentes isoformas da AChE permitiu que esta enzima fosse estudada. Estudos com AChE purificadas de peixes elétricos como *Electrophorus electricus* e *Torpedo californica*, por apresentarem estruturas similares as dos nervos dos vertebrados, viabilizou diversos trabalhos sobre o mecanismo de ação desempenhado por esta enzima. Apesar de pequenas diferenças na estrutura das isoformas, estudos demonstraram que no sítio ativo da enzima há uma sequência de 14 aminoácidos conservados, permitindo um melhor entendimento da AChE em humanos [40,41].

Neste sentido, a AChE possui um sítio catalítico (SCA) localizado na parte inferior de uma profunda e estreita fenda que mede 20 Å. O sítio catalítico é dividido em dois subsítios, o sítio esterásico e o sítio aniônico. O sítio esterásico é o local onde ocorre a hidrólise da acetilcolina por meio de catálise ácida realizada pela presença de resíduos de aminoácidos Ser200, His440 e Glu327, conhecida como a tríade catalítica. O sítio aniônico, também chamado de sítio aromático, apresenta resíduos de aminoácidos aromáticos como a

Phe331 e Trp84 que interagem com o nitrogênio quaternário da ACh por interações do tipo cátion- π [15,40-43].

Em continuidade, a estrutura da AChE, na subunidade intermediária a mais estreita da fenda, é composta por resíduos de aminoácidos aromáticos Tyr121, Tyr130 e Phe330 capazes de facilitar a atração do substrato até o sítio ativo por apresentar grande momento dipolar. Em adição, na parte superior e periférica da fenda localizada a 14 Å de distância do sítio catalítico, está o sítio aniônico periférico (SAP) que possui resíduos hidrofóbicos de Tyr70, Trp286 e Trp279 capaz de interagir com o nitrogênio quaternário, podendo permitir melhor seletividade para seus substratos (Figura 8) [15,40,41].

Figura 8 - Visão esquemática da estrutura da AChE representando o sítio catalítico com seus dois subsítios e o sítio aniônico periférico.

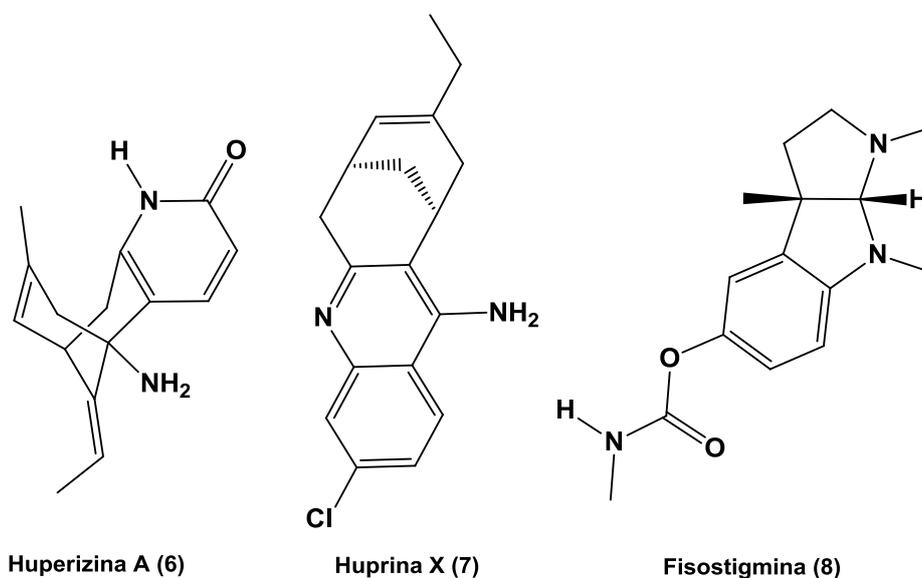


Fonte: Romeiro, LAS [38]

Em razão da alta capacidade de hidrólise da enzima AChE e levando em consideração a diminuição da quantidade de neurotransmissores liberados em pacientes com a DA, a AChE tornou-se o alvo terapêutico inicial, cujo bloqueio permite o restabelecimento dos níveis de ACh na fenda sináptica [19,40]. Em adição aos inibidores AChE descritos anteriormente *i.e.* tacrina (1), donepezil (2), galantamina (3) e rivastigmina (4), novos compostos permitiram identificar características moleculares visando estabelecer padrões moleculares que

possam ser utilizados como base para reconhecimento pelo sítio da AChE. Compreendendo este grupo estão a huperzina A (**6**), alcalóide extraído da *Huperzia serrata*; huprina X (**7**) e a fisostigmina (**8**), alcalóide natural que levou ao desenvolvimento da rivastigmina (Figura 9) [19,22,49].

Figura 9 - Inibidores da enzima acetilcolinesterase



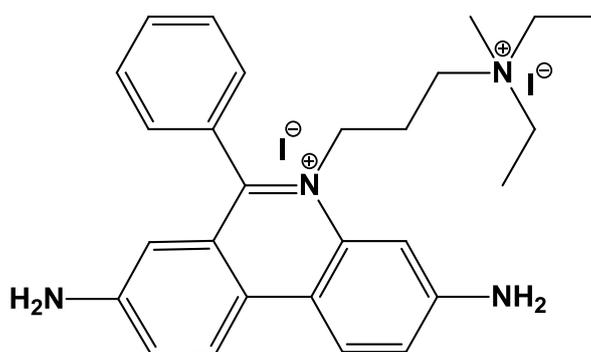
O grupo carbamato, presente nos inibidores fisostigmina (**8**) e rivastigmina (**4**), é capaz de interagir com resíduos aromáticos do sítio aniônico, levando à formação de complexo carbamoiil-serina reversível e inativando a AChE por um tempo maior comparado aos análogos contendo o grupo acetil.

Alguns estudos demonstraram a capacidade de interação do donepezil (**2**) com o SAP, revelando a característica de interação com os dois sítios da enzima do tipo π -stacking com os resíduos de aminoácidos aromáticos encontrados nesta região, reforçada por interações do tipo cátion- π entre o nitrogênio quartenário e os grupos aromáticos do SAP [22,33]. Com base nos estudos com donepezil (**2**), relacionado à inibição da AChE em dois de seus sítios, inibidores duais foram sintetizados a fim de avaliar o perfil frente à inibição da AChE. A síntese de homodímeros ou heterodímeros foram planejados a partir da estratégia de hibridização molecular de inibidores conhecidos como a tacrina (**1**), donepezil (**2**), galantamina (**3**), huperzina A (**6**),

huprine X (**7**), fisostigmina (**8**) permitiram avaliar a influência da interação com o SAP no perfil anticolinérgico [44,49].

Assim a síntese de dímeros além da melhora do perfil como inibidores da enzima acetilcolinesterase, quando capazes de interagir com ambos os sítios, foi também observado o efeito antiagregante da proteína beta-amiloide induzida pela própria AChE. Alguns estudos demonstraram que o donepezil (**2**) foi capaz de inibir a agregação da proteína β amiloide induzida pela AChE em 22% [22,43]. Quando avaliado, o propidium (**9**), conhecido ligante do SAP, apresentou significativo efeito antiagregante, com 82% de inibição, evidenciando assim uma conexão entre a AChE e a formação das placas amiloide (Figura 10) [22,33].

Figura 10 - Inibidor capaz de atuar sobre o SAP



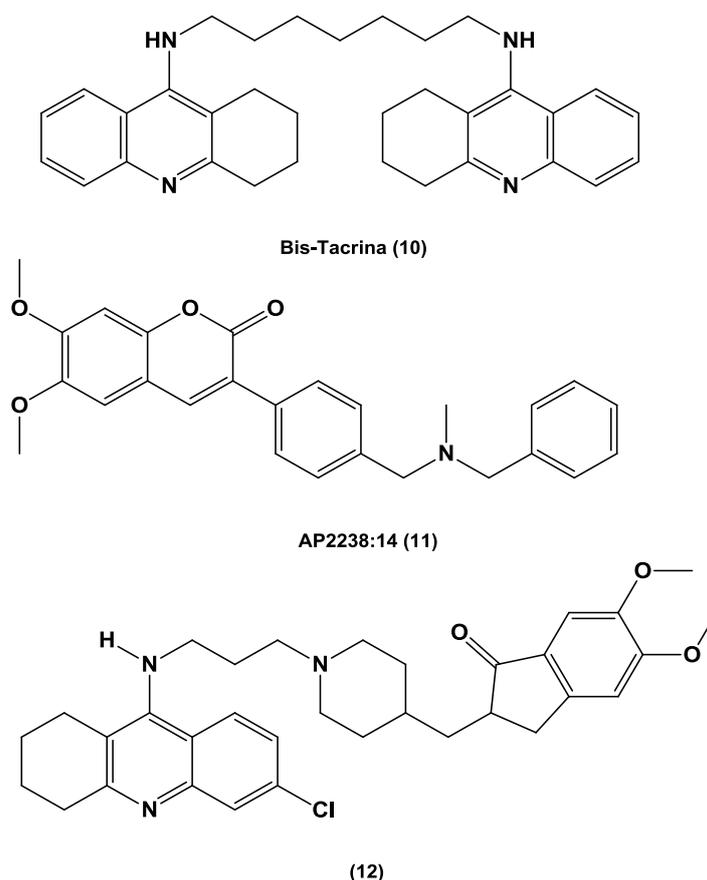
Propidium (9)

A ação não colinérgica da AChE está relacionada à ação de proteína auxiliar, ou *chaperone*, a partir da interação com a proteína β A no sítio aniônico periférico. Esta interação acelera a interação deste peptídeo alterando as conformações nas fibrinas da β A e, conseqüentemente, aumentando a agregação. Neste sentido, inibidores do SAP podem diminuir a agregação da proteína β A induzida pela AChE facilitando sua depuração [45 - 48].

Baseado no potencial de estabilizar os níveis colinérgicos e bloquear a produção de placas amiloides neurotóxicas, novos inibidores duais foram desenvolvidos. Um dos primeiros homodímeros foi a Bis-(7)-tacrina (**10**) que além de atuar como iAChE (IC_{50} 0,4 nM), foi capaz de inibir a agregação da β A

induzida pela AChE (IC_{50} 41,7 μ M) e ainda diminuir a formação dos peptídeos βA_{42} e βA_{40} em 48% e 37%, respectivamente (Figura 11) [22]. Outro ligante planejado como inibidor dual foi AP2238:14 (**11**) que apresenta o grupo benzilamino, capaz de interagir com o sítio catalítico, conectado à subunidade cumarínica por meio de grupo fenileno como espaçador rígido. Este derivado foi capaz de inibir a AChE (IC_{50} 44,5 nM) e apresentou percentual de inibição de 35% frente à agregação da βA (Figura 11) [22, 33]. Outro heterodímero também avaliado foi composto (**12**), híbrido entre a tacrina (**1**) e o donepezil (**2**), o qual mostrou atividade iAChE (IC_{50} 0,27 nM) e inibitória à agregação amiloide em 46% (Figura 11) [19, 47].

Figura 11 - Inibidores duais da AChE



A busca por inibidores duais como estratégia molecular para novos candidatos a inibidores da AChE ainda está em evidência. Este novo perfil, traçado pela característica da AChE, renovou o interesse nos iAChE por meio

da estratégia de inibir mais de um evento patológico observado na DA, visando impedir o processo neurodegenerativo [50, 51].

1.5.2 Compostos multialvo-dirigidos

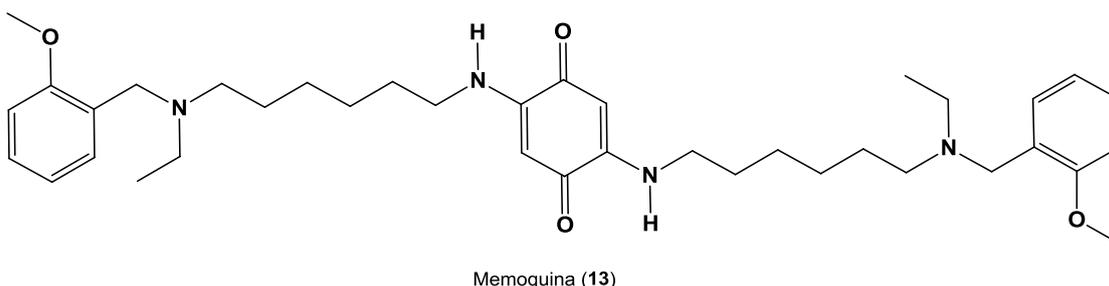
Uma vez compreendido que a DA envolve diferentes mecanismos moleculares em uma complexa cascata, diversos autores consideram esta patologia como multifatorial. Apesar dos fármacos utilizados na clínica visarem restabelecer as funções colinérgicas, é sabido que os depósitos da proteína β amiloide ativam reações em cadeia capazes de instalar o processo neurodegenerativo por diversas vias, as quais envolvem a produção de proteínas neurotóxicas, o aumento de ROS, a instalação do processo inflamatório, a desestabilização dos microtúbulos devido à hiperfosforilação da proteína *tau*. Desta forma, novas estratégias moleculares estão sendo adotadas para o desenvolvimento de novos fármacos capaz de inibir mais de uma via no processo patológico e estabilizar o desenvolvimento da DA. Estes são chamados de ligantes multialvo-dirigidos (LMAD) [22, 49, 50, 52].

A abordagem da utilização de um composto capaz de atingir simultaneamente múltiplas vias tornou-se um novo paradigma na Química Medicinal. Conseqüentemente, o planejamento estrutural de compostos capazes de atuar não somente na inibição da atividade da enzima AChE, mas também no processo anti β -amilóide, via SAP, tem se mostrado promissor. A síntese e avaliação farmacológica de híbridos, que apresentam características moleculares reconhecidas pelo sítio catalítico e pelo SAP da AChE, apontam para a adoção deste novo conceito exemplificado pelos compostos Bis(7)-tacrina (**10**) e AP2238:14 (**11**) [8,22,50,51].

Baseado na estratégia LMAD, foi planejada a memoquina (**13**) (Figura 12). Este derivado contendo o grupo benzoquinona, capaz de modular a interação proteína-proteína diminuindo a agregação β A, além de diminuir a produção de radicais livres, apresenta o grupo poliamina adequado para interagir com o sitio catalítico como iAChE. A memoquina (**13**) apresentou perfil

inibitório para AChE (IC_{50} 1,55 nM), agregação βA induzida pela AChE (IC_{50} 28,3 μM βA_{40} ; IC_{50} 5,93 μM βA_{42}), BACE-1 (IC_{50} 108 nM), bem como perfil antioxidante por reduzir a produção de radicais livres em 44,1% (12,7 μM) [8,22,50,51].

Figura 12 - Memoquina (13): Inibidor dual da AChE



Esses resultados serviram como estímulo ao planejamento de novos derivados multialvo-dirigidos como nova estratégia para o desenvolvimento de fármacos que possam minimizar o efeito de redundância característica de patologias multifatoriais.

1.6 A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA COMO ESTRATÉGIA NO DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS

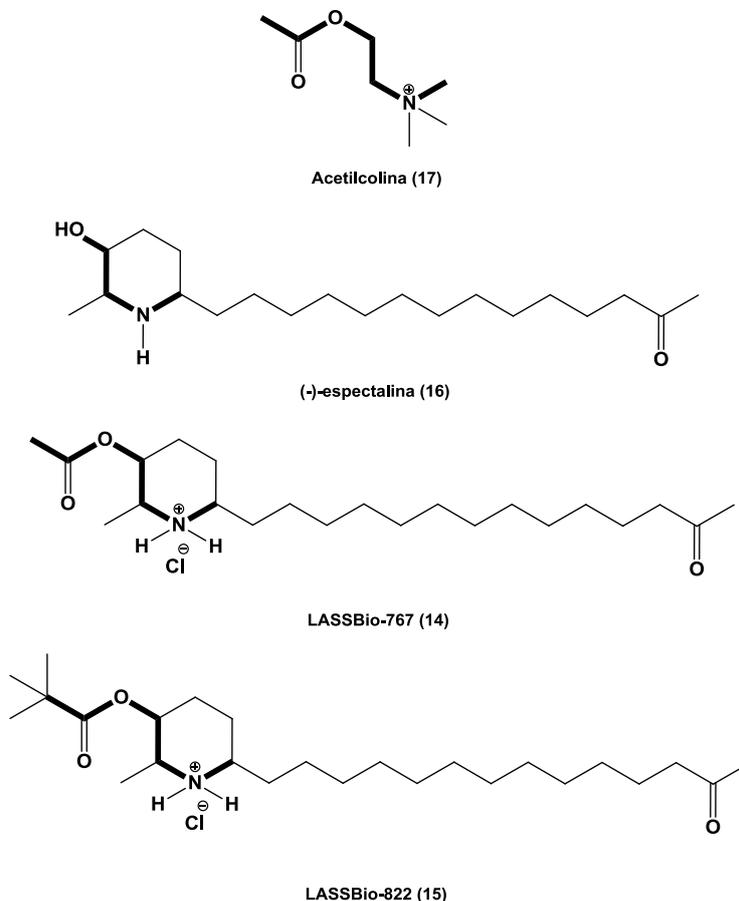
A biodiversidade vem sendo importante fornecedor de produtos do metabolismo secundário de plantas com atividades biológicas relevantes. Entre os medicamentos aprovados pelo FDA no período de 1981 a 2002, 40% são de origem natural ou derivados de produtos naturais num total de 868 fármacos [52].

Alguns fármacos utilizados atualmente na clínica são de derivados de produtos naturais, como a exemplo a galantamina (**3**), alcaloide natural isolado

de diferentes espécies de plantas da família *Amaryllidaceae* [53], e a fisostigmina (**8**), alcaloide natural que deu origem à rivastigmina (**4**). Outro inibidor da AChE como a Huperzina A (**6**) (alcaloide natural da *Huperzia serrata*), compõe o conjunto de substâncias terapêuticas de origem natural [54].

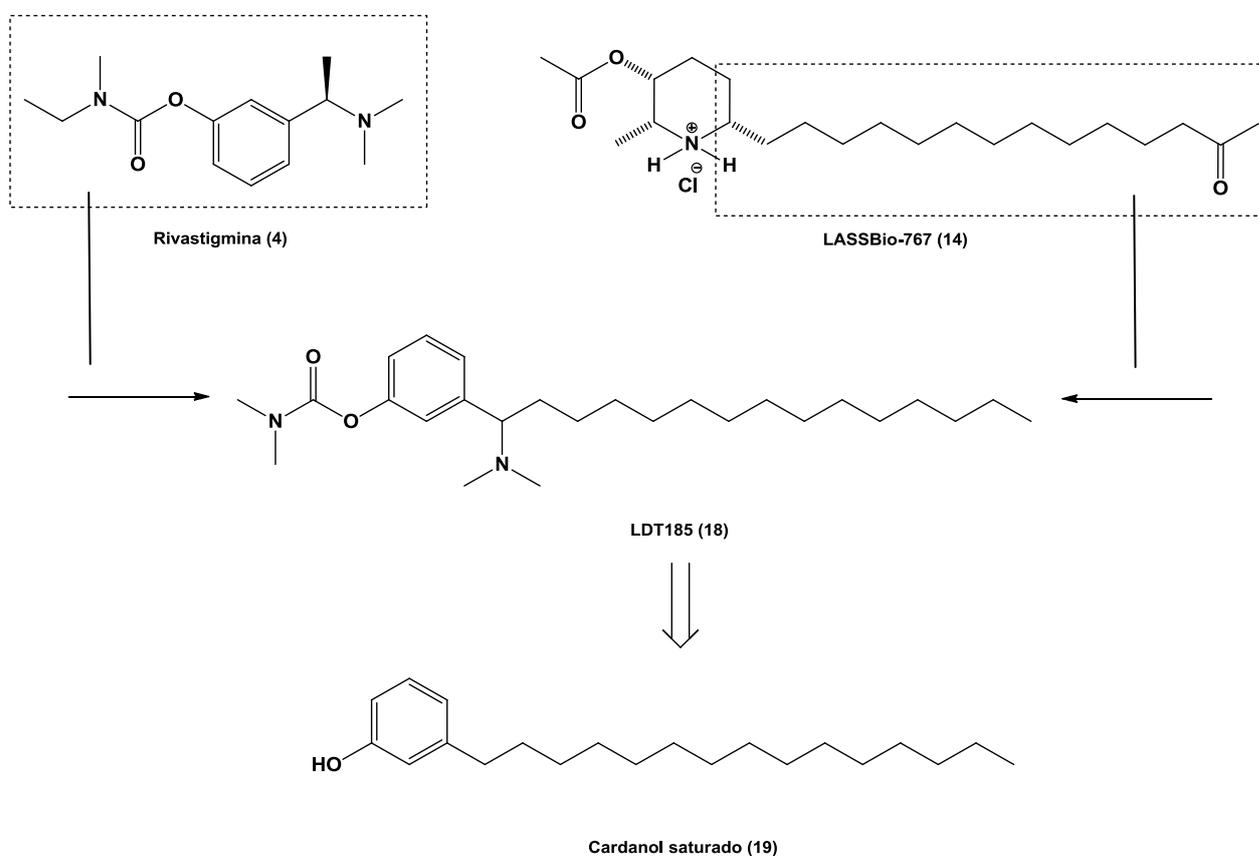
Dos compostos inibidores da AChE destacam-se os derivados semissintéticos LASSBio-767 (**14**) ($IC_{50-AChE}$ 7,32 μ M; $IC_{50-BuChE}$ 150,1 μ M; $IS_{IC_{50-AChE}/IC_{50-BuChE}}$ = 21; K_i 6,1 μ M) e LASSBio-822 (**15**) ($IC_{50-AChE}$ 15,1 μ M; $IC_{50-BuChE}$ 143,2 μ M; $IS_{IC_{50-AChE}/IC_{50-BuChE}}$ = 9,5; K_i 7,5 μ M), que apresentaram potente perfil inibidor não-competitivo reversível da AChE com elevado padrão de seletividade sobre a BuChE. **14** e **15** foram sintetizados a partir do alcaloide natural (-)-espectalina (**16**) isolado de flores da árvore *Senna spectabilis*, e devido à sua homologia estrutural com a acetilcolina (**17**) foram avaliados em ensaios anticolinesterásicos (Figura 13) [39, 55-58].

Figura 13 - Similaridade estrutural entre o substrato endógeno ACh (**16**) e a espectalina (31) no desenho dos protótipos LASSBio-767 (**14**) e LASSBio-822 (**15**)



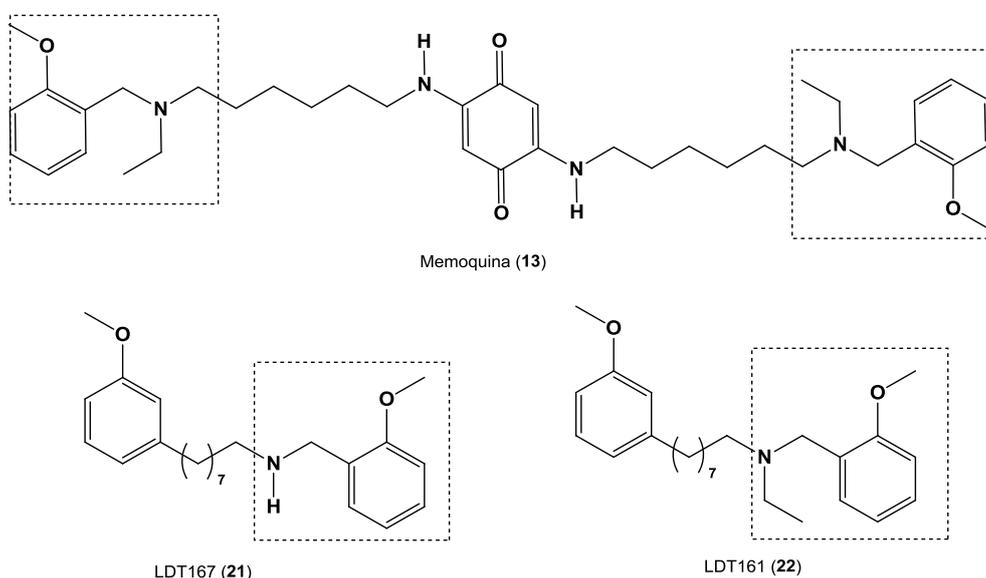
Neste contexto, novos inibidores da AChE foram planejados a partir da hibridização da subunidade farmacofórica da rivastigmina (**4**) e a subunidade secundária da cadeia alquílica do LASSBio-767 (**14**) dando origem ao derivado LDT185 (**18**) (IC_{50} 50,0 μ M) com melhor perfil inibitório da série (Figura 14). LDT185 foi sintetizado a partir do cardanol saturado (**19**), que permitiu servir como arcabouço para modificações moleculares [59,60]. O cardanol saturado (**19**) é dos lipídeos fenólicos não-isoprenoides isolados a partir do líquido da casca da castanha do caju (LCC) de *Anacardium occidentale*. Outros metabólitos secundários compõem o grupo dessa mistura lipídica do LCC *i.e.* cardóis, ácidos anarcádicos e metilcardóis. Uma característica peculiar desses metabólitos é a presença de grupo fenólico em sua estrutura ligado a uma cadeia alifática com 15 carbonos e diferentes graus de insaturação, o que lhes confere a capacidade de diversas modificação moleculares.

Figura 14 - Planejamento racional do LDT185 (**18**) por hibridação molecular



Ainda utilizando a mistura de cardanóis insaturados (**20**) como produto de partida para síntese de inibidores da AChE, foram obtidos os compostos LDT161 (**21**) e o LDT167 (**22**), os quais exibiram perfil de inibição com IC_{50} 6,57 μ M e 17,2 μ M, respectivamente. Ambos derivados apresentam como subunidade farmacofórica o grupo 2-metóxi-benzilamina presente na memoquina (**13**) [61].

Figura 15 - Planejamento do LDT161 (**21**) e o LDT167 (**22**) a partir da subunidade farmacofórica da memoquina (**13**)

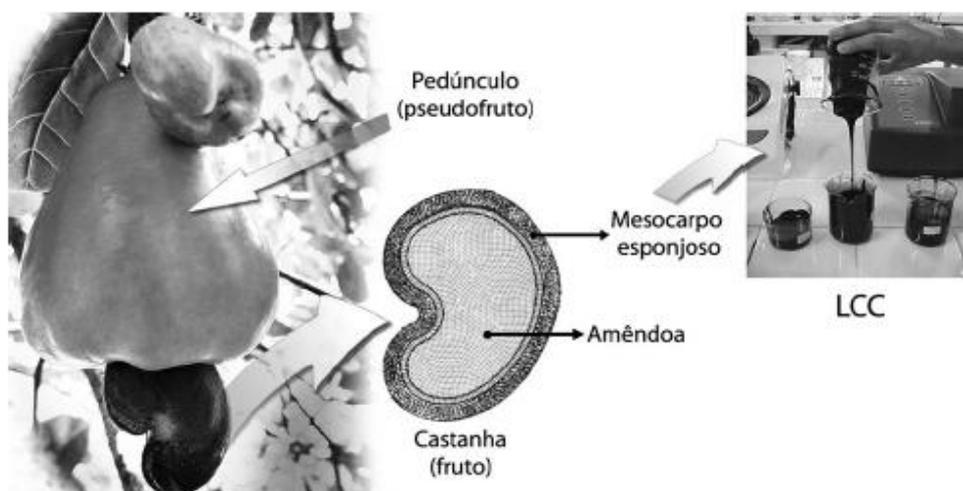


1.7 LIPÍDEOS FENÓLICOS PRESENTES NO LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DO CAJU (LCC)

A *Anacardium occidentale* L. pertencente à família *Anacardiaceae*, popularmente conhecida como cajueiro, é encontrado em abundância no litoral da região nordeste brasileira. A cajucultura constitui uma grande fonte de renda na indústria alimentícia devida ao consumo do pseudofruto do caju, porção suculenta, além do fruto, a castanha. A castanha do caju constitui um aquênio

de comprimento e largura variáveis, que apresenta na sua parte interna uma amêndoa, parte comestível do fruto, revestida por uma casca coriácea lisa de mesocarpo alveolado. A sua casca está cheia de um líquido oleoso escuro, que tem característica de ser cáustico e inflamável, denominado líquido da casca da castanha do caju (LCC) (Figura 16) [62,63].

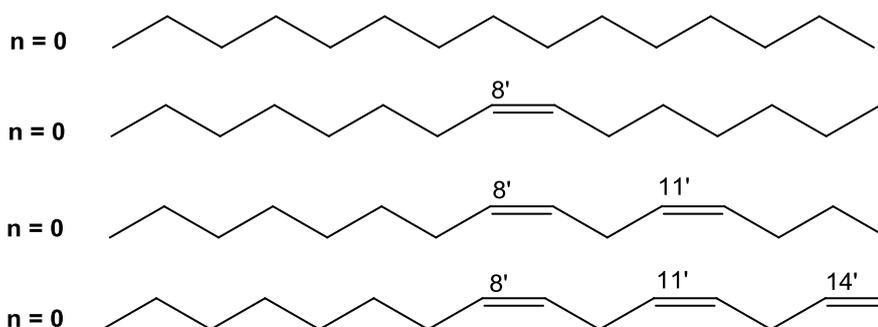
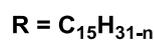
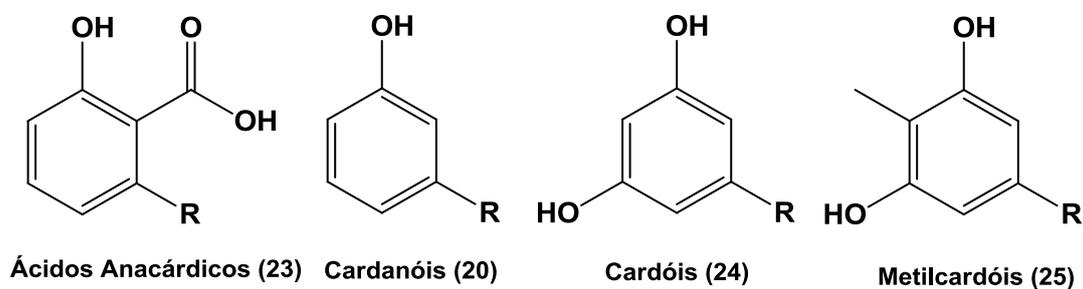
Figura 16 - Estrutura básica do aquênio e localização do LCC



Fonte: Mazzetto S. E., 2009 [56]

A casca compreende cerca de 50% do peso da castanha bruta, onde os outros 50% consistem no peso da amêndoa (25%) e do LCC (25%). Uma característica do LCC é a presença de lipídeos fenólicos não-isoprenoides de origem natural na forma de misturas de ácidos anacárdicos (**23**), cardanóis (**20**), cardóis (**24**) e metilcardóis (**25**), encontrados na forma saturada (3%), como monoeno (8' – 34-36%), dieno (8',11' – 21-22%) e trieno (8',11',14' – 40-41%) (Figura 17) [62-65].

Figura 17 - Lipídeos não-isoprenoides presentes no LCC



O processo empregado para a extração do LCC ocorre de diversas maneiras, podendo ser por extração à frio (prensas), com solvente, processo térmico-mecânico (aproximadamente 190 °C). Desta forma, a composição química do LCC varia de acordo com o processo utilizado. Para o processo de extração à frio ou por solvente, chamado de LCC natural, o ácido anacárdico (23) é o componente majoritário, seguido por cardanol (20), cardol (24) e 2-metilcardol (25). Entretanto no LCC técnico, processo de extração a elevadas temperaturas, o ácido anacárdico (23) sofre processo de descarboxilação resultando na sua conversão em cardanol (20). A diferença na composição de ambos pode ser visualizada na Tabela 1 [62-65].

Tabela 1 - Composições químicas dos LCC natural e técnico^a.

Constituinte	LCC Natural	LCC Técnico
Ácido Anacárdico	71,70 – 82,00 %	1,09 – 1,75 %
Cardanol	1,60 – 9,20 %	67,82 – 94,60 %
Cardol	13,80 – 20,10 %	3,80 – 18,86 %
2-Metilcardol	1,65 – 3,90 %	1,20 – 4,10 %
Componentes Minoritários	2,20 %	3,05 – 3,98 %
Material Polimérico	----	0,34 – 21,63 %

Fonte: Adaptado de Mazzetto, (2009) [62]

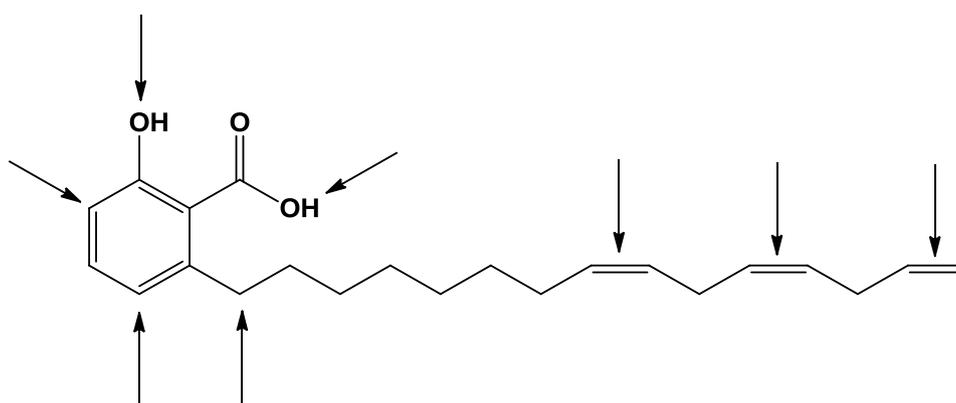
Como pode ser observado na Tabela 1, o LCC *in natura* contém maior quantidade de ácido anacárdico (**23**) e é isento de material polimérico. Pelo fato do LCC técnico ser subproduto da indústria cajueira e vendido a baixos valores, a utilização de seus constituintes vem sendo amplamente explorada nas últimas décadas [58-61]. O LCC possui diversas aplicações em química fina, de acordo com a funcionalização de seus produtos isolados, tendo apresentado grande aplicação na produção de derivados poliméricos e resinas, sendo um potencial substituto aos derivados do petróleo. Adicionalmente, devido as suas características fenólicas e hidrofóbicas, o LCC tem sido utilizado como arcabouço para modificações moleculares em Química Medicinal [62-77].

1.7.1 Líquido da Castanha do Caju (LCC) – Ácido Anacárdico

O ácido anacárdico (**23**), lipídeo fenólico não-isoprenoide majoritário no LCC *in natura*, possui peculiar característica vesicante, ainda que em menor proporção, conferindo irritabilidade em contato com a pele e mucosas. Diversas

atividades são relatadas para **23** em que se destacam sua capacidade como antioxidante, ao inibir enzimas relacionadas ao estresse oxidativo, e principalmente sua atividade anti-inflamatória como inibidor da lipooxigenase, NfKB, HAT além de suas ações antibacteriana, antifúngica e antitumoral [62-77]. Por apresentar características químicas que permitem diferentes funcionalizações, pela combinação natural da presença da cadeia alquílica hidrofóbica e com diferentes graus de insaturação, assim como pelo anel aromático contendo os grupos fenol e ácido carboxílico (Figura 18), este derivado tem sido utilizado no planejamento de novos ligantes com diferentes perfis terapêuticos [77].

Figura 18 - Ácido anacárdico: sítios de reatividade



Ácido Anacárdico (23)

Neste contexto, modificações moleculares no esqueleto desse bióforo natural por meio de reações clássicas em Química Orgânica levam à obtenção de diferentes compostos como a hidrogenação catalítica na obtenção da cadeia alquílica saturada [59,60], clivagem oxidativa da cadeia insaturada [61,63], reações de substituição e eliminação no carbono benzílico [67], *orto* ou *para* alquilações e acilações [66], nitração [69] da hidroxila fenólica. Desta forma tanto o LCC, assim como seus constituintes isolados, como o ácido anacárdico, constituem matéria prima de interesse na síntese de compostos bioativos com valor agregado.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O presente estudo objetiva a utilização do ácido anacárdico (**23**) na obtenção racional de novos compostos utilizados como inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE), candidatos ao tratamento da doença de Alzheimer.

2.1.1 Objetivos Específicos

Compreendem os objetivos específicos:

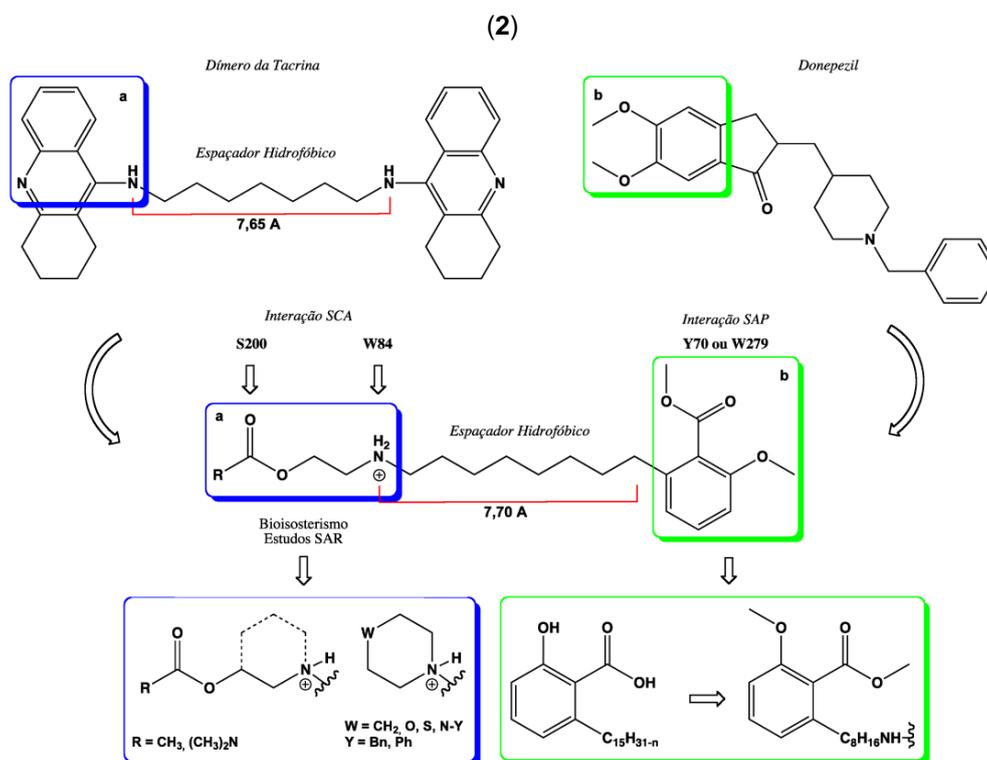
- A síntese e a caracterização de intermediários e produtos finais;
- A avaliação do perfil farmacológico dos compostos-alvo quanto à atividade anticolinesterásica em modelos experimentais *in vitro*; e
- Estabelecimento de relação estrutura química-atividade farmacológica.

Planejamento Estrutural

3 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

Os compostos-alvo foram planejados pela similaridade de interações encontradas na subunidade farmacofórica primária do homodímero Bis(7)-tacrina (**10**) e a subunidade auxofórica do donepezil (**2**), conectadas por espaçador contendo 8 metilenos (7,6 Å) (Figura 19). A subunidade auxofórica contendo grupos aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) diretamente ligados a anel aromático, visando mimetizar o donepezil (**2**), foi mantida em toda série de compostos a partir da subunidade 2-metóibenzoato de metila. A subunidade farmacofórica planejada para interagir em ambos os subsítios encontrados no sítio ativo da AChE, como a tacrina (**1**) ou acetilcolina (**17**), foi idealizada explorando estratégias de modificação molecular como bioisosterismo clássico de anéis, restrição e liberdade conformacional e adição de outros atributos de reconhecimento molecular, visando avaliar a modulação do perfil desejado na busca do melhor ligante da série. Desta forma, os compostos-alvo compreendem novos padrões moleculares com arcabouço estrutural complementar aos resíduos de aminoácidos da AChE.

Figura 19 - Estratégia de similaridade de interação entre o dímero da tacrina (**10**) e o donepezil



A subunidade farmacofórica **a** dos novos padrões moleculares apresenta grupos amina secundários e terciários, previsto teoricamente para interagir com os resíduos Ser200 (tríade catalítica) e Trp84 (sítio hidrofóbico aromático) no sítio catalítico. A estratégia bioisostérica de anelação fornece análogos com restrição conformacional representado pelos grupos alquilpiperazina, fenilpiperazina, hidróxipirrolidina e hidróxipiperidina, estes últimos variando pela presença de grupos ésteres (acetóxi) ou carbamatos (*N,N*-dimetilcarbamoil), respectivamente, visando avaliar a influência da liberdade conformacional na interação com a AChE. Outra variação consiste na adição do grupo benzila à amina secundária, o qual poderia interagir com o resíduo Phe331 próximo ao Trp84, mimetizando as interações ALH do donepezil.

O espaçador apresenta oito unidades metilênicas semelhante em comprimento (7,70 Å) e característica hidrofóbica ao encontrado no dímero da tacrina (**10**) (7,65 Å), com variação isostérica clássica entre o nitrogênio e o metileno na posição benzílica. Alguns derivados da literatura apresentam a troca do grupo amina por sulfeto, o qual apresenta o mesmo tipo de reconhecimento hidrofóbico que o grupo metileno [57,59,61,77].

A subunidade **b** dos derivados propostos estabelece novos padrões moleculares de acordo os grupos metoxila e carbometoxila no ácido anacárdico (**23**) dimetilado. Nossos pressupostos teóricos indicam que esta subunidade poderá interagir com os resíduos Trp279, Tyr70 e Tyr334 do sítio periférico por meio de interações aromático-aromático (*stacking*) [78]. A presença de aceptores de ligação de hidrogênio (oxigênios) possibilitam interações dipolo-dipolo (ligação de hidrogênio) com os mesmos resíduos doadores de ligação de hidrogênio.

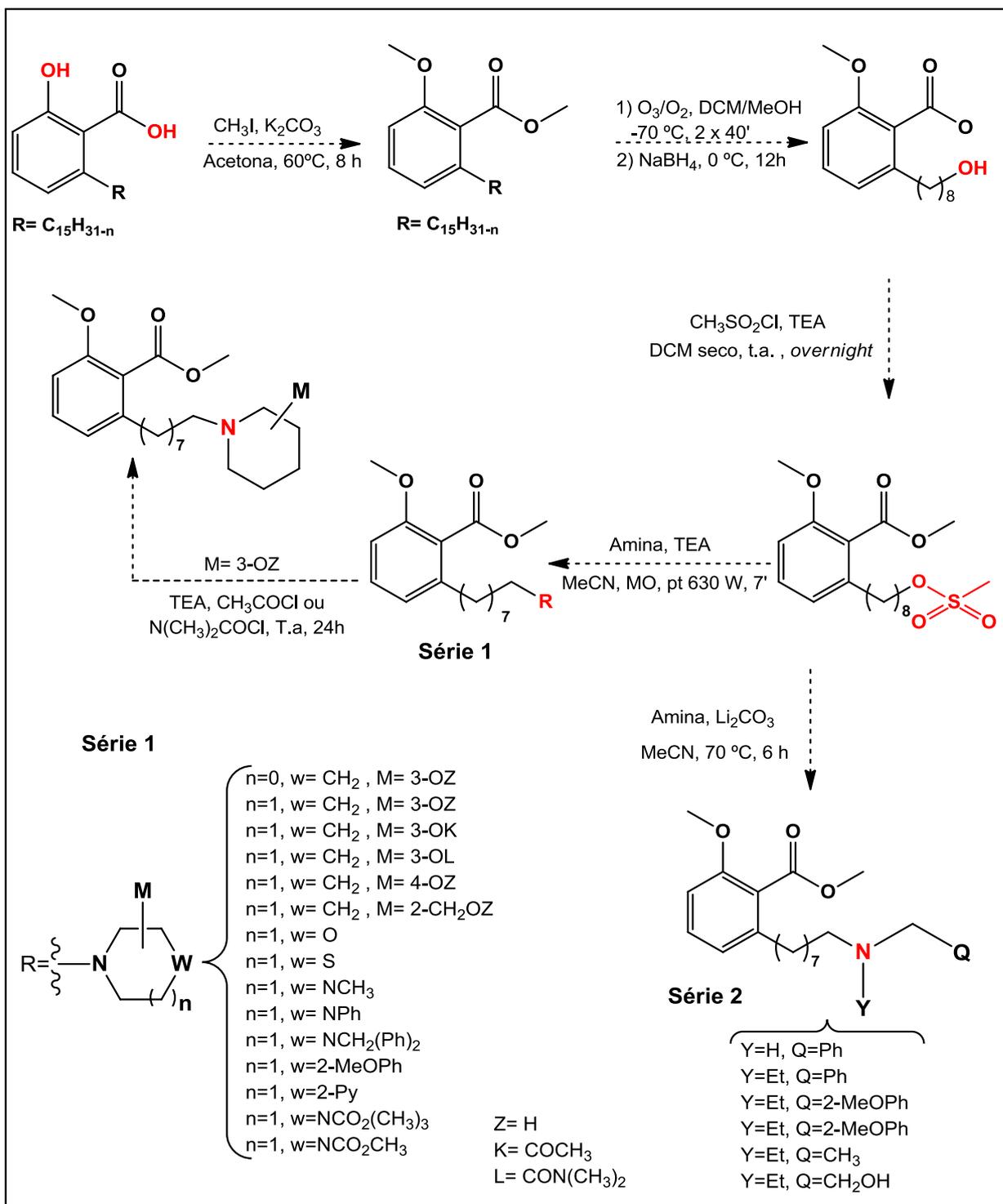
Estratégia Sintética

4 ESTRATÉGIA SINTÉTICA

A estratégia sintética para a obtenção dos compostos-alvo das séries **1** e **2** (Esquema 1) compreendeu a exploração de procedimentos sintéticos clássicos *e.g.* O-alkilação, ozonólise, redução com hidretos metálicos, interconversão de grupos funcionais, acilação e carbamoilação.

O planejamento sintético para as séries **1** e **2** foi idealizado a partir da alquilação das hidroxila fenólicas e do ácido carboxílico da mistura de ácidos anacárdicos (**23**) por meio da reação com iodeto de metila, carbonato de potássio em acetona, seguida da reação de ozonólise em mistura metanol e diclorometano (1:1) com fluxo contínuo de ozônio e tratamento redutivo do ozonídeo secundário com boridreto de sódio para fornecer o éster 2-(8-hidróxiocetil)-6-metóxi-benzoato de metila (LDT74, **27**). Posterior conversão do grupo hidroxila ao mesilato pelo tratamento com cloreto de mesila e trietilamina em diclorometano compreendeu a formação do intermediário-chave 2-metóxi-6-[8-metilsulfonil]ocetil]benzoato de metila (LDT74Ms, **28**). LDT74Ms (**28**) foi utilizado nas reações de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) assistida sob radiação micro-ondas na presença das respectivas aminas e trietilamina em acetonitrila. Adicionalmente, os compostos hidroxilados foram transformados em seus respectivos acetatos e carbamatos por meio do tratamento com cloreto de acetila ou cloreto de *N,N*-dimetilcarbamoíla em diclorometano anidro, na presença de trietilamina (Esquema 1).

Esquema 1 - Metodologia sintética geral para obtenção dos derivados-alvo



Parte Experimental

5 PARTE EXPERIMENTAL

5.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes e solventes químicos utilizados neste trabalho foram adquiridos das indústrias Sigma-Aldrich[®] (EUA) e Tedia[®] (EUA). Os solventes acetonitrila (MeCN) e diclorometano (DCM) bem como o reagente trietilamina (TEA) foram previamente secos com hidreto de cálcio e destilados antes do uso.

As reações de substituição nucleofílica (S_N2) foram realizadas em forno micro-ondas doméstico Brastemp[®] modelo BMK38ABHNA JetDefrost com capacidade de 38 L e potência de 900 W.

As reações e purificações foram monitoradas por meio de cromatografia em camada delgada (ccd), utilizando cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de sílica Kieselgel 60 F254 em alumínio com espessura de 0,25 mm (SILICYCLE[®]) e visualizadas através de lâmpada de UV (254-366 nm), que permitiu o cálculo do fator de retenção (RF). Para a purificação dos compostos foi utilizada cromatografia em coluna com gel de sílica G60 (70-230 mesh) SILICYCLE[®].

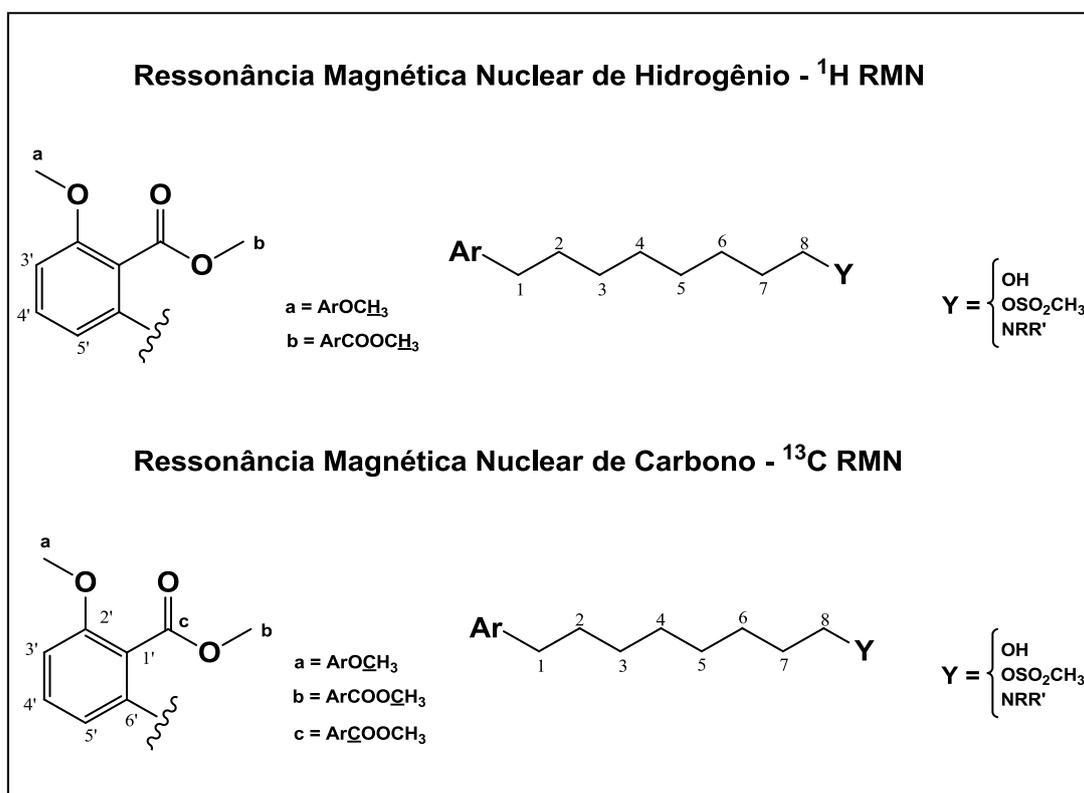
Os solventes foram evaporados à pressão reduzida utilizando evaporador rotatório Tecnal[®] TE-211, conectado a sistema de alto-vácuo com pressão variando entre 10 e 0,1 mmHg.

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em Espectrofotômetro Perkin Elmer modelo Spectrum BX, empregando pastilhas de brometo de potássio (KBr) ou na forma de filme líquido em placa de cloreto de sódio (NaCl) da Central Analítica da Universidade Católica de Brasília – UCB. Os valores para as absorções ($\nu_{\text{máx}}$) são referidos em números de ondas utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm^{-1}).

As análises por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono-13 (RMN ¹³C) foram realizadas no Centro Nordeste de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN) da Universidade

Federal do Ceará, e os espectros obtidos a 300 MHz e 75 MHz ou a 500 MHz e 125 MHz respectivamente, verificados em aparelho Bruker Avance DRX300 e DRX500. Para a realização dos testes, as amostras foram solubilizadas em CDCl_3 , tendo tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de deslocamento químico (δ) são referidos em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como: simpleto (s); duplete (d); tripleto (t) e multiplete (m) (Figura 20).

Figura 20 - Numeração e legendas empregadas na descrição de sinais em RMN ^1H e RMN ^{13}C

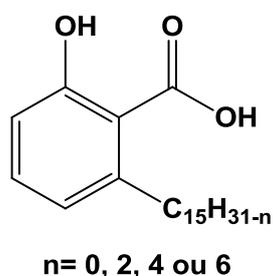


5.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

5.2.1 Obtenção do Líquido da Casca da Castanha do Caju (LCC Natural)

Em um Berzelius (500,0 mL) foram pesados 150,00 g de casca da castanha de caju, as quais foram transferidas para o sistema de extração Soxhlet (1000,0 mL), seguido da adição de etanol (400,0 mL). O sistema foi mantido em aquecimento em manta por 4 horas. Após este período, o balão coletor foi trocado e uma nova extração realizada utilizando as mesmas condições. Ao final do segundo processo, o solvente foi evaporado à pressão reduzida levando à obtenção do LCC natural como um líquido marrom escuro (60,00 g).

5.2.2 Obtenção da Mistura de Ácidos Anacárdicos a Partir do LCC Natural

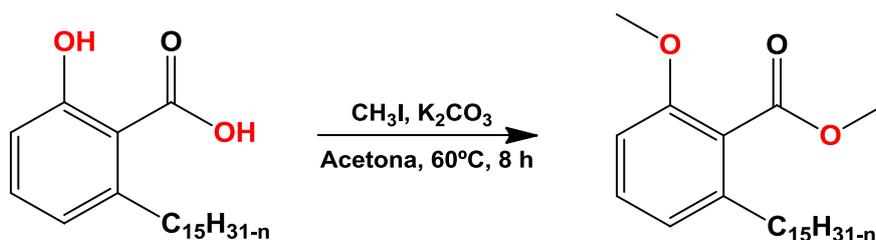


Em um Béquer (50,0 mL) foram adicionados 16,80 g (0,58 eq) de nitrato de chumbo $[Pb(NO_3)_2]$ e água bidestilada (20,0 mL), cuja solução foi transferida para um balão (500,0 mL) sob agitação constante. Em seguida, uma solução contendo 7,80 g (3,80 eq) de hidróxido de sódio (NaOH) em água bidestilada (40,0 mL) foi adicionada à solução de $Pb(NO_3)_2$ para obtenção de hidróxido de chumbo $Pb(OH)_2$. Após uma hora, a suspensão foi filtrada à vácuo e o precipitado, $Pb(OH)_2$, lavado com água destilada até que a solução

atingisse pH neutro e, finalmente, lavado com etanol (10,0 mL). O precipitado foi reservado para a etapa seguinte.

Em um Erlenmeyer (1000,0 mL) foram adicionados $\text{Pb}(\text{OH})_2$, previamente obtido, e uma solução de LCC natural, obtida a partir de 30,00 g (87,164 mmol) do extrato em etanol (196,0 mL), permanecendo a mistura sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Após este período, a mistura foi filtrada para obtenção do precipitado de anacardato de chumbo. O precipitado foi transferido para um balão (500,0 mL) no qual foram adicionados solução de ácido nítrico 20% (150,0 mL) e éter etílico (200,0 mL). Após a adição do ácido nítrico a solução apresentou coloração escura límpida bifásica. Manteve sob agitação por 1 hora para garantir que todo o ácido fosse liberado. A solução bifásica foi transferida para um funil de separação (500,0 mL) e a fase orgânica lavada com solução saturada de cloreto de sódio (20,0 mL). Após secagem sobre sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), o solvente foi evaporado à pressão reduzida, fornecendo a mistura de ácidos anacárdicos como um líquido marrom em rendimento de 70%.

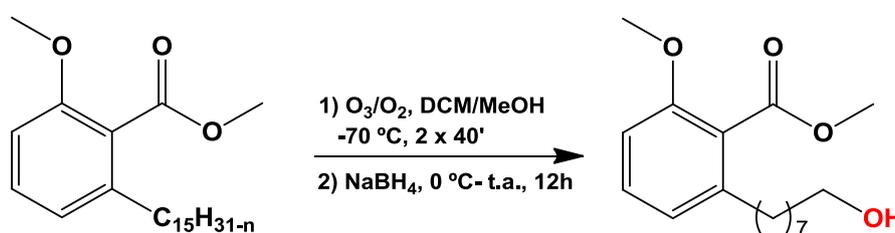
5.2.3 Obtenção da Mistura de 2-Metóxi-anacardatos de Metila (26)



A um balão (500,0 mL) foram adicionados 21,00 g (60,254 mmol) da mistura de ácidos anacárdicos, 31,98 g de K_2CO_3 (4,20 eq) e acetona (300,0 mL). A mistura foi submetida a aquecimento e, ao início do refluxo, foram adicionados 25,0 mL de CH_3I (6,48 eq), permanecendo o sistema reacional foi sob agitação em refluxo por 8 horas. Após este tempo o solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo resultante extraído com acetato de etila (3 x

50,0 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução de HCl 10% (20,0 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (15,0 mL). Após secagem sobre sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e a mistura purificada por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com mistura de hexanos e acetato de etila a 5%, fornecendo a mistura de ácidos anacárdicos dimetilados, um líquido amarelo em rendimento de 70%.

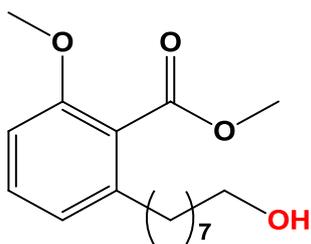
5.2.4 Obtenção do Composto 2-(8-hidróxiocetil)-6-metóxi benzoato de metila (27, LDT74)



A um sistema para ozonólise foram adicionados 6,80 g da mistura de ácidos anacárdicos dimetilados (18,068 mmol) e uma mistura de diclorometano e metanol 1:1 (70,0 mL). O sistema reacional foi resfriado em banho de acetona/gelo seco à temperatura de -70°C, sob agitação magnética e submetido a fluxo contínuo de ozônio (5 g/mL) por 80 minutos (2 x de 40'). Após o término da reação, acompanhado por ccd, o excesso de O₃ foi tratado com fluxo de N₂. Em seguida, a mistura reacional foi transferida para um béquer (1000,0 mL), sob banho de gelo, e uma solução contendo 6,82 g de NaBH₄ (9,97 eq) em uma mistura de etanol e metanol 1:1 (50,0 mL) foi lentamente adicionada permanecendo sob agitação vigorosa à temperatura ambiente por 2 horas. Após este período, uma solução de HCl 10% (50,0 mL) foi adicionada e a mistura reacional extraída com acetato de etila (3 x 30,0 mL), e as fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (15,0 mL). Após secagem sobre sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo purificado por cromatografia em

coluna de gel de sílica, eluída com mistura de hexano e acetato de etila a 30%, fornecendo o derivado LDT74.

2-(8-Hidróxiocetil)-6-metóxi benzoato de metila (**27**, LDT74)



Líquido amarelo claro

Rendimento (50%)

R_f = 0,22 (Hex:AcOEt 20%)

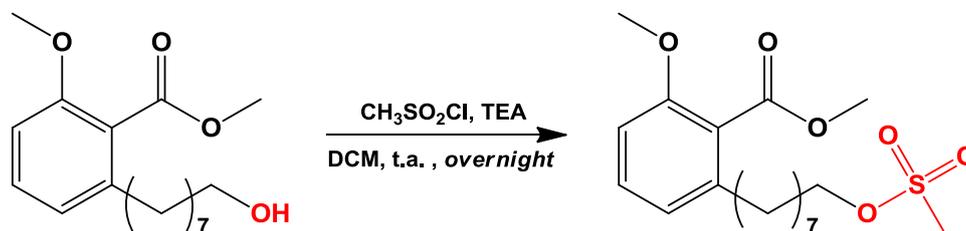
Fórmula Molecular = C₁₆H₂₄O₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 3398 (ν_{OH}); 2931 (ν_{asCH_2}); 2856 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586, 1527 e 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1269 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1189 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1116 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,30 (m, 8H, CH₂, H3-H6); 1,56-1,51 (m, 4H, CH₂, H2 e H7); 1,86 (s, 1H, OH); 2,52 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH₂, H1); 2,61 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, H8); 3,80 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,75 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,26 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

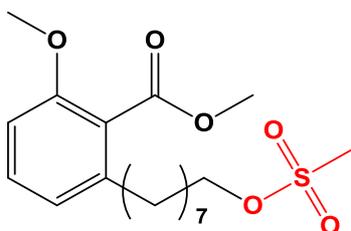
RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 25,8 (CH₂, C6); 29,4-29,5 (CH₂, C3-C5); 31,2 (CH₂, C2); 32,8 (CH₂, C7); 33,6 (CH₂, C1); 52,3 (ArCO₂CH₃); 56,0 (ArOCH₃); 63,1 (CH₂, C8); 108,5 (Ar-3'-CH); 121,6 (Ar-1'-C); 123,5 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,4 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

5.2.5 Obtenção do Composto 2-Metóxi-6-(8-(metilsulfoniloctil)benzoato de metila (28, LDT74Ms)



Em um balão de 150,0 mL foram adicionados 1,79 g do derivado LDT74 (6,346 mmol) e diclorometano seco (20,0 mL). À solução, em banho de gelo e sob agitação, foram adicionados trietilamina (2,00 eq) e cloreto de mesila (1,25 eq). A mistura permaneceu sob agitação overnight, com evolução à temperatura ambiente e protegida da luz. Após este período a mistura foi diluída com diclorometano (10,0 mL) e a fase orgânica neutralizada com solução de bicarbonato de sódio 5% (5,0 mL), solução de HCl 10% (10,0 mL) e solução salina saturada (10,0 mL). Por fim, a fase orgânica seca sob sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e a mistura purificada por cromatografia em coluna contendo gel de sílica, eluída com diclorometano, fornecendo o LDT74Ms puro em rendimento de 85%.

2-Metóxi-6-[8-metilsulfonil]octil]benzoato de metila (28, LDT74Ms)



Líquido incolor

Rendimento (85%)

R_f = 0,6 (DCM)

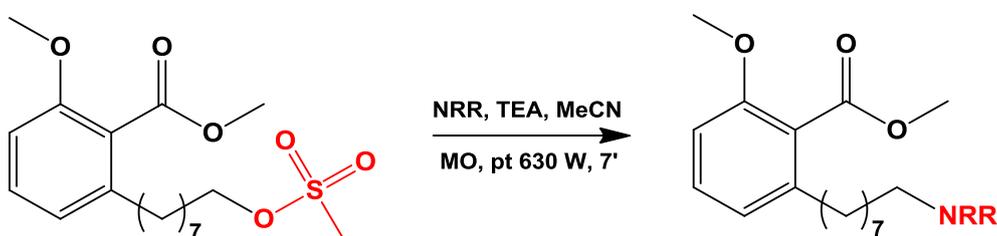
Fórmula Molecular: C₁₈H₂₈SO₆

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2934 (ν_{asCH_2}); 2857 (ν_{sCH_2}); 1733 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586, 1526 e 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1269 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1175 (ν_{sSO_2}); 1116 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1074 ($\nu_{\text{sC-O}}$); 749 ($\nu_{\text{C-S}}$);

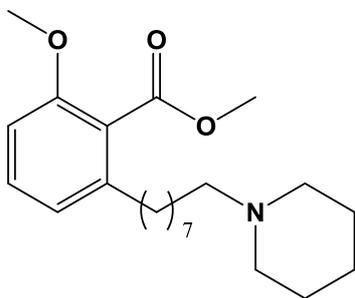
RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 1,30 (m, 6H, CH_2 , H3-H5); 1,38 (m, 2H, CH_2 , H6); 1,57 (m, 2H, CH_2 , H7); 1,70-1,76 (m, 2H, H2); 2,53 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H, CH_2 , H1); 3,00 (s, 3H, OSO_2CH_3); 3,81 (s, 3H, ArOCH_3); 3,90 (s, 3H, ArCO_2CH_3); 4,21 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, H8); 6,76 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,27 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 25,5 (CH_2 , C6); 29,0 (CH_2 , C7); 29,2-29,4 (CH_2 , C3-C5); 31,2 (CH_2 , C2); 33,6 (CH_2 , C1); 37,5 (OSO_2CH_3); 52,3 (ArCO_2CH_3); 56,0 (ArOCH_3); 70,3 (CH_2 , C8); 108,5 (Ar-3'- CH); 121,6 (Ar-1'- C); 123,6 (Ar-5'- CH); 130,4 (Ar-4'- CH); 141,3 (Ar-6'- C); 156,4 (Ar-2'- CO); 169,1 (Ar- CO_2CH_3).

5.2.6 Procedimento Geral para Obtenção dos Compostos-alvo Sob Radiação Micro-ondas



Em um tubo reator foram adicionados a amina correspondente (2,00 eq), trietilamina (2,00 eq) em acetonitrila anidra (1,0 mL). Por último foram adicionados 0,200 g do derivado LDT74Ms (0,531 mmol). O sistema reacional foi submetido à radiação micro-ondas em forno convencional à potência de 70% durante 5 a 7 ciclos de 1 minuto (5-7 x 1,0'). A mistura foi transferida para coluna cromatográfica com gel de sílica e eluída com mistura clorofórmio/etanol em diferentes proporções, fornecendo os derivados correspondentes.

2-Metóxi-6-(2-(piperidin-1-il)octil)benzoato de metila (**29**, LDT410)

Líquido amarelo

Rendimento (59%)

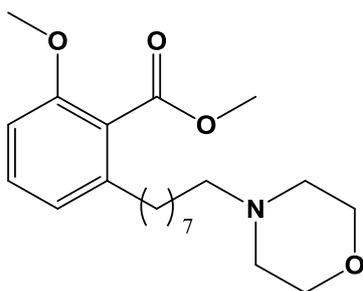
R_f = 0,4 (CHCl₃:EtOH)Fórmula Molecular: C₂₂H₃₅NO₃

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2932 (ν_{asCH_2}); 2855 (ν_{sCH_2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1593, 1526 e 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1270 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1121 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (m, 8H, CH₂, H3-H6); 1,46-1,56 (m, 6H, CH₂, NCH₂CH₂CH₂ e NCH₂CH₂CH₂); 1,67 (t, *J* = 5,1 Hz, 4H, CH₂, H2 e H7); 2,37 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₂, H8); 2,52 (t, *J* = 7,7 Hz, 6H, CH₂, H1 e NCH₂CH₂CH₂); 3,81 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,75 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H5'); 7,26 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 24,2 (NCH₂CH₂CH₂); 25,5 (NCH₂CH₂CH₂); 26,4 (CH₂, C6); 27,7 (CH₂, C7); 29,2-29,5 (CH₂, C3-C5); 31,2 (CH₂, C2); 33,6 (CH₂, C1); 52,3 (ArCO₂CH₃); 54,5 (NCH₂CH₂CH₂); 56,0 (ArOCH₃); 59,4 (CH₂, C8); 108,5 (Ar-3'-CH); 114,1 (Ar-1'-C); 121,6 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,5 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-Metóxi-6-(2-morfolinoctil)benzoato de metila (**30**, LDT411)



Líquido amarelo

Rendimento (64%)

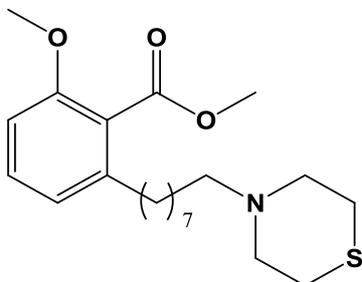
R_f = 0,65 (CHCl₃:EtOH)

Fórmula Molecular: C₂₁H₃₃NO₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2931 (ν_{asCH_2}); 2855 (ν_{sCH_2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1588 e 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1270 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1118 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (m, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,49-1,58 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 2,34 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,46-2,48 (m, 4H, N $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$); 2,52 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H1); 3,73 (t, $J = 4,5$ Hz, 4H, N $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$); 3,80 (s, 3H, ArO $\underline{\text{CH}_3}$); 3,89 (s, 3H, ArCO₂ $\underline{\text{CH}_3}$); 6,75 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,80 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,25 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,4 ($\underline{\text{CH}_2}$, C6); 27,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C7); 29,4 ($\underline{\text{CH}_2}$, C5); 29,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C3 e C4); 31,2 ($\underline{\text{CH}_2}$, C2); 33,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C1); 52,2 (CO₂ $\underline{\text{CH}_3}$); 53,8 (N $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$); 56,0 (ArO $\underline{\text{CH}_3}$); 59,2 ($\underline{\text{CH}_2}$, C8); 66,9 (N $\underline{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$); 108,5 (Ar-3'- $\underline{\text{CH}}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}$); 123,6 (Ar-5'- $\underline{\text{CH}}$); 130,4 (Ar-4'- $\underline{\text{CH}}$); 141,4 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{CO}}$); 169,0 (Ar- $\underline{\text{CO}_2\text{CH}_3}$).

2-Metóxi-6-(2-tiomorfolinoctil)benzoato de metila (**31**, LDT412)

Líquido amarelo

Rendimento (76%)

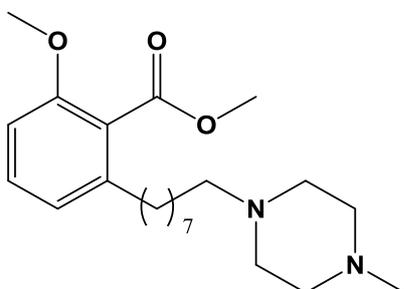
R_f = 0,35 (CHCl₃:EtOH)

Fórmula Molecular: C₂₁H₃₃NO₃S

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2930 (ν_{asCH_2}); 2856 (ν_{sCH_2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1594, 1526 e 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1272 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1120 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1076 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,27 (m, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,47-1,58 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 2,37 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,52 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H1); 2,69-2,75 (m, 8H, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ S e NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ S); 3,80 (s, 3H, ArOCH₃); 3,89 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,75 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,80 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,25 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,3 ($\underline{\text{CH}_2}$, C6); 27,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C7); 27,9 (NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ S); 29,4 ($\underline{\text{CH}_2}$, C5); 29,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C3 e C4); 31,2 ($\underline{\text{CH}_2}$, C2); 33,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C1); 52,2 (CO₂ $\underline{\text{CH}_3}$); 54,1 (NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ S); 56,0 (ArOCH₃); 59,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C8); 108,5 (Ar-3'- $\underline{\text{CH}}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}$); 123,6 (Ar-5'- $\underline{\text{CH}}$); 130,4 (Ar-4'- $\underline{\text{CH}}$); 141,4 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{CO}}$); 169,0 (Ar- $\underline{\text{CO}_2\text{CH}_3}$).

2-Metóxi-6-(2-(4-metilpiperazin-1-il)octil)benzoato de metila (**32**, LDT414)

Líquido amarelo

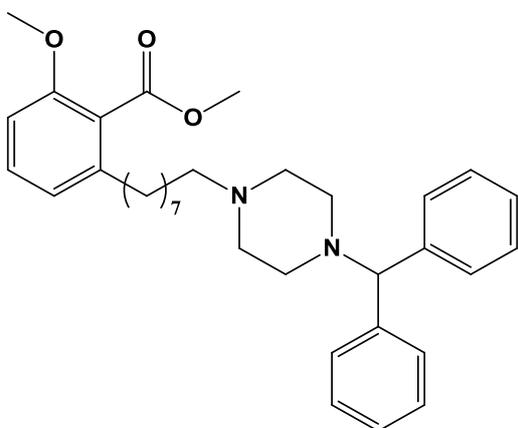
Rendimento (53%)

R_f = 0,45 (CHCl₃:EtOH 5%)Fórmula Molecular = C₂₂H₃₆N₂O₃

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2932 (ν_{asCH_2}); 2855 (ν_{sCH_2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1594, 1526 e 1458 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1271 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1166 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1115 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,27 (s, 10H, CH_2 , H2-H6); 1,46-1,47 (m, 2H, CH_2 , H7); 1,53-1,56 (m, 2H, CH_2 , H1); 2,29 (s, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_3$); 2,33 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H, CH_2 , H8); 2,49-2,53 (m, 8H, CH_2 , $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,79 (s, 3H, ArOCH_3); 3,88 (s, 3H, ArCO_2CH_3); 6,74 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,79 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,24 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 26,8 (CH_2 , C6); 27,7 (CH_2 , C7); 29,4 (CH_2 , C5); 29,5 (CH_2 , C3 e C4); 31,2 (CH_2 , C2); 33,6 (CH_2 , C1); 46,0 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NCH}_3$); 52,2 (CO_2CH_3); 53,1 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 55,0 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 56,0 (ArOCH_3); 58,8 (CH_2 , C8); 108,5 (Ar-3'-CH); 121,6 (Ar-1'-C); 123,6 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,4 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-(2-(4-Benzidrilpiperazin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**33**, LDT416)

Líquido transparente

Rendimento (97%)

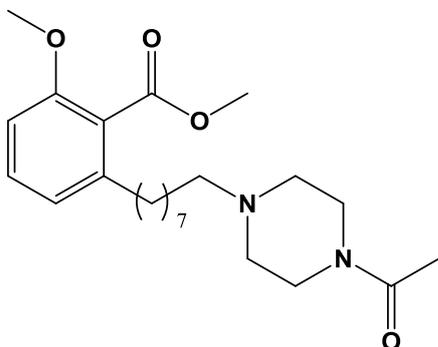
R_f = 0,4 (CHCl₃:EtOH 5%)

Fórmula Molecular: C₃₄H₄₄N₂O₃

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2931 (ν_{asCH_2}); 2806 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1076 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (s, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,49-1,57 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 2,37 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,51-2,56 (m, 10H, H1 e $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NCHAr}'_2$); 3,81 (s, 3H, ArOCH_3); 3,90 (s, 3H, ArCO_2CH_3); 4,24 (s, 1H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NCHAr}'_2$); 6,75 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,15-7,17 (m, 2H, Ar-H4'); 7,23-7,29 (m, 5H, Ar'-H2''-H6''); 7,41-7,43 (m, 4H, Ar''-H2'''-H6''').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,7 ($\underline{\text{CH}_2}$, C6); 27,7 ($\underline{\text{CH}_2}$, C7); 29,4-29,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C3-C5); 31,2 ($\underline{\text{CH}_2}$, C2); 33,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C1); 51,7 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NCHAr}'_2$); 52,2 (CO_2CH_3); 53,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NCHAr}'_2$); 56,0 (ArOCH_3); 58,8 (CH_2 , C8); 76,3 (NCHAr'_2); 108,5 (Ar-3'- $\underline{\text{CH}}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}$); 123,6 (Ar-5'- $\underline{\text{CH}}$); 127,0 (Ar'-4''- $\underline{\text{CH}}$); 128,0 (Ar'-2''- $\underline{\text{CH}}$ e -6''- $\underline{\text{CH}}$); 128,6 (Ar'-3''- $\underline{\text{CH}}$ e 5''- $\underline{\text{CH}}$); 130,3 (Ar-4'- $\underline{\text{CH}}$); 141,5 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 142,8 (Ar'-1''- $\underline{\text{C}}$); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{CO}}$); 169,0 (Ar- $\underline{\text{CO}_2\text{CH}_3}$).

2-(2-(4-Acetilpiperazin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**34**, LD417)

Líquido amarelo

Rendimento (72%)

R_f = 0,27 (CHCl₃:EtOH)

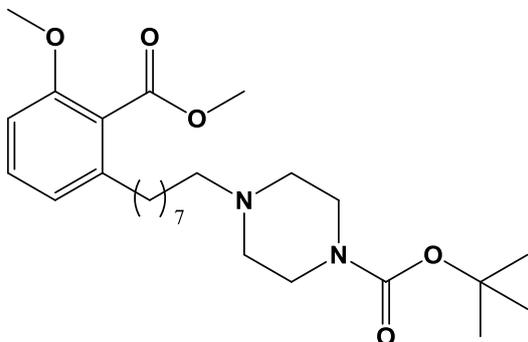
Fórmula Molecular: C₂₃H₃₆N₂O₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2930 (ν_{asCH_2}); 2857 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586, 1472 e 1438 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1074 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (m, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,52-1,55 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 2,07 (s, 3H, $\text{NCO}\underline{\text{CH}_3}$); 2,40 (t, $J = 7,5 \text{ Hz}$, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,48-3,53 (m, 6H, H1 e $\text{NCH}_2\underline{\text{CH}_2}\text{N}$); 3,52-3,53 (m, 2H, $\text{NCH}_2\underline{\text{CH}_2}\text{N}$); 3,68 (sl, 2H, $\text{NCH}_2\underline{\text{CH}_2}\text{N}$); 3,80 (s, 3H, $\text{ArO}\underline{\text{CH}_3}$); 3,89 (s, 3H, $\text{ArCO}_2\underline{\text{CH}_3}$); 6,75 (d, $J = 8,3 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H3'); 6,80 (d, $J = 7,7 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H5'); 7,25 (t, $J = 7,9 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 21,4 ($\text{NCO}\underline{\text{CH}_3}$); 26,4 ($\underline{\text{CH}_2}$, C6); 27,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C7); 29,4-29,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C3-C5); 31,2 ($\underline{\text{CH}_2}$, C2); 33,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C1); 41,0 ($\text{N}\underline{\text{CH}_2}\underline{\text{CH}_2}\text{N}$); 45,9 ($\text{N}\underline{\text{CH}_2}\underline{\text{CH}_2}\text{N}$); 52,3 ($\text{CO}_2\underline{\text{CH}_3}$); 52,7 ($\text{NCH}_2\underline{\text{CH}_2}\text{N}$); 53,3 ($\text{NCH}_2\underline{\text{CH}_2}\text{N}$); 56,0 ($\text{ArO}\underline{\text{CH}_3}$); 58,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C8); 108,5 (Ar-3'- $\underline{\text{CH}}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}$); 123,6 (Ar-5'- $\underline{\text{CH}}$); 130,4 (Ar-4'- $\underline{\text{CH}}$); 141,4 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{CO}}$); 169,0 (Ar- $\underline{\text{CO}_2}\underline{\text{CH}_3}$); 168,1 ($\text{NCO}\underline{\text{CH}_3}$).

4-(3-Metóxi-2-(metóxicarbonil)fenilooctil)piperazina-1-carboxilato de t-butila (**35**, LDT419)



Líquido Amarelo

Rendimento (67%)

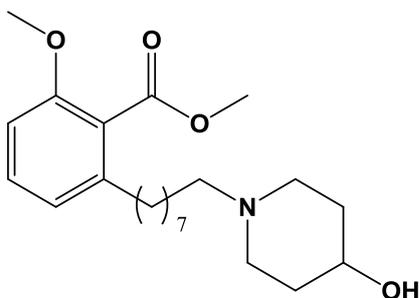
R_f = 0,75 (CHCl₃:EtOH 5%)

Fórmula Molecular: C₂₆H₄₄N₂O₅

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2931 (ν_{asCH_2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1420 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1173 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1123 ($\nu_{\text{C-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,31 (m, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,48 (m, 9H, NCOOC(CH₃)₃); 1,53-1,59 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 2,33-2,38 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,43-2,48 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 2,55 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H1); 3,50 (t, $J = 4,8$ Hz, 4H, NCH₂CH₂N); 3,84 (s, 3H, ArOCH₃); 3,95 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,78 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,83 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,29 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,0 ($\underline{\text{CH}_2}$, C6); 27,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C7); 28,8 (NCOOC($\underline{\text{CH}_3}$)₃); 29,4-29,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C3-C5); 31,2 ($\underline{\text{CH}_2}$, C2); 33,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C1); 52,2 (CO₂ $\underline{\text{CH}_3}$); 52,1 (NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ N); 56,0 (ArO $\underline{\text{CH}_3}$); 58,8 ($\underline{\text{CH}_2}$, C8); 79,8 (NCOOC(CH₃)₃); 108,5 (Ar-3'- $\underline{\text{CH}}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}$); 130,4 (Ar-4'- $\underline{\text{CH}}$); 141,4 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 154,8 (NCOOC(CH₃)₃); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{CO}}$); 169,0 (Ar- $\underline{\text{CO}_2\text{CH}_3}$).

2-(2-(4-Hidróxipiperidin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**36**, LDT420)

Líquido Amarelo

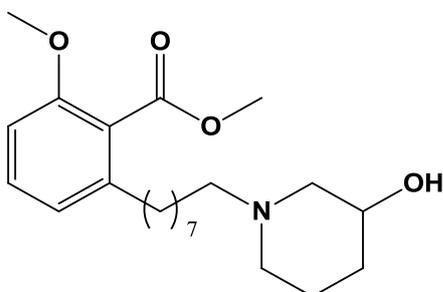
Rendimento (55%)

R_f = 0,22 (CHCl₃:EtOH 5%)Fórmula Molecular: C₂₂H₃₅NO₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 3180 (ν_{OH}); 2927 (ν_{asCH_2}); 2852 (ν_{sCH_2}); 1736 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1590 e 1474 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1271 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1115 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1072 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$); 1023 ($\nu_{\text{C-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (s, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,53-1,62 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 1,63-1,70 (m, 2H, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ CHOH); 1,97 (m, 2H, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ CHOH); 2,29 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,37-2,42 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ CH₂OH); 2,52 (t, 2H, J = 7,8 Hz, $\underline{\text{CH}_2}$, H1); 2,83-2,86 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ CH₂OH); 3,75 (s, 1H, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ CH₂OH); 3,91 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (s, 3H, ArCO₂ $\underline{\text{CH}_3}$); 6,75 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, J = 7,6 Hz, 1H, Ar-H5'); 7,26 (dd, J = 8,0 Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C6); 27,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C7); 29,4 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C5); 29,5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C4 e C3); 29,5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C2); 31,2 (NCH₂ $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ CHOH); 33,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C1); 33,8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C8); 50,7 (NCH₂ $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ CHOH); 52,3 (CO₂ $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 56,0 (ArO $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 58,6 (NCH₂ $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ CHOH); 108,6 (Ar-3'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}$); 123,7 (Ar-5'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 130,4 (Ar-4'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 141,4 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{C}}\text{O}$); 169,1 (Ar- $\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{CH}_3$).

2-(2-(3-Hidróxipiperidin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**37**, LDT423)

Líquido Amarelo

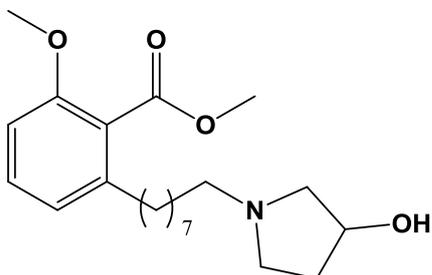
Rendimento (65%)

R_f = 0,20 (CHCl₃:EtOH 5%)Fórmula Molecular: C₂₂H₃₅NO₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 3408 (ν_{OH}); 2933 (ν_{asCH_2}); 2857 (ν_{sCH_2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1590 e 1460 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1269 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$); 1155 ($\nu_{\text{C-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,44-1,61 (s, 10H, CH₂, H3-H7); 1,75-1,83 (m, 2H, CH₂, H2); 2,30 (t, 2H, $J = 7,5 \text{ Hz}$, CH₂, NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 2,44 (m, 4H, CH₂, NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 2,50-2,55 (m, 2H, H1); 3,81 (s, 3H, ArOCH₃); 3,84-3,87 (m, 1H, NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 3,90 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 3,92-3,95 (m, 1H, NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 6,72 (d, $J = 8,2 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,6 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H5'); 7,26 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 21,9 (NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 27,0 (CH₂, C6); 27,6 (CH₂, C5); 27,7 (CH₂, C4); 28,5 (CH₂, C3); 29,6 (CH₂, C7); 31,3 (CH₂, C2); 32,1 (NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 33,6 (CH₂, C1); 52,3 (CO₂CH₃); 53,9 (NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 56,0 (ArOCH₃); 58,8 (CH₂, C8); 60,7 (NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 66,5 (NCH₂CH(OH)CH₂CH₂CH₂); 108,6 (Ar-3'-CH); 121,6 (Ar-1'-C); 123,7 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,4 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-(2-(3-Hidróxipirrolidin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**38**, LDT426)

Líquido Amarelo

Rendimento (67%)

R_f = 0,22 (CHCl₃:EtOH 5%)

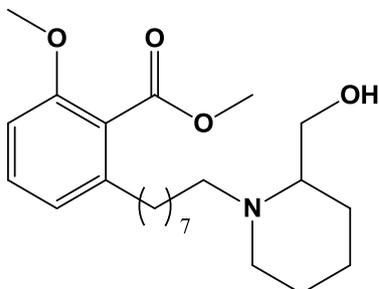
Fórmula Molecular: C₂₁H₃₄NO₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 3422 (ν_{OH}); 2931 (ν_{asCH_2}); 2857 (ν_{sCH_2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1587 e 1473 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{SC-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (m, 8H, CH₂, H3-H6); 1,51-1,56 (m, 4H, CH₂, H2 e H7); 1,73-2,25 (m, 2H, H1); 2,31-2,44 (m, 1H, H8); 2,47-2,59 (m, 5H, H8 e NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 2,74-2,78 (m, 1H, NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 2,91-2,98 (m, 2H, NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 3,80 (s, 3H, ArOCH₃); 3,89 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 4,32-4,36 (m, 1H, NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 6,75 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,80 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,26 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 27,3 (CH₂, C3); 27,5 (CH₂, C2); 29,3-29,4(CH₂, C4-C6); 31,2 (CH₂, C7); 33,5 (NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 34,4 (CH₂, C8); 52,3 (CO₂CH₃); 52,8 (NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 56,0 (ArOCH₃); 56,4 (CH₂, C1); 62,6 (NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 70,6 (NCH₂CH₂CH(OH)CH₂); 108,6 (Ar-3'-CH); 121,6 (Ar-4'-CH); 123,6 (Ar-2'-CH); 130,4 (Ar-5'-CH); 141,4 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-1'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-(8-(2-(Hidróximetil)piperidin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (39, LDT429)



Líquido Amarelo

Rendimento (79%)

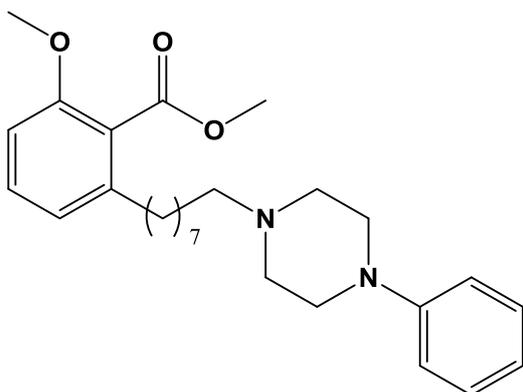
R_f = 0,27 (CHCl₃:EtOH 5%)

Fórmula Molecular: C₂₃H₃₇NO₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 3415 (ν_{OH}); 2931 ($\nu_{\text{as H2}}$); 2856 (ν_{sCH2}); 1735 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1590 e 1472 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1188 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,29 (s, 8H, CH_2 , H3-H6); 1,52-1,72 (m, 10H, CH_2 , H2, H7, NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 2,35-2,85 (m, 6H, CH_2 , H1, H8 e NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 3,30 (s, 2H, CH_2 , NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 3,51-5,56 (m, 1H, NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH) 3,81 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,75 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,26 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 23,2 (NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 23,7 (NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 26,0 (CH_2 , C6); 26,9 (NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 27,4 (CH_2 , C7); 29,4-29,5 (CH_2 , C3 e C5); 31,2 (CH_2 , C8); 31,2 (CH_2 , C2); 50,9 (CH_2 , C1); 52,3 (CO₂CH₃); 53,0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 56,0 (ArOCH₃); 61,4 (NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 62,0 (NCH₂CH₂CH₂CH₂CHCH₂OH); 108,6 (Ar-3'-CH); 121,7 (Ar-1'-C); 123,7 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,4 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-Metóxi-6-(2-(4-fenilpiperazin-1-il)octil)benzoato de metila (**40**, LDT432)

Líquido Amarelo

Rendimento (53%)

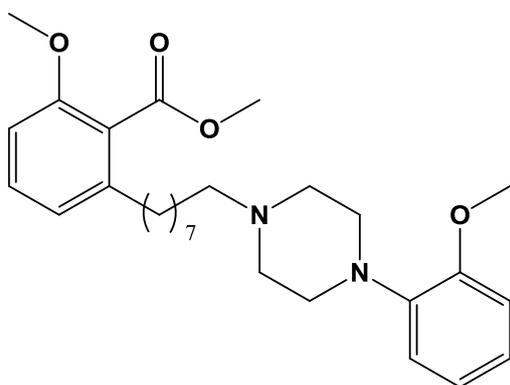
Rf = 0,25 (CHCl₃:EtOH)Fórmula molecular: C₂₇H₃₈N₂O₃

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2931 (ν_{asCH_2}); 2854 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1600, 1498 e 1472 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,31 (m, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,57 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 2,43 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H1); 2,54 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,65-2,68 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,24-3,27 (m, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,81 (s, 3H, ArOCH_3); 3,91 (s, 3H, ArCO_2CH_3); 6,75-6,81 (m, 1H, Ar-H3') 6,72-6,77 (m, 2H, Ar-H5' e H4''); 6,92-6,95 (m, 2H, Ar'-H2'' e H6''); 7,24-7,29 (m, 3H, Ar-H4' e Ar'-H3'' e H5'').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,7 ($\underline{\text{CH}_2}$, C6); 27,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C7); 29,5-29,5 ($\underline{\text{CH}_2}$, C3-C5), 31,2 ($\underline{\text{CH}_2}$, C2); 33,6 ($\underline{\text{CH}_2}$, C1); 49,0 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 52,3 ($\text{CO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 53,3 ($\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 56,0 ($\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 58,8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C8); 108,5 (Ar-3'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 116,3 (Ar'-2'' e 6''- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 119,9 (Ar'-4''- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}$); 129,2 (Ar'-3''- $\underline{\text{C}}\text{H}$ e 5''- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 130,4 (Ar-4'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 141,4 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 151,3 (Ar'-1''- $\underline{\text{C}}\text{N}$); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{C}}\text{O}$); 169,1 (Ar- $\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{CH}_3$).

2-Metóxi-6-(2-(4-(2-metóxi-fenil)piperazin-1-il)octil)benzoato de metila (41, LDT433)



Líquido amarelo

Rendimento (89%)

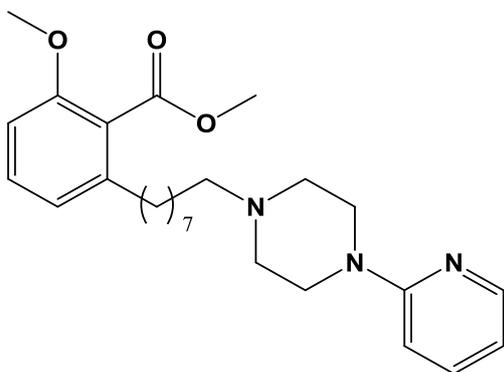
R_f = 0,25 (CHCl₃:EtOH)

Fórmula Molecular: C₂₈H₃₆N₂O₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2931 (ν_{asCH_2}); 2854 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586, 1522, 1500 e 1471 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1181 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1114 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,30 (m, 8H, $\underline{\text{CH}_2}$, H3-H6); 1,52-1,57 (m, 4H, $\underline{\text{CH}_2}$, H2 e H7); 2,39 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H1); 2,54 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, $\underline{\text{CH}_2}$, H8); 2,65 (m, 4H, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ N); 3,11 (m, 4H, NCH₂ $\underline{\text{CH}_2}$ N); 3,81 (s, 3H, Ar'OCH₃); 3,86 (s, 3H, ArCOOCH₃); 3,91 (s, 3H, ArOCH₃); 6,75 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar'-H6''); 6,86-6,81 (m, 2H, Ar'-H3'' e H5''); 7,17-7,22 (m, 3H, Ar-H3', Ar-H5' e Ar'-H4''); 7,26 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 27,0 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C6); 27,8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C5); 29,5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C4); 29,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C3); 29,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C7); 31,3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C2); 33,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C1); 50,8 (NCH₂ $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ N); 52,3 (CO₂ $\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 53,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C8); 55,5 (Ar'OCH₃); 56,0 (ArOCH₃); 59,1 (NCH₂ $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ N); 108,5 (Ar-3'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 111,2 (Ar'-3''- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 118,3 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}\text{COOCH}_3$); 121,1 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 121,6 (Ar-1'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 121,6 (Ar'-3''- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 123,0 (Ar-5'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 123,6 (Ar'-4''- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 130,4 (Ar-4'- $\underline{\text{C}}\text{H}$); 141,4 (Ar-6'- $\underline{\text{C}}$); 141,5 (Ar'-1''- $\underline{\text{C}}\text{N}$); 152,4 (Ar'-2''- $\underline{\text{C}}\text{O}$); 156,4 (Ar-2'- $\underline{\text{C}}\text{O}$); 169,1 (Ar- $\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{CH}_3$).

2-Metóxi-6-(2-(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)octil)benzoato de metila (**42**, LDT434)

Líquido Amarelo

Rendimento (88%)

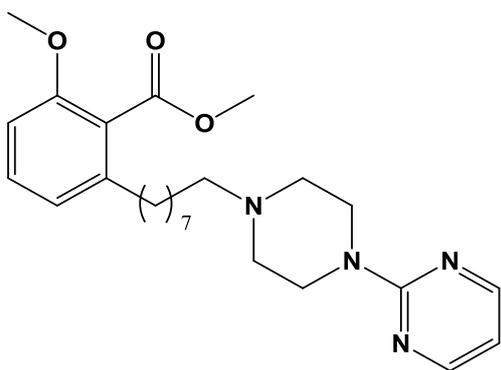
R_f = 0,47 (CHCl₃:EtOH 5%)Fórmula Molecular: C₂₆H₃₇N₃O₃

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2929 (ν_{asCH_2}); 2854 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1593, 1472 e 1436 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,30 (m, 8H, CH₂, H3-H6); 1,59-1,57 (m, 4H, CH₂, H2 e H7); 2,45-2,56 (m, 4H, CH₂, H1 e H8); 2,68 (m, 4H, CH₂, NCH₂CH₂N); 3,65 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,81 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,61-6,66 (m, 2H, Ar'-H4'' e H6''); 6,75 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,24-7,29 (m, 1H, Ar-H4'); 7,45-7,51 (m, 1H, Ar'-H5''); 8,17-8,20 (m, 1H, Ar'-H3'').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,3 (CH₂, C6); 27,6 (CH₂, C7); 29,4-29,5 (CH₂, C3-C5); 31,2 (CH₂, C2); 33,6 (CH₂, C1); 44,8 (NCH₂CH₂N); 52,3 (CO₂CH₃); 52,9 (NCH₂CH₂N); 56,0 (ArOCH₃); 58,8 (CH₂, C8); 107,3 (Ar-4''-CH); 108,6 (Ar-3'-CH); 113,7 (Ar'-6''-CH); 121,6 (Ar-1'-C); 130,4 (Ar-4'-CH); 137,7 (Ar'-5''-CH); 141,4 (Ar-6'-C); 148,2 (Ar'-3''-CH); 156,4 (Ar-2'-CO); 159,4 (Ar'-1''-CN); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-Metóxi-6-(2-(4-(pirimidin-2-il)piperazin-1-il)octil)benzoato de metila (**43**, LDT435)



Líquido Amarelo

Rendimento (65%)

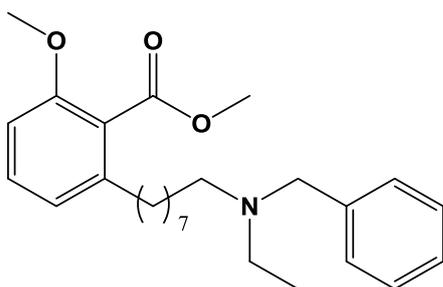
R_f = 0,23 (CHCl₃:EtOH 5%)

Fórmula Molecular: C₂₅H₃₆N₄O₃

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2930 (ν_{asCH_2}); 2855 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586 e 1475 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1263 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,25-1,29 (m, 8H, CH_2 , H3-H6); 1,56-1,59 (m, 4H, CH_2 , H2 e H7); 2,43-2,55 (m, 4H, CH_2 , H1 e H8); 2,61 (m, 4H, CH_2 , NCH₂CH₂N); 3,80 (s, 3H, ArOCH₃); 3,89 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 3,92 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 6,47-6,50 (m, 1H, Ar'-H4''); 6,75 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,80 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,26 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4'); 8,29-8,31 (m, 2H, Ar'-H3'' e Ar'-H5'').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 26,3 (CH_2 , C6); 27,5 (CH_2 , C7); 29,4,-29,5 (CH_2 , C3-C5); 31,2 (CH_2 , C2); 33,6 (CH_2 , C1); 43,2 (NCH₂CH₂N); 52,3 (CO₂CH₃); 53,0 (NCH₂CH₂N); 56,0 (ArOCH₃); 58,8 (CH_2 , C8); 108,6 (Ar-3'-CH); 110,2 (NCNCHCHCHN); 121,6 (Ar-1'-C); 123,7 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,4 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 157,9 (NCNCHCHCHN); 161,7 (NCNCHCHCHN); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-(2-(Benzil(etil)amino)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**44**, LDT439)

Líquido amarelo

Rendimento (57%)

R_f = 0,37 (CHCl₃:EtOH 5%)Fórmula Molecular: C₂₆H₃₇NO₃

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2929 (ν_{as} CH₂); 2854 (ν_{s} CH₂); 1734 (ν C=O); 1584 e 1471 (ν C=C); 1268 (ν_{as} C-O-C); 1111 (ν C-O); 1075 (ν_{s} C-O-C).

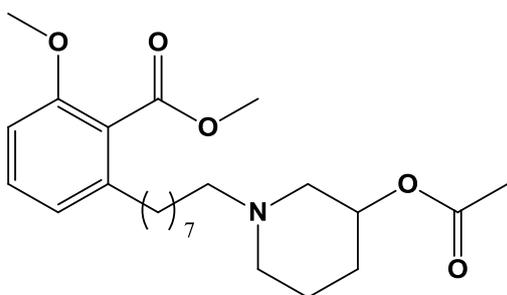
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,01 (t, J = 7,0 Hz, 3H, NCH₂CH₃); 1,23 (s, 8H, CH₂, H3-H6); 1,44-1,55 (m, 4H, CH₂, H2 e H7); 2,40 (t, J = 7,6 Hz, 2H, CH₂, H8); 2,46-2,52 (m, 4H, CH₂, H1 e NCH₂CH₃); 3,55 (s, 2H, NCH₂Ar'); 3,77 (s, 3H, ArOCH₃); 3,86 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,72 (d, J = 8,3 Hz, 1H, Ar-H3'); 6,78 (d, J = 7,6 Hz, 1H, Ar-H5'); 7,19-7,32 (m, 6H, Ar-H4' e Ar'-H2'' - Ar'-H6'').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 11,7 (NCH₂CH₃); 26,9 (CH₂, C6); 27,6 (CH₂, C7); 29,5-29,6 (CH₂, C3-C5); 31,2 (CH₂, C2); 33,6 (CH₂, C1); 47,4 (NCH₂CH₃); 52,2 (CO₂CH₃); 53,2 (CH₂, C8); 56,0 (ArOCH₃); 58,1 (NCH₂Ar'); 108,5 (Ar-3'-CH); 121,6 (Ar-1'-C); 123,6 (Ar-5'-CH); 127,0 (Ar'-4''-CH); 128,3 (Ar'-3''-CH e 5''-CH); 129,1 (Ar'-2''-CH e 6''-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,5 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

5.2.7 Síntese do Composto Acetilado LDT424 (49)

A um balão (25,0 mL) foram adicionados 0,25 g do composto hidroxilado LDT423 (0,662 mmol), trietilamina (2,00 eq) e diclorometano (5,0 mL). Em seguida, sob banho de gelo, foi adicionado cloreto de acetila (1,20 eq). O sistema reacional permaneceu à temperatura ambiente, sob agitação, durante 24 horas. Após este tempo, a mistura foi neutralizada com solução de bicarbonato de sódio 5% (5,0 mL) e posteriormente extraída com diclorometano (2 x 15,0 mL), e as fases orgânicas reunidas lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente à pressão reduzida, o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com diferentes misturas de clorofórmio e etanol, fornecendo os derivados alvo (LDT424).

2-(2-(3-Acetóxipiperidin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**49**, LDT424)



Líquido amarelo

Rendimento (45%)

R_f = 0,5 (CHCl₃:EtOH 5 %)

Fórmula Molecular: C₂₄H₃₇NO₅

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2932 (ν_{asCH_2}); 2857 (ν_{sCH_2}); 1734 e 1738 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1585 e 1470 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1190 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$); 1041 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (m, 8H, CH₂, H3-H6); 1,45-1,54 (m, 2H, H7); 1,57-1,64 (m, 4H, CH₂, H2 e NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 1,75-1,87 (m, 2H, CH₂, NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 2,05 (s, 3H, OCOCH₃); 2,17-2,34 (m, 6H, CH₂, H1 e NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 2,47-2,56 (t, J = 7,8 Hz, 2H, H8); 2,71-2,74 (m, 1H,

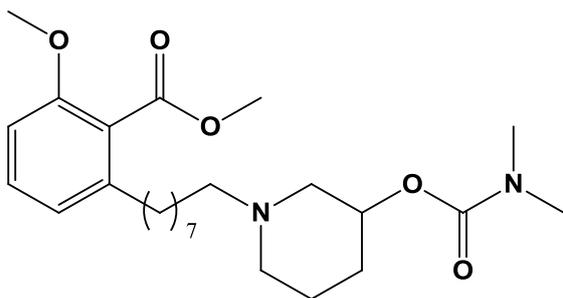
NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 3,82 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (ArCO₂CH₃); 6,76 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H5'); 7,27 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 21,5 (COCOCH₃); 22,8 (NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 26,8 (CH₂, C6); 27,7 (CH₂, C5); 29,5 (CH₂, C4); 29,6 (CH₂, C3); 30,3 (CH₂, C7); 31,3 (NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 33,6 (CH₂, C2); 52,3 (CO₂CH₃); 53,7 (CH₂, C1); 56,0 (ArOCH₃); 58,9 (CH₂, C8); 59,0 (NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 69,9 (NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 76,8 (NCH₂CHCH₂CH₂CH₂); 108,6 (Ar-3'-CH); 121,7 (Ar-1'-C); 123,7 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,5 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃); 170,7 (COCOCH₃).

5.2.8 Síntese do Composto Carbamoilado LDT425 (50)

A um balão (25,0 mL) foram adicionados 0,25 g do composto hidroxilado LDT423 (0,662 mmol), trietilamina (2,00 eq) e diclorometano (5,0 mL). Em seguida, sob banho de gelo, foi adicionado cloreto de dimetilcarbamoíla (1,20 eq). O sistema reacional permaneceu sob agitação à temperatura durante 24 horas. Após este tempo, a mistura foi neutralizada com solução de bicarbonato de sódio 5% (5,0 mL) e posteriormente extraída com diclorometano (2 x 15,0 mL), e as fases orgânicas reunidas lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente à pressão reduzida, o resíduo foi então purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com diferentes misturas de clorofórmio e etanol, fornecendo os derivados alvo LDT425.

2-(2-(3-Dimetilcarbamoiloxi)piperidin-1-il)octil)-6-metóxi benzoato de metila (50, LDT425)



Líquido amarelo

R_f = 0,30 (CHCl₃:EtOH 5%)

Rendimento (56%)

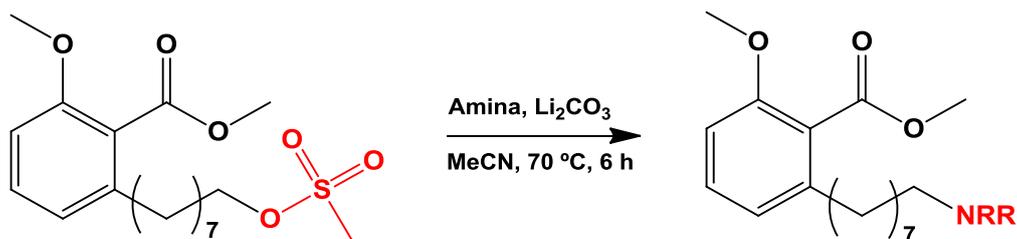
Fórmula Molecular: C₂₄H₃₇N₂O₅

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2932 (ν_{asCH_2}); 2856 (ν_{sCH_2}); 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1585 e 1470 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O}}$); 1188 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1155 ($\nu_{\text{sC-O}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (s, 10H, CH₂, H3-H7); 1,46-1,62 (m, 8H, CH₂, H2 e NCH₂CHCH2CH2CH2); 1,79-1,83 (m, CH₂, H8); 2,26-2,35 (m, 4H, CH₂, H1 e NCH₂CHCH2CH2CH2); 2,47-2,56 (m, 6H, COCON(CH₃)₂); 3,81 (s, 4H, NCH₂CHCH2CH2CH2 e ArOCH₃); 3,91 (ArCO₂CH₃); 6,76 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ar-H5'); 7,27 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, Ar-H4').

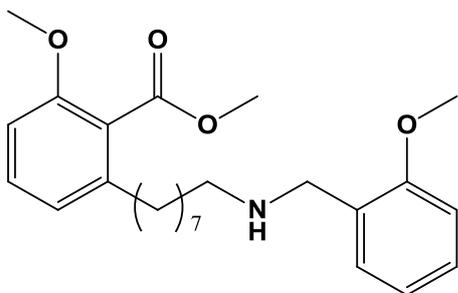
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 21,8 (NCH₂CHCH2CH2CH2) 26,6 (CH₂, C6); 27,6 (CH₂, C5); 29,5 (CH₂, C4); 29,6 (CH₂, C3); 31,2 (CH₂, C7); 32,0 (NCH₂CHCH2CH2CH2); 33,6 (CH₂, C2); 52,3 (CO₂CH₃); 53,9 (CH₂, C1); 56,0 (ArOCH₃); 58,8 (CH₂, C8); 60,5 (NCH₂CHCH2CH2CH2); 66,5 (NCH₂CHCH2CH2CH2); 76,8 (NCH₂CHCH2CH2CH2); 108,6 (Ar-3'-CH); 121,7 (Ar-1'-C); 123,7 (Ar-5'-CH); 130,4 (Ar-4'-CH); 141,5 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃ e COCON(CH₃)₂).

5.2.9 Síntese dos Compostos Amínico Acíclicos LDT436 (45), LDT441 (46), LDT488 (47), LDT532 (48)



A um balão (25,0 mL) foram adicionados a amina correspondente (2,00 eq), 0,044 g de carbonato de lítio (2,00 eq) e acetonitrila anidra (5,0 mL). Em seguida foi adicionado ao sistema reacional 0,20 g do LDT74Ms (0,531 mmol). A reação permaneceu em refluxo e sob agitação magnética por 6 horas. Ao final deste tempo o solvente foi evaporado à pressão reduzida e o resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, eluída com mistura clorofórmio/etanol.

2-Metóxi-6-(2-((2-metóxi-benzil)amino)octil)benzoato de metila (**45**, LDT436)



Líquido amarelo

Rendimento (67%)

R_f = 0,20 (CHCl₃:EtOH)

Fórmula Molecular: C₂₅H₃₅NO₄

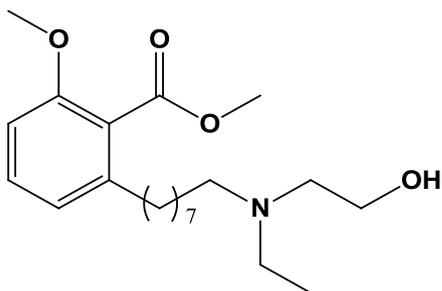
IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2927 (ν_{asCH_2}); 2854 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586 e 1469 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1110 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$); 755 ($\nu_{\text{N-H}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (sl, 8H, CH₂, H3-H6); 1,50-1,56 (m, 4H, CH₂, H2 e H7); 2,53 (t, *J* = 7,7 Hz, 3H, CH₂, H1 e NHCH₂Ar'); 2,59 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, CH₂, H8); 3,81-3,81 (m, 5H, NHCH₂Ar' e Ar'OCH₃); 3,84 (s, 3H, Ar'OCH₃); 3,90

(s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,75 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H5'); 6,86 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, Ar'-H3''); 6,91 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, Ar'-H5''); 7,23-7,28 (m, 3H, Ar-H4', Ar'-H6'' e Ar'-H4'').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 27,4 (CH₂, C6); 29,5 (CH₂, C7); 29,5 (CH₂, C3); 29,6 (CH₂, C4); 29,8 (CH₂, C5); 31,2 (CH₂, C2); 33,6 (CH₂, C1); 49,1 (CH₂, C8); 49,2 (Ar'OCH₃); 52,3 (ArCO₂CH₃); 55,4 (NCH₂Ar'); 56,0 (ArOCH₃); 108,5 (Ar-6'-CH); 110,4 (Ar'-5''-CH e Ar'-3''-CH); 120,6 (Ar-1'-C); 121,6 (Ar'-1''-CH); 123,6 (Ar-5'-CH); 128,5 (Ar'-6''-CH); 130,2 (Ar-4'-CH); 130,4 (Ar'-4''-CH); 141,5 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 157,8 (Ar'-2''-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

2-(2-(Etil(2-hidróxi)etil)amino)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**46**, LDT441)



Líquido amarelo

Rendimento (68%)

R_f = 0,25 (CHCl₃: MeOH)

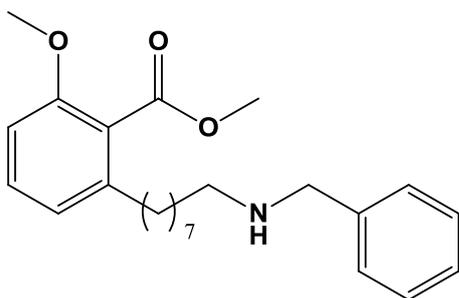
Fórmula Molecular: C₂₁H₃₅NO₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 3422 (ν_{OH}); 2930 (ν_{asCH_2}); 2855 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586 e 1472 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1188 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,06 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, NCH₂CH₃); 1,28 (s, 8H, CH₂, H3-H6); 1,47-1,59 (m, 4H, CH₂, H2 e H7); 2,49- 2,52 (m, CH₂, 4H, H1 e NCH₂CH₃); 2,53-2,66 (m, CH₂, 4H, H8 e NCH₂CH₂OH); 3,23 (s, 1H, NCH₂CH₂OH); 3,58 (t, *J* = 5,4 Hz, 2H, NCH₂CH₂OH); 3,81 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 6,75 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H5'); 7,23-7,29 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, Ar-H4').

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 11,6 (NCH_2CH_3); 26,8 (CH_2 , C7); 27,4 (CH_2 , C6); 29,3-29,5 (CH_2 , C3-C5); 31,2 (CH_2 , C2); 33,6 (CH_2 , C1); 47,6 (NCH_2CH_3); 52,3 (CO_2CH_3); 53,4 (CH_2 , C8); 55,3 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 56,0 (ArOCH_3); 58,2 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 108,5 ($\text{Ar-3}'\text{-CH}$); 121,6 ($\text{Ar-1}'\text{-C}$); 123,6 ($\text{Ar-5}'\text{-CH}$); 130,4 ($\text{Ar-4}'\text{-CH}$); 141,4 ($\text{Ar-6}'\text{-C}$); 156,4 ($\text{Ar-2}'\text{-CO}$); 169,1 ($\text{Ar-CO}_2\text{CH}_3$).

2-(2-(Benzilamino)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**47**, LDT488)



Líquido transparente

Rendimento (57%)

$R_f = 0,4$ (CHCl_3 :EtOH)

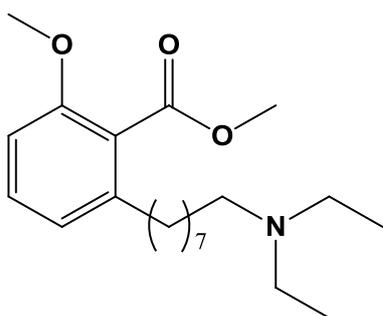
Fórmula Molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{NO}_3$

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2928 (ν_{asCH_2}); 2854 (ν_{sCH_2}); 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1585 e 1470 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{as C-O}}$); 1189 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1111 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1075 ($\nu_{\text{s C-O}}$); 737 ($\nu_{\text{N-H}}$).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1,29 (s, 8H, CH_2 , H3-H6); 1,49-1,59 (m, 4H, CH_2 , H2 e H7); 1,92 (m, 1H, $\text{NHCH}_2\text{Ar}'$); 2,54 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H, CH_2 , H8); 2,63 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2 , H1); 3,80 (s, 2H, $\text{NHCH}_2\text{Ar}'$); 3,82 (s, 3H, ArOCH_3); 3,90 (s, 3H, ArCO_2CH_3); 6,76 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, $\text{Ar-H3}'$); 6,82 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, $\text{Ar-H5}'$); 7,22-7,29 (m, 2H, $\text{Ar}'\text{-H2}''$ e $\text{Ar}'\text{-H6}''$); 7,34-7,32 (m, 4H, $\text{Ar}'\text{-H4}'$, $\text{Ar}'\text{-H3}''$, $\text{Ar}'\text{-H4}''$ e $\text{Ar}'\text{-H5}''$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 27,5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C6); 29,5-29,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C4, C3 e C7); 30,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C5); 31,3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C2); 33,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C1); 49,5 ($\text{NH}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ar}'$); 52,2 ($\text{ArCO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 54,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C8); 56,0 ($\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 108,6 ($\text{Ar-3}'\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$); 121,7 ($\text{Ar-5}'\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$); 123,7 ($\text{Ar-1}'\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$); 127,1 ($\text{Ar}'\text{-4}''\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$); 128,4 ($\text{Ar}'\text{-2}''\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$); 128,6 ($\text{Ar}'\text{-3}''\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$); 130,4 ($\text{Ar-4}'\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$); 140,4 ($\text{Ar}'\text{-1}''\text{-}\underline{\text{C}}$); 141,5 ($\text{Ar-6}'\text{-}\underline{\text{C}}$); 156,5 ($\text{Ar-2}'\text{-}\underline{\text{C}}\text{O}$); 169,1 ($\text{Ar-}\underline{\text{C}}\text{O}_2\text{CH}_3$).

2-(2-(Etil(hidróximetil)amino)octil)-6-metóxi benzoato de metila (**48**, LDT532)



Líquido amarelo

Rendimento (68%)

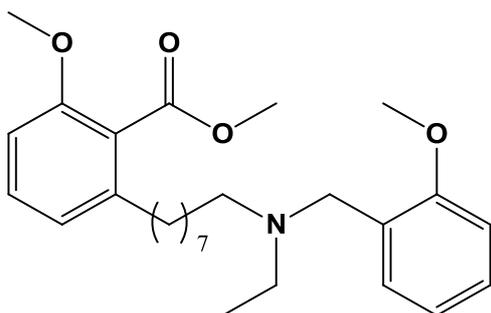
$R_f = 0,25$ (CHCl_3 : MeOH)

Fórmula Molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{NO}_4$

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2933 (ν_{asCH_2}); 2857 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586 e 1472 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1268 ($\nu_{\text{asC-O}}$); 1195 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1074 ($\nu_{\text{sC-O}}$).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1,23-1,28 (m, 14H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2$, H3-H6 e $\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 1,52-1,62 (m, 4H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2$, H2 e H7); 2,51 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, $\underline{\text{C}}\text{H}_2$, H1); 2,76-2,84 (m, $\underline{\text{C}}\text{H}_2$, H8); 2,96 (q, $J = 7,3$ Hz, 4H, $\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 3,79 (s, 3H, $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 3,88 (s, 3H, $\text{ArCO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 6,74 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, $\text{Ar-H3}'$); 6,79 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, $\text{Ar-H5}'$); 7,22-7,28 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, $\text{Ar-H4}'$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 9,5 ($\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 24,2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C7); 27,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C6); 29,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C3); 29,3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C4); 29,3 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C5); 31,1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C2); 39,5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C1); 46,8 ($\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 51,8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2$, C8); 52,2 ($\text{CO}_2\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 56,0 ($\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 108,6 ($\text{Ar-3}'\text{-}\underline{\text{C}}\text{H}$);



Líquido amarelo

Rendimento (98%)

R_f = 0,30 (CHCl₃:EtOH)

Fórmula Molecular: C₂₇H₃₉NO₄

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2930 (ν_{asCH_2}); 2856 (ν_{sCH_2}); 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1586, 1497, 1468 e 1438 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1266 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$); 1184 ($\nu_{\text{C-N}}$); 1112 ($\nu_{\text{C-O}}$); 1073 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,28 (sl, 8H, CH₂, H3-H6); 1,47 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, NCH₂CH₃); 1,54-1,56 (m, 2H, CH₂, H7); 2,67 (s, 2H, CH₂, H2); 2,53 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, CH₂, H1); 2,92-3,28 (m, 4H, CH₂, H8 e NCH₂CH₃); 3,81 (s, 3H, ArOCH₃); 3,90 (s, 3H, Ar'OCH₃); 3,92 (s, 3H, ArCO₂CH₃); 4,28 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H, NCH₂Ar'); 6,76 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ar-H3'); 6,81 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, Ar-H5'); 6,96 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, Ar'-H3''); 7,03 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, Ar'-H5''); 7,25-7,29 (m, 1H, Ar-H4'); 7,41-7,44 (m, 1H, Ar'-H6''); 7,61-7,63 (m, 1H, Ar'-H4'').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 9,2 (NCH₂CH₃); 23,5 (CH₂, C6); 26,9 (CH₂, C7); 29,0 (CH₂, C3); 29,2 (CH₂, C4); 29,3 (CH₂, C5); 31,1 (CH₂, C2); 33,5 (CH₂, C1); 48,0 (NCH₂CH₃); 50,9 (CH₂, C8); 52,2 (ArCO₂CH₃); 52,3 (Ar'OCH₃); 56,1 (ArOCH₃); 56,1 (NCH₂Ar'); 108,6 (Ar-6'-CH); 111,2 (Ar'-3''-CH); 116,8 (Ar'-5''-CH); 121,5 (Ar-1'-C); 121,7 (Ar'-1''-CH); 123,6 (Ar-5'-CH); 130,5 (Ar-4'-CH); 132,2 (Ar'-6''-CH); 133,4 (Ar'-4''-CH); 141,3 (Ar-6'-C); 156,4 (Ar-2'-CO); 158,2 (Ar'-2''-CO); 169,1 (Ar-CO₂CH₃).

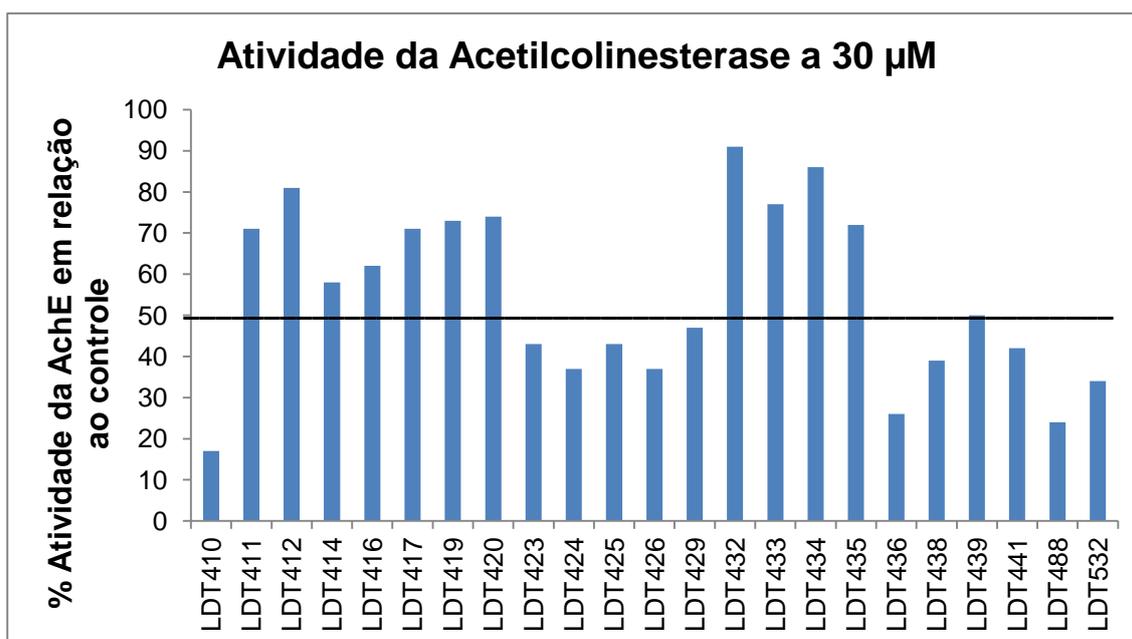
5.3 METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DO PERFIL ANTICOLINESTERÁSICO

A avaliação farmacológica referente à inibição da enzima acetilcolinesterase foi realizada no Instituto de Farmacologia Molecular da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) pelo grupo do Prof. Dr. Newton

G. de Castro utilizando como metodologia o método de Ellman adaptado de acordo com a metodologia desenvolvida por Viegas e colaboradores (2005) [58]. Este método *in vitro* visa a utilização da enzima AChE purificada de *E. electricus* adicionada microplaca em pH 7,4 fornecida pela adição de solução Tampão, seguida pela adição do reagente DTNB (ácido 5:5-ditiobis-2-nitrobenzóico) que reage inespecificamente com grupos tíois da enzima, produzindo cor. Os compostos foram adicionados as placas e após 10 minutos, ocorre a adição do substrato. Se o inibidor for capaz de interagir com o sítio catalítico a hidrólise não ocorrerá, logo a emissão de cor não é observada, avaliando a atividade da enzima.

Para preparação das amostras, os compostos foram solubilizados em metanol, com a ajuda de sonificador por 2 minutos, em concentração final de 0,10 M. As amostras formaram uma solução límpida e sem precipitado em metanol. Após preparação, uma alíquota foi transferida para meio contendo solução fosfato 0,10 M pH 7,4, obtendo solução estoque final de 60 μ M. A avaliação da atividade da enzima foi realizada através de teste espectrofotométrico a 412 nm em concentrações final de 30 μ M a fim de garantir uma completa solubilização das substâncias, sendo os resultados obtidos nos ensaios mais fidedignos (Figura 21).

Figura 21 - Análise *in vitro* da atividade dos compostos frente à inibição da atividade da AChE, purificada de *E. electricus*, em concentração de 30 μ M (média \pm EPM de triplicata).



Para os compostos que apresentaram 50% da atividade inibitória a 60 μM , foi realizada a estimativa da concentração inibitória média (IC_{50}) através da avaliação de seis (6) concentrações realizados em triplicata (Tabela 2). As diluições para as curvas de IC_{50} foram realizadas a partir de concentração de 600 μM da amostra. Algumas amostras (LDT429, LDT436, LDT438 e LDT532) não solubilizaram completamente nesta concentração, resultando na utilização de concentrações menores a 200 μM . Entretanto para os compostos LDT423, LDT424, LDT425, LDT426, LDT441 e LDT488, que apresentaram atividade inibitória maior que 50%, ainda estão sendo realizada a estimativa da concentração inibitória média (IC_{50}). A lista dos compostos avaliados encontra-se na figura 22.

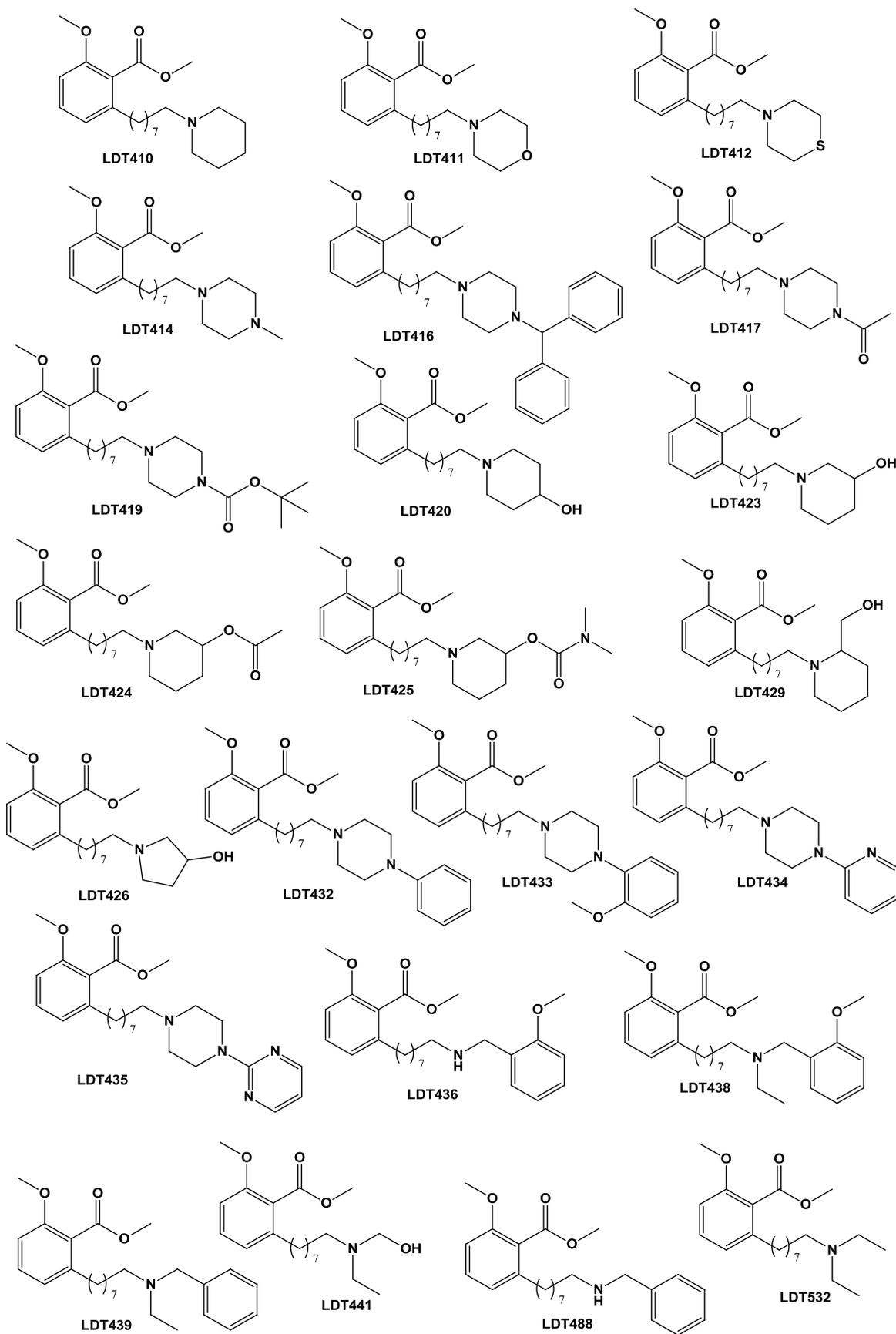
Tabela 2 - Percentual de inibição enzimática e os valores de IC_{50} para os derivados-alvos.

Derivado	% inibitório ACh(30 μM)	IC_{50} (μM)
LDT74	*	*
LDT410	83	8,2
LDT411	29	----
LDT412	19	----
LDT414	42	----
LDT416	38	----
LDT417	29	----
LDT419	27	----
LDT420	26	----
LDT423	57	*
LDT424	63	*
LDT425	57	*
LDT426	63	*
LDT429	53	20,0

LDT432	9	----
LDT433	23	*
LDT434	14	----
LDT435	28	----
LDT436	74	2,1
LDT438	61	4,0
LDT439	50	29,1
LDT441	58	*
LDT488	76	*
LDT532	66	6,1

* Em avaliação

Figura 22 - Lista de compostos avaliadas frente ao perfil anticolinesterásico.



Resultados e Discussão

6 RESULTADO E DISCUSSÃO

6.1 METODOLOGIA SINTÉTICA

6.1.1 Obtenção do Composto 2-(8-Hidróxiocetil)-6-metóxi benzoato de metila (LDT74, 27)

A mistura de ácidos anacárdicos (**23**) foi obtida através do método de precipitação com nitrato de chumbo a partir do LCC natural com rendimento de 70%. A mistura apresentou R_f 0,5 (Hex:AcOEt 50%) compatível com extrações anteriores realizadas no laboratório, não sendo submetida à caracterização por métodos espectrofotométricos.

De posse da mistura de ácidos anacárdicos (**23**) foi iniciado o processo para obtenção do intermediário LDT74 (**27**) a partir da metilação da mistura com iodeto de metila e carbonato de potássio em acetona sob refluxo, com resfriamento em banho circulador à temperatura de -8 °C, por 17 horas. A reação forneceu a mistura dos respectivos 2-metóxi anacardatos de metila (**26**) como óleo amarelo em rendimentos de 70% e R_f 0,8 (Hex: AcOEt 50%). Vale destacar que a reação de metilação mostrou melhor eficácia de conversão quando a mistura de ácidos anacárdicos foi obtida a partir de LCC natural recém-extraído, uma vez que utilizando LCC natural estocado durante um mês, a conversão foi parcial, fornecendo tanto o derivado monometilado e o dimetilado da mistura de ácidos anacárdicos em rendimento de 55%. Esta redução pode estar relacionada à oxidação dos compostos fenólicos. Uma vez que a mistura dos ésteres apresentou as mesmas características de padrões do laboratório, esta não foi caracterizada por métodos espectrofotométricos, sendo utilizada na próxima etapa de obtenção do intermediário LDT74 (**27**).

Desta forma, a mistura contendo os respectivos ésteres anacárdicos foi submetida à reação de ozonólise por meio de fluxo contínuo de ozônio/oxigênio

(5 g/mL) em banho de gelo seco em acetona, capaz de resfriar o sistema reacional a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, utilizando mistura diclorometano/metanol (1:1) por dois ciclos de quarenta minutos cada. Após constatação do consumo do material de partida por ccd, a mistura foi submetida à redução com boroidreto de sódio, sob banho de gelo/água, por 12 horas. O derivado LDT74 (**27**) foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, eluída com mistura de hexano e acetado de etila, apresentando rendimento de 55%. O derivado 2-(8-hidróxiocil)-6-metóxi-benzoato de metila (LDT74, **27**), foi caracterizado por sinais em espectro de ressonância magnética nuclear, destacando-se a presença de dois doublets em 3,90 ppm e 3,80 ppm RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , Anexo 2, Pág. 3) referentes aos hidrogênios das metila presentes nos grupos éster e metoxila, confirmados pelo respectivos assinalamentos em 52,3 ppm e 56,0 ppm em RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , Anexo 3, Pág. 4). Adicionalmente, **27** foi caracterizado pela presença de tripleto em 3,61 ppm em RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , Anexo 2, Pág. 3), referente ao grupo metileno (C8) ligado à hidroxila, confirmado em 63,1 ppm em RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , Anexo 3, Pág. 4). Os espectros ainda forneceram os sinais em 6,75 ppm (d, $J = 8,2\text{ Hz}$, 1H, Ar-H3'), 6,81 (d, $J = 7,6\text{ Hz}$, 1H, Ar-H5') e 7,26 (t, $J = 8,0\text{ Hz}$, 1H, Ar-H4') referentes aos hidrogênios no anel aromático, os quais demonstram que não houve oxidação nesta subunidade. O espectro no infravermelho permitiu ainda caracterizar o derivado LDT74 (Tabela 3) pelas absorções em 3398 cm^{-1} , referente ao estiramento da grupo OH, bem como em 1734 cm^{-1} concernente à carbonila de éster (Anexo 1, Pág. 2).

6.1.2 Obtenção do Intermediário 2-Metóxi-6-(8-(metilsulfonyl)octil)benzoato de metila (28, LDT74Ms)

Para obtenção do intermediário chave LDT74Ms (**28**), o derivado LDT74 foi submetido à reação de mesilação visando à conversão do grupo hidroxila ao metanossulfoniléster em meio reacional contendo TEA e cloreto de mesila, em

diclorometano, com evolução da temperatura de 0 °C à ambiente, sob proteção da luz, durante 16 horas (*overnight*).

LDT74Ms (**28**) foi então caracterizado por análises espectrofotométricas evidenciando-se deslocamento químico correspondente à metila do grupo mesilato como simpleto em 3,00 ppm no espectro de RMN ¹H (Anexo 5, Pág. 6) confirmado em 37,5 ppm em RMN ¹³C (Anexo 6, Pág. 7). O grupo mesilato ainda foi caracterizado por absorções em 1353 cm⁻¹ e 1175 cm⁻¹ no espectro na região do infravermelho referente aos respectivos estiramentos assimétrico e simétrico do grupo SO₂, além da presença da absorção em 749 cm⁻¹ relacionada ao estiramento da ligação entre C-S (Anexo 4, Pág. 5). A Tabela 3 apresenta as principais características e sinais referentes à obtenção dos derivados LDT74 (**27**) e LDT74Ms (**28**).

Tabela 3 - Principais características e sinais espectroscópicos característicos em espectro RMN e no infravermelho.

Composto	Rend. (%)	Rf (DCM)	RMN ¹ H (δ,ppm) 500 MHz; CDCl ₃ Ar(CH ₂) ₇ CH ₂ OR	RMN ¹³ C (δ,ppm) 125 MHz; CDCl ₃ Ar(CH ₂) ₇ CH ₂ OR	I.V. (cm ⁻¹) ν _{OH} /ν _{SO₂} *
LDT74 (27)	55	0,2	3,61 (R=H)	63,1 (R=H)	3398
LDT74Ms (28)	85	0,6	3,00 (R=Ms)	37,5 (R=Ms)	1353 [†]

6.1.3 Metodologia Geral de Obtenção dos Compostos-alvo

De posse do intermediário-chave LDT74Ms (**28**), este foi submetido a reações de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) com diferentes aminas na presença de trietilamina, em acetonitrila anidra, para obtenção dos compostos-alvo. As reações procederam utilizando aquecimento sob radiação micro-ondas em forno convencional a 70% de potência (672 W) durante 5 a 7 ciclos de 1 minuto (5 - 7 x 1,0'), cujos rendimentos variaram de 53% a 89%. O resumo dos dados e características estão sumarizados na Tabela 4.

Tabela 4 - Compostos amínicos: Características químicas, fator de retenção e rendimentos.

Composto	W	Fórmula Molecular	MM (g ^{mol} ⁻¹)	R (%)	R _f *
LDT410 (29)	Piperidina	C ₂₂ H ₃₅ NO ₃	361,52	59	0,42
LDT411(30)	Morfolina	C ₂₁ H ₃₃ NO ₄	363,49	64	0,65
LDT412 (31)	Tiomorfolina	C ₂₁ H ₃₃ NO ₃ S	379,56	76	0,35
LDT414 (32)	<i>N</i> -Metilpiperazina	C ₂₂ H ₃₆ N ₂ O ₃	376,53	53	0,45
LDT416 (33)	<i>N</i> -Fenilbenzilpiperazina	C ₃₄ H ₄₄ N ₂ O ₃	528,72	97	0,40
LDT417 (34)	<i>N</i> -Acetilpiperazina	C ₂₃ H ₃₆ N ₂ O ₄	404,54	72	0,27
LDT419 (35)	<i>N</i> -Boc-piperazina	C ₂₆ H ₄₂ N ₂ O ₅	462,62	67	0,75
LDT420 (36)	4-Hidróxipiperidina	C ₂₂ H ₃₅ NO ₄	377,52	55	0,35
LDT423 (37)	3-Hidróxipiperidina	C ₂₂ H ₃₅ NO ₄	377,52	65	0,20
LDT429 (39)	2-Piperidinometanol	C ₂₃ H ₃₇ NO ₄	391,54	79	0,27
LDT432 (40)	<i>N</i> -Fenilpiperazina	C ₂₇ H ₃₈ N ₂ O ₃	438,60	53	0,25
LDT433 (41)	2-Metóxfenilpiperazina	C ₂₈ H ₄₀ N ₂ O ₄	468,63	89	0,25
LDT434 (42)	1(2-piridil)piperazina	C ₂₆ H ₃₇ N ₃ O ₃	439,59	88	0,47
LDT435 (43)	Pirimidil-piperazina	C ₂₅ H ₃₆ N ₄ O ₃	440,58	65	0,23
LDT426 (38)	Pirrolidinol	C ₂₁ H ₃₃ NO ₄	347,49	58	0,25
LDT439 (44)	<i>N</i> -Etilbenzilamina	C ₂₆ H ₃₇ NO ₃	411,58	57	0,33

*CHCl₃:EtOH 5%

As reações S_N2 para as aminas de cadeia aberta (alifáticas), não lograram sucesso utilizando o protocolo sob radiação micro-ondas, havendo conversão parcial do mesilato **28**. Este resultado sugeriu que mesmo com o alinhamento dos dipolos gerado pela assistência da radiação micro-onda, a energia térmica alcançada nos parâmetros do experimento não foram suficientes para que a reação de substituição ocorresse, e apontou para o uso de aquecimento convencional em banho de óleo. Desta forma, a reação foi realizada sob refluxo em aquecimento convencional em banho de óleo (90 °C) por 6 horas, entretanto a reação apresentou baixo rendimento. Neste caso, foi racionalizado que a TEA estaria também em refluxo, em face de seu ponto de

ebulição (~ 70 °C) ser próximo ao do solvente, impedindo que participasse da etapa de abstração do próton da amina nucleofílica. Sob esta perspectiva, a reação foi realizada sob as mesmas condições, substituindo a TEA por carbonato de lítio (Li₂CO₃), o que permitiu a obtenção dos derivados-alvo. Finalizando esta etapa sintética, o derivado LDT438 (**51**) foi obtido em rendimento de 98% a partir da reação de *N*-etilação de LDT436 (**45**) realizada na presença de iodeto de etila e trietilamina, em acetonitrila à temperatura ambiente, sob agitação por 10 horas. O resumo dos dados e características estão sumarizados na Tabela 5.

Tabela 5 - Compostos amínicos acíclicos: Características químicas, fator de retenção e rendimentos.

Composto	W	Fórmula Molecular	MM (g mol ⁻¹)	R (%)	R _f *
LDT436 (45)	2-Metóxi-benzilamina	C ₂₅ H ₃₅ NO ₄	413,55	67	0,20
LDT438 (51)	<i>N</i> -Etil- <i>N</i> -2-metóxi-benzilamina	C ₂₇ H ₃₉ NO ₄	441,60	98	0,30
LDT441 (46)	<i>N</i> -Etil-etanolamina	C ₂₁ H ₃₅ NO ₄	365,51	68	0,25
LDT488 (47)	Benzilamina	C ₂₄ H ₃₃ NO ₃	383,52	57	0,40
LDT532 (48)	Dietilamina	C ₂₁ H ₃₅ NO ₃	349,51	95	0,14

*CHCl₃:EtOH 5%

Considerando a obtenção de derivados acetilados e carbamoilados, o derivado LDT423 (**37**) foi submetido a ambas reações na presença dos respectivos cloretos de acetila ou dimetilcarbamoila adicionados sob banho de gelo em diclorometano anidro à temperatura ambiente por 24 horas. Estas reações forneceram, os derivados-alvo acetilado LDT424 (**49**) e carbamoilado LDT425 (**50**) em rendimentos que variaram de 45% e 56%, respectivamente. As características das moléculas-alvo estão descritas abaixo na Tabela 6.

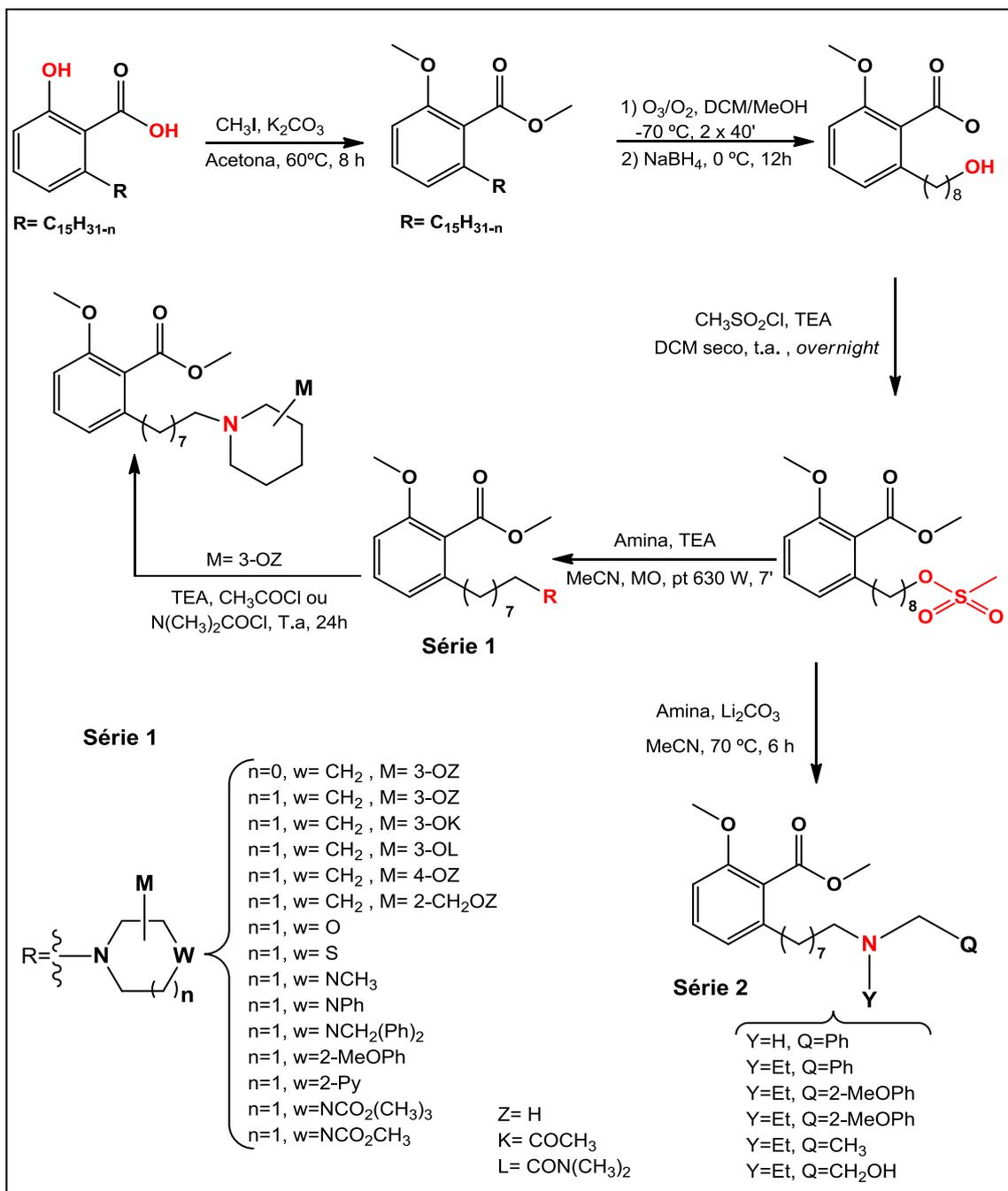
Tabela 6 - Característica dos compostos LDT424 e LDT425.

Composto	W	Fórmula Molecular	Massa (g mol ⁻¹)	R (%)	R _f (CHCl ₃ :EtOH 5%)
LDT424 (49)	Acetato de piperdin-3-ila	C ₂₂ H ₃₅ NO ₃	361,262	45	0,50
LDT425 (50)	<i>N,N</i> -Dimetilcarbamato de piperdin-3-ila	C ₂₃ H ₃₈ N ₂ O ₃	390,288	56	0,30

A metodologia geral empregada na obtenção dos compostos amínicos está ilustrada no Esquema 2.

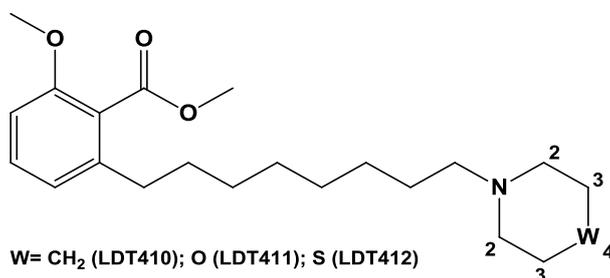
Esquema 2 - Condições reacionais e metodologia utilizada na obtenção dos derivados da série

1 e 2



6.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DOS COMPOSTOS-ALVO

6.2.1 Compostos bioisósteros cíclicos

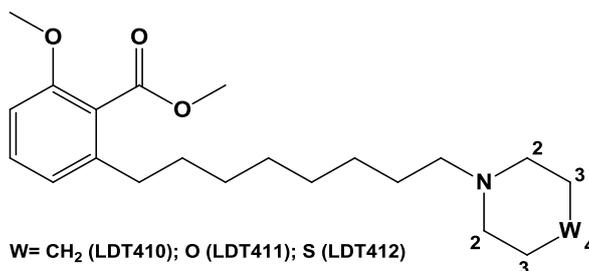


Os compostos bioisósteros clássicos do anel piperidina LDT410 (**29**), LDT411 (**30**) e LDT412 (**31**), além dos sinais referentes à subunidade aromática e da cadeia lateral, foram caracterizados pela presença de sinal característico do grupo metileno (C8) da cadeia alifática diretamente ligado ao nitrogênio, confirmando a reação S_N2 . Assim sendo, foram observados para este grupo tripletos na faixa de 2,34-2,37 ppm em RMN ¹H [Anexo 8 (Pág. 9), 11 (Pág. 12) e 14 (Pág. 15)] e deslocamentos na faixa de 59,2-59,5 ppm em RMN ¹³C [Anexo 9 (Pág. 10), 12 (Pág. 13) e 15 (Pág. 16)]. Esses compostos também foram caracterizados pela aparecimento dos sinais referentes aos grupos metilenos do anel piperidínico em C3, de acordo com a influência dos grupos isósteros substituídos na posição 4 do anel, levando ao aparecimento de sinais em campo baixo ou alto.

Desta forma, o derivado LDT410 (**29**) apresentou multipletos na faixa de 1,46-1,56 em RMN ¹H (Anexo 8, Pág. 9) e deslocamento em 25,5 ppm em RMN ¹³C (Anexo 9, Pág. 10). Nos espectros para derivado LDT411 (**30**) foram assinalados o tripleto em 3,73 ppm em RMN ¹H (Anexo 11, Pág. 12) e sinal em 66,9 ppm em RMN ¹³C (Anexo 12, Pág. 13), devido à influência do átomo de oxigênio na posição 4. Por sua vez, o derivado LDT412 (**31**) apresentou multipletos na faixa de 2,69-2,75 ppm no espectro de hidrogênio (Anexo 14, Pág. 15) e deslocamento em 27,9 ppm em RMN ¹³C (Anexo 15, Pág. 16). Para o LDT 410 (**29**), que possui um metileno na posição 4 do anel, apresentou multipletos adicionais na faixa de 1,46-1,56 RMN ¹H (Anexo 8, Pág. 9) e

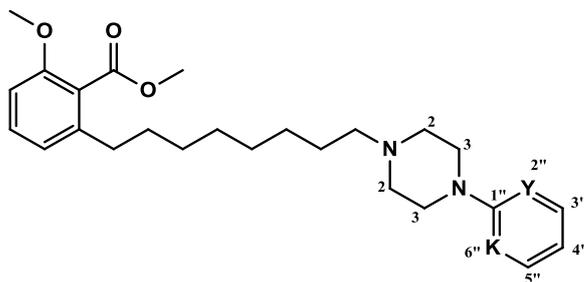
deslocamento químico em 24,2 ppm no espectro de carbono-13 (Anexo 9, Pág. 10). Os dados das análises estão sumarizados na Tabela 7.

Tabela 7 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C - (δ , ppm) para os compostos LDT410, LDT411 e LDT412.

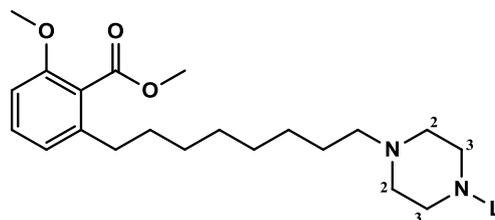


Átomo	RMN ^1H (δ , ppm, 500 MHz) RMN ^{13}C (δ , ppm, 125 MHz), CDCl ₃		
	LDT410 (29)	LDT411 (30)	LDT412 (31)
C2	2,52	2,46-2,48	2,69-2,75
	54,5	53,8	54,1
C3	1,46-1,56	3,73	2,69-2,75
	25,5	66,9	27,9
C4	1,46-1,56	---	----
	24,2		
Ar(CH ₂) <u>7</u> CH ₂ N	2,37	2,34	2,37
	59,4	59,2	59,5

6.2.2 Compostos piperazínicos e arilpiperazínicos



Y= CH e K=CH (LDT432); Y= COCH₃ e K=CH (LDT433);
Y= N e K=CH (LDT434); Y= N e K=N (LDT435)

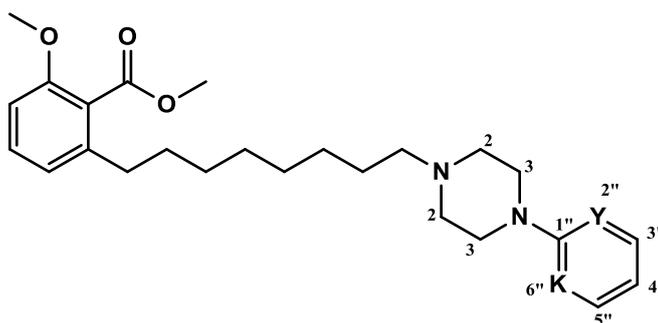


L= CH₃ (LDT414); CHPh₂ (LDT416);
COCH₃ (LDT417); COOC(CH₃)₃ (LDT419)

De uma maneira geral, os compostos LDT414 (**32**), LDT416 (**33**), LDT417 (**34**), LDT419 (**35**), LDT432 (**40**), LDT433 (**41**) LDT434 (**42**) e LDT435 (**43**) apresentaram sinais característicos como tripletos ou multipletos na região entre 2,33-2,59 ppm em RMN ¹H [Anexo 17 (Pág. 18), 20 (Pág. 21), 23 (Pág. 24), 26 (Pág. 27), 41 (Pág. 42), 44 (Pág. 45), 47 (Pág. 48), 50 (Pág. 51)] bem como sinais entre 58,7-58,9 ppm em RMN ¹³C [Anexo 18 (Pág. 19), 21 (Pág. 22), 24 (Pág. 25), 27 (Pág. 28), 42 (Pág. 43), 45 (Pág. 46), 48 (Pág. 49), 51 (Pág. 52)] evidenciados como o grupo metileno (C8) diretamente ligado ao anel nitrogênio (N1) do núcleo piperazínico, confirmando a substituição do grupo mesilato pelo amina. Nos mesmos espectros ainda foram identificados multipletos na faixa de 2,48-2,68 ppm em RMN ¹H [Anexo 17 (Pág. 18), 20 (Pág. 21), 23 (Pág. 24), 26 (Pág. 27), 41 (Pág. 42), 44 (Pág. 45), 47 (Pág. 48), 50 (Pág. 51)], assim como deslocamentos químicos na faixa de 43,2-53,1 ppm em RMN ¹³C [Anexo 18 (Pág. 19), 21 (Pág. 22), 24 (Pág. 25), 27 (Pág. 28), 42 (Pág. 43), 45 (Pág. 46), 48 (Pág. 49), 51 (Pág. 52)] referente ao grupo metileno C2 da subunidade piperazina. Para o grupo metileno C3 os deslocamentos químicos variaram de 2,49 a 3,92 ppm em RMN ¹H [Anexo 17 (Pág. 18), 20 (Pág. 21), 23 (Pág. 24), 26 (Pág. 27), 41 (Pág. 42), 44 (Pág. 45), 47 (Pág. 48), 50 (Pág. 51)] e de 52,9 a 55,2 ppm em RMN ¹³C [Anexo 18 (Pág. 19), 21 (Pág. 22), 24 (Pág. 25), 27 (Pág. 28), 42 (Pág. 43), 45 (Pág. 46), 48 (Pág. 49), 51 (Pág. 52)]. As variações nos valores de deslocamento químico são resultado da influência do padrão de substituição no átomo de nitrogênio (N4) refletindo diferentes ambientes químicos e efeitos eletrônicos.

Para os compostos arilpiperazínicos LDT432 (**40**), LDT433 (**41**) LDT434 (**42**) e LDT435 (**43**) há presença de sinais característicos na região pertencentes aos aromáticos, evidenciados como multipletos na faixa de 6,47-8,31 ppm RMN ^1H [Anexo 41 (Pág. 42), 44 (Pág. 45), 47 (Pág. 48), 50 (Pág. 51)], corroborados pelos deslocamentos químicos na faixa de 107,3-161,7 em RMN ^{13}C [Anexo 42 (Pág. 43), 45 (Pág. 46), 48 (Pág. 49), 51 (Pág. 52)]. Considerando o derivado 433 (**41**), este foi ainda identificado pelo sinal do grupo metoxila ligado ao anel na posição 2'' como a presença de simpleto em 3,81 ppm em RMN ^1H (Anexo 44, Pág. 45) e deslocamento químicos em 55,5 ppm em RMN ^{13}C (Anexo 45, Pág. 46). Os dados das análises estão sumarizados na Tabela 8.

Tabela 8 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C (δ , ppm) para os compostos LDT432, LDT433, LDT434 e LDT435



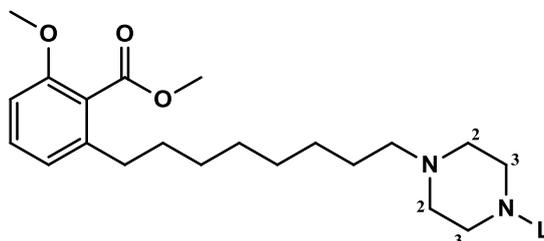
Y= CH e K=CH (LDT432); Y= COCH₃ e K=CH (LDT433);
Y= N e K=CH (LDT434); Y= N e K=N (LDT435)

Átomo	RMN ^1H (δ , ppm, 500 MHz)			
	RMN ^{13}C (δ , ppm, 125 MHz), CDCl ₃			
	LDT432 (40)	LDT433 (41)	LDT434 (42)	LDT435 (43)
C2	2,65-2,68	2,66	2,68	2,61
	49,0	50,8	44,8	43,2
C3	3,24-3,27	3,11	3,65	3,92
	53,3	53,6	52,9	53,0
Ar(CH ₂) ₇ CH ₂ N	2,54	2,54	2,45-2,56	2,43-2,55
	58,8	59,1	58,8	58,8
1''	----	----	----	----
	151,3	141,5	159,4	157,9

2"	6,92-6,95 116,3	---- / 152,4	----	----
3"	7,24-7,29 129,2	6,86-6,81 121,6	8,17-8,20 148,2	8,29-8,31 110,2
4"	6,72-6,77 119,9	7,17-7,22 123,6	6,61-6,66 107,3	6,47-6,50 161,7
5"	7,24-7,29 129,2	6,86-6,81 111,2	7,45-7,51 137,7	8,29-8,31 110,2
6"	6,92-6,95 116,3	6,75 121,1	6,61-6,66 113,7	----
COCH₃	----	3,81 55,5	----	----

Considerando o espectro para o composto metilpiperazínico LDT414 (**32**), foi evidenciada a presença de simpleto em 2,29 ppm em RMN ¹H (Anexo 17, Pág. 18) e sinal de 46,0 ppm em RMN ¹³C (Anexo 18, Pág. 19) correspondente ao grupo metila ligado ao nitrogênio N4 do anel piperazínico. Por sua vez, o grupo metilideno da subunidade benzidrina no derivado LDT416 (**33**) foi caracterizado pelo simpleto em 4,24 ppm em RMN ¹H (Anexo 20, Pág. 21) e confirmado pelo sinal de 76,3 em RMN ¹³C (Anexo 21, Pág. 22). Os composto LDT417 (**34**) e LDT419 (**35**) foram caracterizados pela presença do carbono carbonílico em 168,1 ppm e 154,8 ppm em RMN ¹³C [Anexo 24 (Pág. 25), 27 (Pág. 28)], respectivamente. Entretanto, as absorções referentes ao estiramento das carbonilas não puderam ser evidenciadas nos espectros no infravermelho em face das moléculas precursoras apresentarem grupamento químico na mesma região, os quais poderiam superpor as referidas absorções esperadas. Os dados das análises estão sumarizados na Tabela 9.

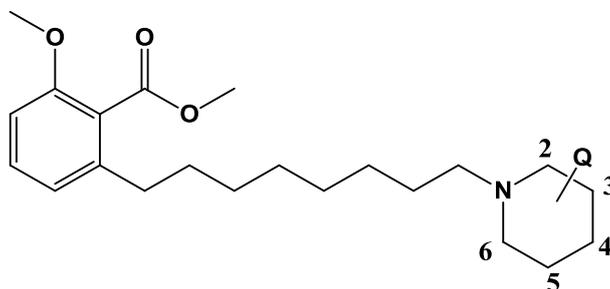
Tabela 9 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C (δ , ppm) para os compostos LDT414, LDT416, LDT417 e LDT419



L = CH_3 (LDT414); CHPh_2 (LDT416);
 COCH_3 (LDT417); $\text{COOC}(\text{CH}_3)_3$ (LDT419)

Átomo	RMN ^{13}C (δ , ppm, 125 MHz), CDCl_3			
	LDT414 (32)	LDT416 (33)	LDT417 (34)	LDT419 (35)
C2	2,49-2,53	2,51-2,56	2,48-3,53	2,43-2,48
	53,1	51,7	41,0	52,1
C3	2,49-2,53	2,51-2,56	3,52-3,53	3,50
	55,0	53,5	55,2	52,1
NCH₃	2,29	----	----	----
	46,0	----	----	----
CO₂C(CH₃)₃	----	----	----	1,48
	----	----	----	28,8
CO₂C(CH₃)₃	----	----	----	----
	----	----	----	79,8
CO₂C(CH₃)₃	----	----	----	----
	----	----	----	154,8
CO₂CH₃	----	----	2,07	----
	----	----	58,6	----
CO₂CH₃	----	----	----	----
	----	----	168,1	----
CHPh₂	----	4,24	----	----
	----	76,3	----	----
Ar(CH₂)₇CH₂N	2,33	2,37	2,40	2,33-2,38
	58,8	58,8	58,9	58,8

6.2.3 Compostos piperidínicos substituídos



Q= 3-OH (LDT420); Q= 4-OH (LDT423); Q=2-CH₂OH (LDT429);
 Q= 4-OCOCH₃ (LDT424); Q= 4-OCOC(CH₃)₃ (LDT425)

Na análise dos espectros de RMN para os compostos piperidínicos LDT420 (**36**), LDT423 (**37**), LDT424 (**49**), LDT425 (**50**), LDT426 (**38**), LDT429 (**39**) [RMN ¹H-Anexo 29 (Pág. 30), 32 (Pág. 33) e 71 (Pág. 72), 74 (Pág. 75), 35 (Pág. 36), 38 (Pág. 39)] e [RMN ¹³C- Anexo 31 (Pág. 31), 33 (Pág. 34) e 72 (Pág. 73), 75 (Pág. 76), 36 (Pág. 37), 39 (Pág. 40)] foi evidenciada a presença de sinais referentes aos metilenos e metilidenos do anel piperidina, bem como do carbono 8 da cadeia hidrofóbica ligado ao anel piperidínico. O deslocamento químico na faixa de 2,26-2,85 ppm em RMN ¹H e relacionado aos sinais em 50,6-50,9 ppm em RMN ¹³C foram assinalados como o grupo metileno ligado ao anel piperidínico. Para os metilidenos do anel piperidínico nas posições C2, C3 ou C4 houveram variação devido à influência dos grupos hidroxilas.

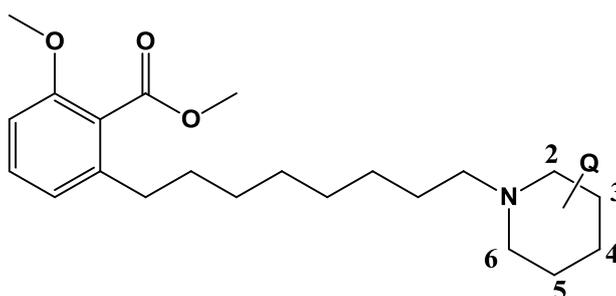
Assim os compostos LDT420 (**36**), LDT423 (**37**), LDT426 (**38**) e LDT429 (**39**) contendo a função álcool foram ainda caracterizados pela presença de sinal referente ao hidrogênio da hidroxila em 3,75-4,36 ppm em RMN ¹H (Tabela 10). Adicionalmente, o estiramento de absorção no infravermelho em 3180 cm⁻¹ (Anexo 28, Pág. 29), 3407 cm⁻¹ (Anexo 31, Pág. 32) 3422 cm⁻¹ (Anexo 34, Pág. 35) e 3415 cm⁻¹ (Anexo 37, Pág. 38) corroboram para a confirmação da presença do grupo hidroxila nestes derivados.

O composto acetilado LDT424 (**49**) teve sua estrutura confirmada pela presença de multipeto na faixa de 2,47-2,56 ppm em RMN ¹H e em 21,5

ppm em RMN ^{13}C , conforme Tabela 9 [Anexo 71 (Pág. 72), 72 (Pág. 73)], assim como o aparecimento de sinal característico no espectro de RMN ^{13}C em 170,7 ppm evidenciando a presença do grupo carbonila, definindo a interconversão do derivado hidroxilado ao acetilado.

Por fim para o composto carbamoilado LDT425 (**50**) [(Anexo 74 (Pág. 75) e 75 (Pág. 76)] foi caracterizado pela presença de multiplete na faixa de 2,47-2,56 ppm em RMN ^1H e em 33,6 ppm em RMN ^{13}C referente ao grupos metila ligado ao átomo de nitrogênio do grupo carbamoila. Além do aparecimento em sinal em 169,1 ppm no espectro de RMN ^{13}C referente ao grupo carbonila corroborando para a caracterização do grupo carbamoila.

Tabela 10 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C - (δ , ppm) para os compostos LDT420, LDT423, LDT429, LDT424 e LDT425.

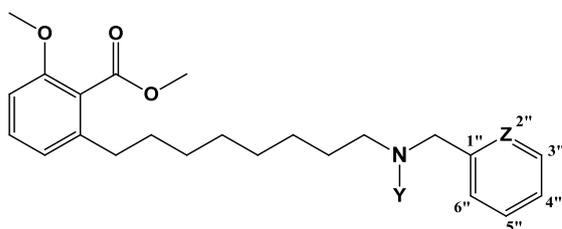


Q= 3-OH (LDT420); Q= 4-OH (LDT423); Q=2-CH₂OH (LDT429);
Q= 4-OCOCH₃ (LDT424); Q= 4-OCOC(CH₃)₃ (LDT425)

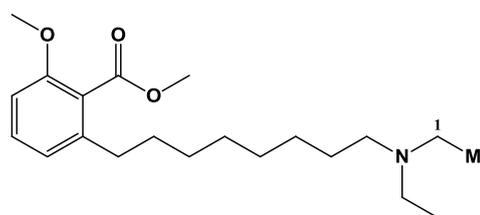
Átomo	RMN ^1H (δ , ppm, 500 MHz)					
	RMN ^{13}C (δ , ppm, 125 MHz), CDCl ₃					
	LDT420 (36)	LDT423 (37)	LDT429 (39)	LDT424 (49)	LDT425 (50)	LDT426 (38)
C2	2,83-2,86 33,8	2,44 53,9	2,35-2,85 53,0	2,17-2,34 69,9	2,26-2,35 66,5	2,91- 2,98 52,8
C3	1,97 31,2	3,84-3,87 66,5	1,52-1,72 26,9	2,71-2,74 76,8	3,81 76,8	2,74- 2,78 70,6
C4	3,75 58,6	2,30 32,1	1,52-1,72 23,2	1,75-1,87 31,3	1,46-1,62 27,6	-----
C5	1,63-1,70	2,30	1,52-1,72	1,57-1,64	1,46-1,62	2,47-

	31,2	21,9	23,7	22,8	21,8	2,59
						33,5
C6	2,37-2,42	2,44	2,35-2,85	2,17-2,34	1,46-1,62	2,47-2,59
	33,8	60,7	61,4	59,0	60,5	62,6
CH₂OH	----	----	3,30 62,0	----	----	----
CH₂OH	----	----	3,51-5,56 ----	----	----	----
OH		3,95 ----		----	----	4,32-4,36 ----
Ar(CH₂)₇CH₂N	2,29 50,7	2,50-2,55 58,8	2,35-2,85 50,9	2,05-2,07 58,9	1,79-1,83 58,8	2,47-2,59 56,4
OCOCH₃	----	----	----	2,05 21,5	----	----
O₂COCH₃	----	----	----	----	----	----
				170,7		
OCN(CH₃)₂	----	----	----	----	2,47-2,56 33,6	----
O₂CN(CH₃)₂	----	----	----	----	----	----
					169,1	

6.2.4 Compostos amínicos alifáticos e benzilamínicos



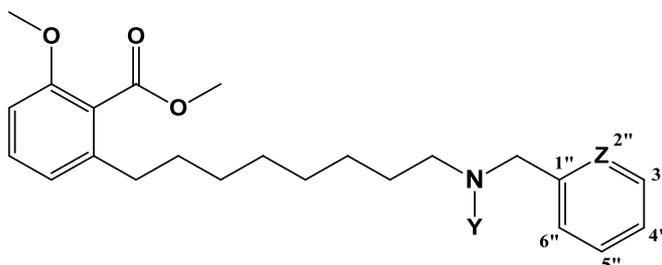
Z=CH, Y=H (LDT488); Z=CH, Y=CH₂CH₃ (LDT439);
Z=COCH₃, Y=H (LDT436); Z=COCH₃, Y=CH₂CH₃ (LDT438).



M=CH₃ (LDT532); M=CH₂OH (LDT441).

Os compostos benzilamínicos LDT436 (**45**), LDT438 (**51**), LDT439 (**44**) e LDT488 (**47**) foram caracterizados pela presença de sinais referentes ao metileno benzílico como simpletos em 3,89 ppm, 4,28 ppm, 3,55 ppm e 3,80 ppm em RMN ^1H [Anexo 56 (Pág. 57), 68 (Pág. 69), 53 (Pág. 54), 62 (Pág. 63)] e sinais no espectro de carbono-13 em 55,4 ppm, 56,1 ppm, 58,1 ppm e 49,5 ppm, respectivamente [Anexo 57 (Pág. 58), 69 (Pág. 70), 54 (Pág. 55), 63 (Pág. 64)]. Outros sinais observados como dupletos ou multipletos entre 6,86 e 7,63 ppm em RMN ^1H [Anexo 56 (Pág. 57), 68 (Pág. 69), 53 (Pág. 54), 62 (Pág. 63)] foram identificados como hidrogênios aromáticos do grupo benzila, corroborados pelos deslocamentos químicos no RMN ^{13}C entre 110,4 e 158,2 ppm [Anexo 57 (Pág. 58), 69 (Pág. 70), 54 (Pág. 55), 63 (Pág. 64)], descrito conforme Tabela 11.

Tabela 11 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C - (δ , ppm) para os compostos LDT436, LDT438, LDT439 e LDT488



Z=CH, Y=H (LDT488); Z=CH, Y=CH₂CH₃ (LDT439);
Z=COCH₃, Y=H (LDT436); Z=COCH₃, Y=CH₂CH₃ (LDT438).

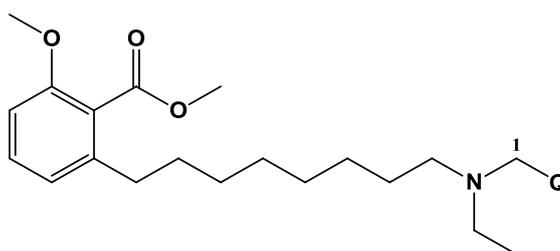
Átomo	RMN ^1H (δ , ppm, 500 MHz)			
	RMN ^{13}C (δ , ppm, 125 MHz), CDCl ₃			
	LDT436 (45)	LDT438 (51)	LDT439 (44)	LDT488 (47)
NCH ₂ Ar''	3,81-3,81 55,4	4,28 56,1	3,55 58,1	3,80 49,5
NCH ₂ CH ₃	----	2,92-3,28 48,0	2,46-2,52 47,4	----
NCH ₂ CH ₃	----	1,47 9,2	1,01 11,7	----

OCH₃	3,84	3,90	----	----
	49,2	52,3		
Ar(CH₂)₇CH₂N	2,59	2,92-3,28	2,40	2,54
	49,1	50,9	53,2	54,1
1''	----	----	----	----
	121,6	121,7	116,6	140,4
2''	----	----	7,19-7,32	7,22-7,29
	157,8	158,2	129,1	128,4
3''	6,86	6,96	7,19-7,32	7,34-7,32
	110,4	111,2	128,3	128,6
4''	7,23-7,28	7,61-7,63	7,19-7,32	7,34-7,32
	130,4	133,4	127,0	127,1
5''	6,91	7,03	7,19-7,32	7,34-7,32
	110,4	116,8	128,3	128,6
6''	7,23-7,28	7,44	7,19-7,32	7,22-7,29
	128,5	132,2	129,1	128,4

Os compostos LDT436 (**45**) e LDT438 (**51**) foram também caracterizados pela presença de simpletos em 3,84 ppm e 3,90 ppm em RMN ¹H [Anexo 56 (Pág. 57), 68 (Pág. 69)] e deslocamentos químicos em 49,2 ppm e 52,3 ppm em RMN ¹³C [Anexo 57 (Pág. 58), 69 (Pág. 70)] referentes à metoxila do anel benzílico. A presença dos grupos metilas pertencente ao grupamento etila ligado ao nitrogênio terciário para os derivados LDT438 (**51**) e LDT439 (**44**) foi evidenciada pelos tripletos em 1,47 ppm e do tripleto em 1,02 ppm em RMN ¹H [68 (Pág. 69), 53 (Pág. 54)] e sinais em 9,2 ppm e 11,7 ppm em RMN ¹³C [Anexo 69 (Pág. 70), 54 (Pág. 55)], assim como a presença de grupo metileno ligado ao nitrogênio terciário compondo o grupamento etila, para ambos os compostos, foram assinalados como multipletos na faixa de 2,92-3,28 ppm e 2,46-2,52 ppm em RMN ¹H [68 (Pág. 69), 53 (Pág. 54)] confirmados em RMN ¹³C pela presença dos deslocamentos químicos em 48,0 ppm e 47,4 ppm [Anexo 69 (Pág. 70) e 54 (Pág. 55)], respectivamente (Tabela 12).

Por fim, os compostos amínicos acíclicos LDT441 (**46**) e LDT532 (**48**) foram caracterizados pela presença do grupo metileno ligado ao nitrogênio como multipletos nas faixas de 2,53-2,66 ppm e 3,00-2,93 ppm em RMN ^1H [Anexo 59 (Pág. 58), 65 (Pág. 66)] e sinais em 55,3 ppm e 46,8 ppm em RMN ^{13}C , respectivamente conforme Tabela 12 [Anexo 60 (Pág. 61), 66 (Pág. 67)]. Ainda para LDT441, a evidencia de simpleto em 3,23 ppm em RMN ^1H corrobora a presença do grupo hidroxila. Para o derivado LDT532 (**48**), a metila do grupo etila ligado ao nitrogênio terciário foi evidenciada com a presença de multiplete na faixa de 1,23-1,28 ppm em RMN ^1H e sinal em 9,5 ppm no RMN ^{13}C .

Tabela 12 - Dados de deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C - (δ , ppm) para os compostos LDT441, LDT532



M=CH₃ (LDT532); M=CH₂OH (LDT441).

Átomo	RMN ^1H (δ , ppm, 500 MHz)	
	RMN ^{13}C (δ , ppm, 125 MHz), CDCl ₃	
	LDT441 (46)	LDT532 (48)
1	2,53-2,66	3,00-2,93
	55,3	46,8
2	3,58	1,23-1,28
	58,2	9,5
NCH ₂ CH ₂ OH	3,23	----

Ar(CH ₂) ₇ CH ₂ N	2,53-2,66	2,76-2,84
	53,4	51,8

6.3 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

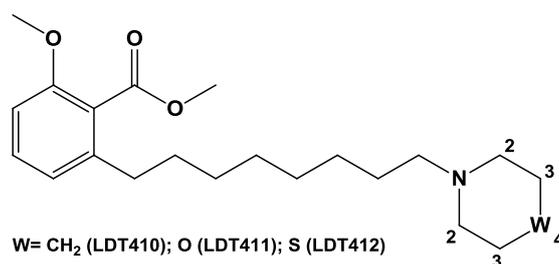
6.3.1 Relação Estrutura Química-Atividade Anticolinesterásica

Como anteriormente mencionado, no planejamento (Figura 19, Pág. 48) dos compostos-alvo buscou-se a similaridade de interações encontradas na subunidade farmacofórica primária do homodímero Bis(7)-tacrina (**10**) e a subunidade auxofórica do donepezil (**2**), conectadas por espaçador contendo 8 metilenos (7,6 Å). A subunidade auxofórica contendo grupos aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) diretamente ligados a anel aromático, visando mimetizar o donepezil (**2**), mantida em toda série de compostos a partir da dimetilação das hidroxilas fenólica e do ácido carboxílico do ácido anarcárdico (**23**), fornecendo a subunidade 2-metóxi benzoato de metila. A subunidade farmacofórica planejada para interagir em ambos os subsítios encontrados no sítio ativo da AChE como a tacrina (**1**) ou acetilcolina (**17**) foi explorada por estratégias de modificação molecular como bioisosterismo clássico de anéis, restrição e liberdade conformacional e adição de outros atributos de reconhecimento molecular, visando avaliar a modulação do perfil desejado na busca do melhor ligante da série. De acordo com os objetivos iniciais do trabalho, a avaliação do perfil farmacológico dos compostos-alvo quanto à atividade anticolinesterásica em modelos experimentais *in vitro* foi realizada e os resultados obtidos descritos na Tabela 2, foram redistribuídos nas Tabelas 13-17 com a finalidade de permitir melhor convergência na racionalização das relações estrutura química-atividade anticolinesterásica. Neste sentido, os compostos foram agrupados de acordo com suas características estruturais, a partir das quais foi possível inferir considerações detalhadas a seguir.

6.3.1.1 Compostos Bioisósteros Cíclicos

Considerando os bioisósteros cíclicos descritos na Tabela 13, somente o LDT410 (**29**) apresentou inibição da atividade da AChE maior que 50% à concentração de 30 μM , enquanto os derivados LDT411 (**30**) e LDT 412 (**31**) foram capazes de inibir atividade enzimática com percentual de 29% e 19%, respectivamente. Os resultados revelam que a troca isostérica clássica do metileno em **29** por oxigênio em **30** diminuiu 2,86 vezes o perfil inibitório e sugerem que a presença de ALH nesta região da molécula não permite interações favoráveis. Comparando com o derivado **31** ($W = S$), a presença do átomo de enxofre, ainda que hidrofóbico, parece estar relacionada à conformações no anel tiomorfolínico, impedimento estérico sobre o sítio de interação primária ou mesmo interações com outros resíduos de aminoácidos como cisteínas. Vale destacar que o átomo de enxofre pode ser oxidado ao respectivo sulfóxido, o que levaria à presença de um sítio ALH, cuja presença é deletéria para a inibição da AChE. Desta forma, temos que o derivado LDT410 (**29**) foi o melhor da série com IC_{50} de 8,2 μM .

Tabela 13 - Resultados farmacológicos de inibição da acetilcolinesterase dos bioisósteros cíclicos



Composto	% inibitório (30 μM)	IC_{50} (μM)
LDT410 (29)	83 %	8,2 μM
LDT411 (30)	29 %	-
LDT412 (31)	19 %	-

6.3.1.2 Compostos piperazínicos e arilpiperazínicos

Para a série de compostos piperazínicos dicatiônicos LDT414 (**32**, L = CH₃) e LDT416 [**33**, L = CH(Ph)₂], monocatiônicos *N4* substituídos LDT417 (**34**, L = COCH₃) e LDT419 [**35**, L = COOC(CH₃)₃] e *N4*-arilpiperazínicos LDT432 (**40**, Y = CH; K = CH), LDT433 (**41**, Y = COCH₃; K = CH), LDT434 (**42**, Y = N; K = CH) e LDT435 (**43**, Y = N; K = N) os percentuais de inibição variaram de 9% a 42%, e por serem inferiores a 50% não foram determinadas suas respectivas IC₅₀ (Tabela 14).

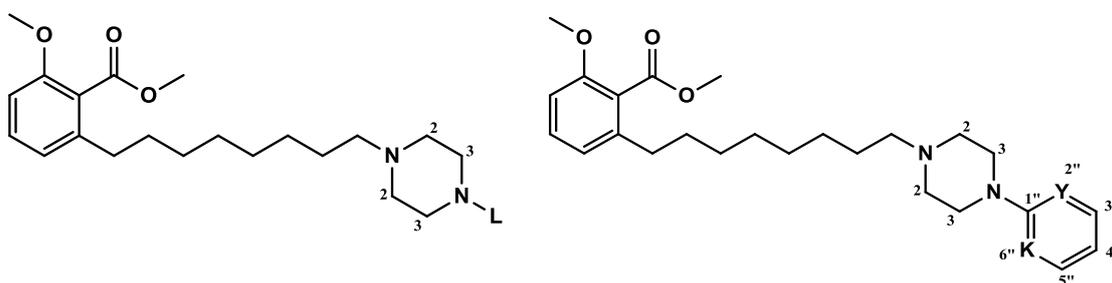
De maneira geral, os derivados dicatiônicos LDT414 (**32**, 42%) e LDT416 (**33**, 38%) apresentaram os melhores perfis da série apontando que não há diferença significativa entre os grupos *N*-metila e *N*-benzidríla. Este ainda revela que a presença de grupos aromáticos, visando interações com resíduos do subsítio aromático Trp84 e Phe331 não contribuiu para a melhora do perfil anticolinesterásico.

Considerando os compostos monocatiônicos *N4*-acetil (**34**, LDT417, 29%) e *N4*-dimetilcarbamoil (**35**, LDT419, 27%), os resultados reforçam que a presença de grupos ALH nesta região da molécula não é bem tolerada, cujos perfis de inibição da AChE são similares ao derivado morfolínico LDT410 (**29**).

Por sua vez, os compostos *N4*-arilpiperazínicos apresentaram perfis de inibição que variaram de 9% a 28%, sendo o composto LDT432 (**40**, Y = CH; K = CH) o de menor perfil anticolinesterásico. A presença de grupos ALH como 2-metoxila (**41**, LDT433, 23%) e átomos de nitrogênio nos anéis piridina (**42**, LDT434; Y = N; K = CH, 14%) e pirimidina (**43**, LDT435; Y = N; K = N, 28%) parecem modular o perfil anticolinesterásico sem, no entanto, ser significativo. Os dados ainda corroboram que a presença de anéis aromáticos na posição *N4* do anel piperazínico não contribuem para o reconhecimento molecular da enzima o que pode estar relacionado a interações em outra região da enzima que não impede o acesso da acetilcolina ao sítio catalítico da

acetilcolinesterase. A análise do ponto de vista de impedimento estérico pelos grupos aromáticos é minimizada em face do grupo benzidrila (o de maior volume da série) no derivado LDT416 (**33**) ter melhor perfil que derivado fenílico **40**.

Tabela 14 - Resultados farmacológicos de inibição da acetilcolinesterase para os compostos piperazínicos e arilpiperazínicos



L= CH₃ (LDT414); CHPh₂ (LDT416);
COCH₃ (LDT417); COOC(CH₃)₃ (LDT419)

Y= CH e K=CH (LDT432); Y= COCH₃ e K=CH (LDT433);
Y= N e K=CH (LDT434); Y= N e K=N (LDT435)

Composto	% inibitório (30 μM)	IC ₅₀ (μM)
LDT414 (32)	42 %	-
LDT416 (33)	38 %	-
LDT417 (34)	29 %	-
LDT419 (35)	27 %	-
LDT432 (40)	9 %	-
LDT433 (41)	23 %	-
LDT434 (42)	19 %	-
LDT435 (43)	28 %	-

6.3.1.3 Compostos piperidínicos

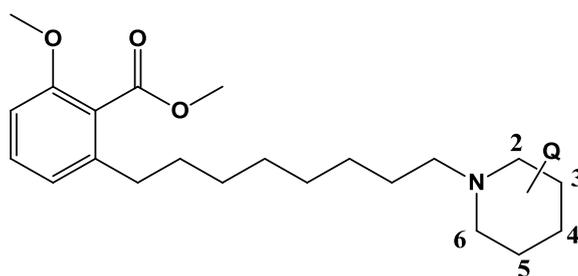
O perfil de inibição da AChE para os compostos hidroxilados pirrolidin-3-ol (**38**, LDT426), 4-hidróxipiperidina (**36**, LDT420), 3-hidróxipiperidina (**37**, LDT423) e 2-hidróximetilpiperidina (**39**, LDT429) variou de 26% a 63% (Tabela 15). Entre estes derivados, **36** apresentou o menor perfil de inibição (26%), convergindo à análise de que grupos ALH na posição 4 do anel de piperazinas e piperidinas não são favoráveis à interação com a AChE, assim como ocorrera para os derivados LDT411 (**30**), LDT417 (**34**) e LDT419 (**35**). Entretanto, a variação do grupo hidroxila para a posição 3 leva ao melhor reconhecimento pela AChE entre os compostos piperidínicos. Uma nova variação do grupo hidroxila conectado por espaçador metileno à posição 2 do anel piperidínico revelou o segundo melhor composto desta classe, LDT429 (**39**), com perfil inibitório de 57%. Desta forma, os dados sugerem que compostos piperidínicos com grupos hidroxilados na posição 2 e 3 parecem favorecer à interação com a enzima.

Vale destacar que estes compostos apresentam quiralidade sendo, neste caso, avaliados como mistura racêmica. Uma vez que a AChE apresenta reconhecimento enantiosseletivo, a avaliação dos enantiômeros puros refinará o perfil de atividade dos compostos bem como sinalizará possíveis interações adicionais.

Os resultados para os compostos O-acetilado (**49**, LDT424) e O-(N,N-dimetil)carbamoilado (**50**, LDT425) derivatizados de LDT423 (**37**) revelaram um leve aumento (10%) no percentual de inibição para o derivado **49** com manutenção do perfil inibitório para **50**. Os dados sugerem que grupos doadores de ligação de hidrogênio (DLH) parecem não ser relevantes para o reconhecimento molecular bem como grupos ALH volumosos, apesar de terem uma grande influência são tolerados.

Entre os compostos hidroxilados, pirrolidínico e piperidínicos, o composto LDT426 (**38**), contendo a subunidade 3-hidróxipirrolidina apresentou melhor perfil inibitório (63%). Em comparação com o LDT423 (**37**), o melhor resultado para LDT426 (**38**) parece estar relacionado à menor variação conformacional do derivado de 5 membros frente ao de 6 membros.

Tabela 15 - Resultados farmacológicos de inibição da acetilcolinesterase para os compostos piperidínicos



Q= 3-OH (LDT420); Q= 4-OH (LDT423); Q=2-CH₂OH (LDT429);
Q= 4-OCOCH₃ (LDT424); Q= 4-OCOC(CH₃)₃ (LDT425)

Composto	% inibitório (30 μM)	IC ₅₀ (μM)
LDT420 (36)	26	----
LDT423 (37)	57	*
LDT424 (49)	63	*
LDT425 (50)	57	*
LDT426 (38)	63	*
LDT429 (39)	53	20,2 μM

* Em avaliação

Com a finalidade de justificar a diferença no perfil de atividade dos derivados piperidínicos hidroxilados, foi mensurada a distância do átomo de oxigênio do grupo acetoxila ao nitrogênio quartenário da ACh e dos compostos piperidínicos hidroxilados substituídos nas posições 2, 3 e 4 por meio do programa Spartan 6. Os compostos foram desenhados com os grupos hidroxilas e metileno-hidroxila nas posições equatoriais, sob o mínimo conformacional após otimização da geometria pelo método semi-empírico AM1 (Figura 23). Os resultados estão descritos na Tabela 16.

Figura 23 - Estruturas geradas no programa Spartan 6 para medir as distâncias.

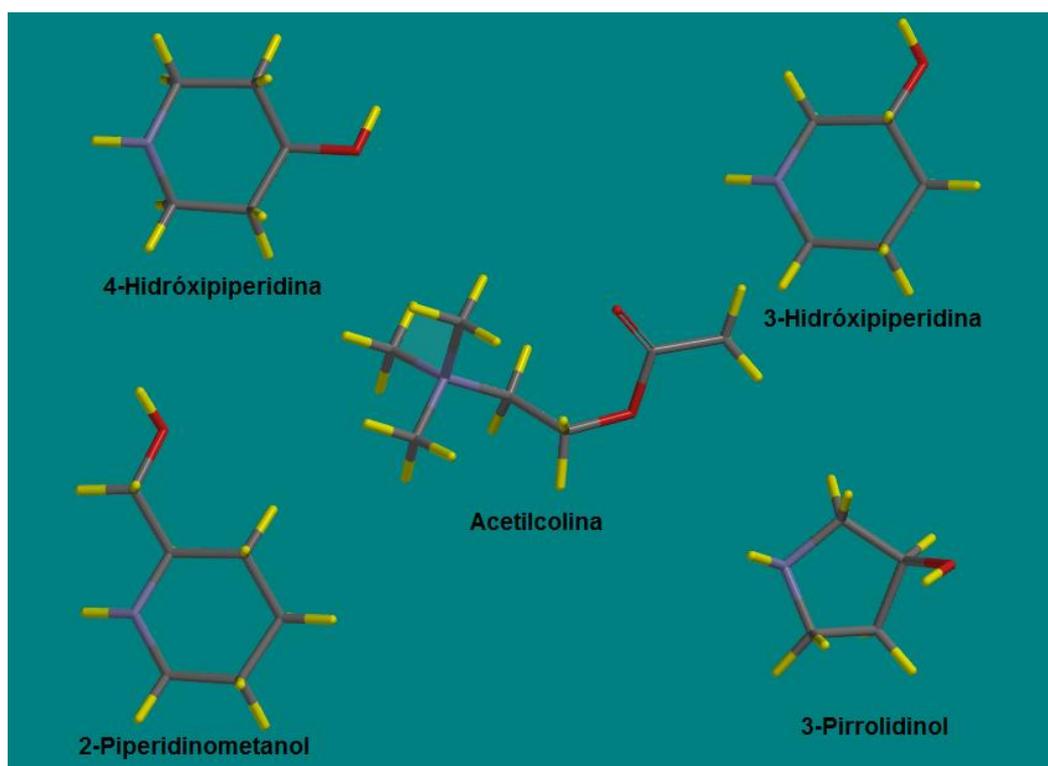


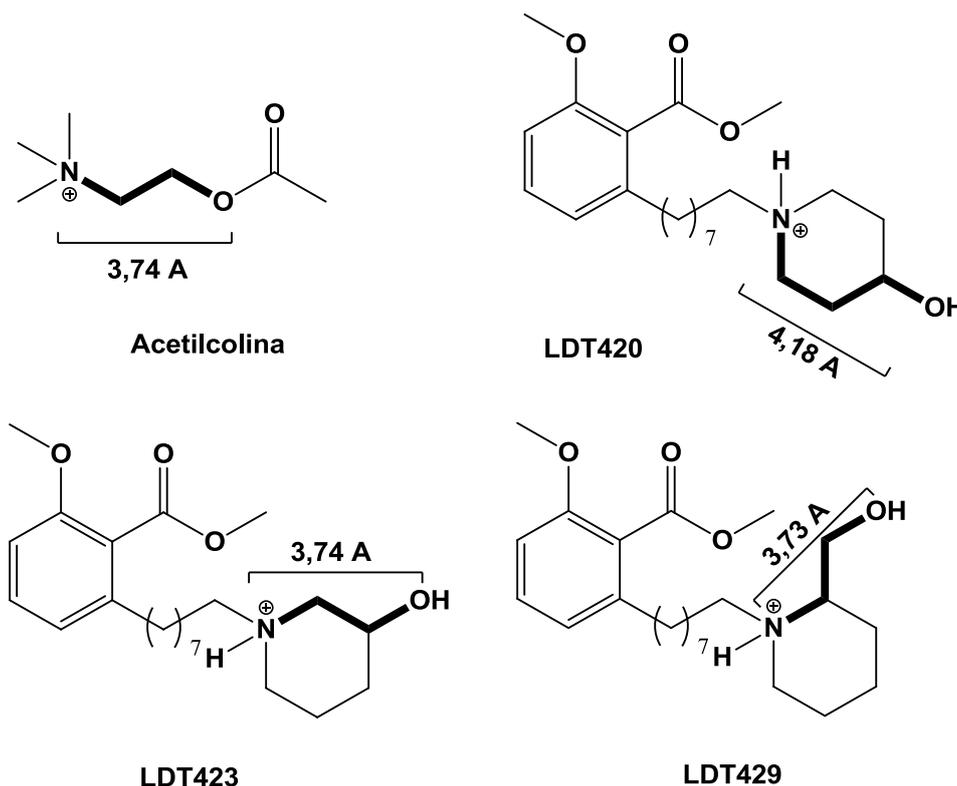
Tabela 16 - Distâncias do átomo de oxigênio do grupo acetoxila ao átomo de nitrogênio

	ACh	Posição 2	Posição 3	Posição 4
Distância (Å)	3,74	3,73	3,74	4,18

Os resultados da simulação computacional revelaram semelhança entre as distâncias, do átomo de oxigênio ao átomo de nitrogênio, medidas para a ACh e os compostos com grupos hidroxila nas posições 3 (**37**, LDT423) e 2 (**39**, LDT429). Neste sentido, a distância idealizada em torno de 3,74 Å mimetiza a estrutura do substrato endógeno (Figura 24). A distância em torno de 3,73 Å observada para a substituição na posição 2 está compatível com a distância idealizada. Entretanto, a diferença no perfil pode estar associada à maior liberdade conformacional em função do grupo metileno ou ainda pelas diferenças no reconhecimento molecular dos enantiômeros em cada mistura racêmica. Considerando a substituição na posição 4, referente ao derivado

LDT420 (**36**), foi encontrada a distância de 4,18 Å que apresenta incremento de 0,44 Å. Este dado sugere que grupos ALH a esta distância não favorecem interações entre o composto e à enzima, o que resultou numa inibição de somente 26% da atividade enzimática.

Figura 24 - Relação estrutural dos compostos com o substrato endógeno ACh



Buscando também justificar o melhor perfil do derivado hidróxipirrolidínico foi realizado o estudo para o derivado LDT426 (**38**) sob as mesmas condições anteriormente utilizadas. Desta forma, a distância entre o oxigênio da hidroxila e o grupo amina do anel pirrolidínico foi de 3,67 Å, revelando uma distância ainda menor que a idealizada na estrutura da ACh. Este dado indica que sistemas conformacionalmente mais restritos apresentam melhor perfil de interação com a enzima, ainda que os perfis obtidos sejam para misturas racêmicas, excetuando-se o composto aquiral LDT420 (**36**). O refinamento dos resultados aqui discutidos está em andamento e estará

relacionado à obtenção da IC_{50} do perfil inibitório para os derivados LDT423 (37), LDT426 (38) e LDT429 (39).

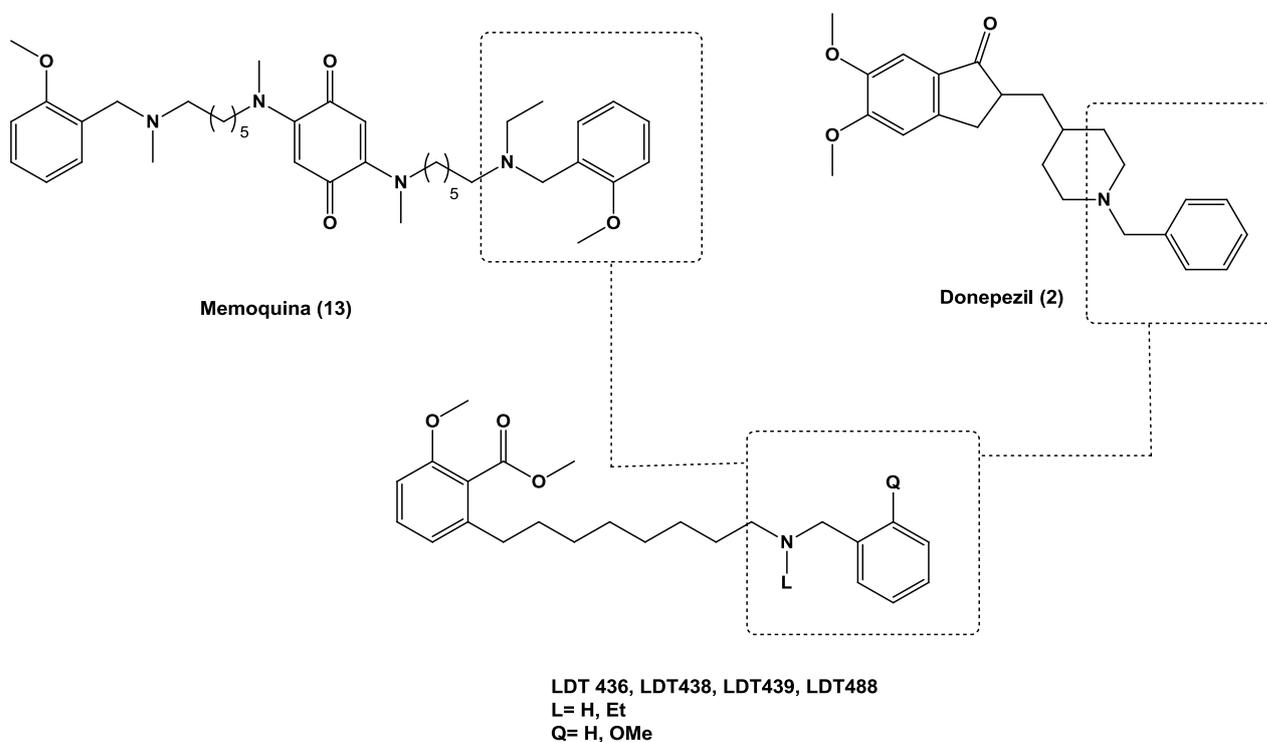
Vale a pena reforçar que sendo as enzimas de natureza protéica e tendo reconhecimento enantiosseletivo, muitas vezes enantioespecíficos, a determinação da configuração absoluta desses compostos, visando à distinção de suas atividades, pode revelar resultados promissores na faixa submicromolar, reconhecendo o enantiômero bioativo (eutômero) e retirando o possível interferente do enantiômero de menor atividade e ou inativo (distômero).

6.3.1.4 Compostos amínicos alifáticos e benzilamínicos

Os derivados amínicos alifáticos e os derivados benzilamínicos diferem dos outros derivados por apresentarem liberdade conformacional do grupo catiônico (subunidade farmacofórica). Para os derivados benzilamínicos, a subunidade farmacofórica desses compostos foi idealizada a partir da memoquina (13) (Figura 24), com variações no padrão de substituição do átomo de nitrogênio e na posição 2 do anel aromático. Os derivados amínicos alifáticos, que mimetizam a acetilcolina sem o grupo amino quaternário, foram sintetizados a fim de avaliar a importância da presença de um grupo aromático para o reconhecimento molecular.

(51) em relação ao LDT439 (44) entre os compostos com aminas terciárias. Para esta série foram determinados os valores de IC_{50} para três compostos, cuja ordem de atividade foi LDT436 (45, IC_{50} 2,1 μ M) > LDT438 (51, IC_{50} 4,0 μ M) > LDT439 (44, IC_{50} 29,7 μ M). Estes resultados preliminares permitem inferir sobre a relevância do grupo 2-metoxila para o perfil anticolinesterásico. Desta forma, é possível identificar prováveis influências como: (i) a importância do ALH nesta região; (ii) a modificação eletrônica do anel e sua interação com resíduos aromáticos complementares; ou mesmo (iii) a participação do efeito *orto* provocado pelo grupamento metoxila em favor de um arranjo conformacional que pode favorecer o reconhecimento molecular. Entretanto, em face do derivado LDT488 (47), que possui uma amina secundária e ausência do grupo 2-metoxila no anel, ter inibido a atividade da enzima em 76% [com perfil melhor que LDT436 (45)], somente após a determinação de seu valor de IC_{50} poderemos racionalizar a relação estrutura-atividade destes compostos e efetivamente confirmar a importância do grupo metoxila nesta região de interação.

Figura 25 - Relação estrutural entre a memoquina (13) o donepezil (2) e os compostos benzilamínicos



Comparando os perfis inibitórios para os compostos *N,N*-dietilamínico LDT532 (**48**, 66%, IC₅₀ 6,1 µM) e *N*-benzil-*N*-etilamínico LDT439 (**44**, 50%, IC₅₀ 29,7 µM), que diferem pela substituição do grupo metila pelo grupo fenila, é possível inferir que a presença do anel fenila não favoreceu a interação. Não somente pelo percentual de inibição, mas principalmente pelos valores de IC₅₀. Entretanto, em relação ao composto LDT438 (**51**, 61%, IC₅₀ 4,0 µM), os dados revelam que não há diferença entre os dois compostos, reforçando a importância do grupo 2-metoxila. Os dados ainda permitem especular, uma vez que a AChE apresenta muitos aminoácidos aromáticos na sua estrutura de reconhecimento molecular, que o derivado LDT439 (**44**) esteja interagindo mais fortemente em regiões aromáticas, diferentemente do composto LDT532 (**48**), o que pode ocasionar seus variantes perfis de atividade. A comparação entre os perfis de atividade para os compostos LDT441 (**46**, 58%) e LDT423 (**37**, 57%) revela similaridade entre os compostos que apresentam grupos ALH/DLH aproximadamente à mesma distância, independente de suas diferentes relações conformacionais livre e restrita, respectivamente. Entretanto, uma análise mais apropriada depende da avaliação anticolinesterásica individual dos enantiômeros do derivado LDT423 (**37**), ora avaliados como mistura racêmica. Por fim, a comparação entre os derivados LDT532 (**48**, 66%) e LDT441 (**46**, 58%) indica que a presença do grupo hidroxila diminui o perfil de inibição da AChE, cujo determinação da IC₅₀ para LDT441 (**46**) permitirá o melhor refinamento na análise da relação estrutura atividade.

Conclusões e Perspectivas

7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A metodologia sintética mostrou-se eficaz no desenvolvimento de agentes anticolinesterásico, tendo como arcabouço molecular o ácido anacárdico. Assim, foram sintetizados 25 compostos, sendo 2 intermediários-chave, LDT74 (50%) e LDT74Ms (85%) e os compostos finais em rendimentos globais que variaram de 14% a 29%. A metodologia sintética empregada na obtenção dos compostos-alvos mostrou-se linear ao utilizar reações clássicas: O-alkilação, clivagem oxidativa, redução com hidretos metálicos, mesilação e substituição nucleofílica bimolecular por meio de aquecimento convencional ou radiação microondas. Portanto a utilização dos métodos simples pareceu eficientes para a síntese de moléculas com complexidade estruturais baixas capazes de atuar sobre alvos biológicos. A caracterização estrutural dos intermediários e compostos-alvo foi por meio de métodos espectroscópicos de análise IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C .

A avaliação anticolinesterásica foi capaz de evidenciar a atividade dos compostos sintetizados pela determinação dos percentuais de inibição bem como IC_{50} dos compostos que foram capaz de inibir a enzima a partir de 50 %. Assim a melhor série de ligantes desenvolvida foi os compostos de que apresentavam liberdade conformacional na subunidade amínica, onde os derivados benzilamínicos apresentaram melhor perfil de inibição, em especial o LDT436 (**45**) com IC_{50} de 2,1 μM , atribuído tal característica devido a similaridade estrutural da subunidade farmacofórica do donepezil (**2**) e da memoquina (**13**). Contudo o derivado LDT410 (**29**) da série bioisómeros cíclicos apresentou um dos melhores IC_{50} (8,4 μM).

Para os compostos piperazínicos hidroxilados em diferentes posições, a substituição na posição *N4* do anel mostrou não ser favorável, onde a perda do perfil inibitório foi significativo (LDT420, Atividade Inibitória de 26%). Foi atribuído assim a diferença de distância entre o nitrogênio quartenário e o ALH que, dos demais agentes, a similaridade da distanciado encontrada no ligante endógeno acetilcolina, sugerindo atividade inibitória acetilcolina-*like* sobre a tríade catalítica.

Neste sentido, estudos de modelagem molecular, a resolução de enantiômeros e a avaliação frente a AChE bem como da atividade

antiagregante β A induzida pela AChE constituem perspectivas do trabalho na validação do planejamento estrutural de um possível inibidor dual.

Referencias Bibliográficas

8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] WHO. World Health Statistics, 2013. Part III- Global Health Indicators. 2013. [Acesso em 2014 Jan 06]. Disponível em:
http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS2013_Part3.pdf
- [2] FUNDO DE POPULAÇÕES DAS NAÇÕES UNIDAS (UNFPA). Envelhecimento no Século XXI: Celebração e Desafio. 2012. [Acesso em 2013 Dez 15]. Disponível em:
<http://www.unfpa.org/webdav/site/global/shared/documents/publications/2012/Portuguese-Exec-Summary.pdf>
- [3] UNITED NATIONS. Department of Economic and Social Affairs. Population Ageing and Development. Sept. 2012. [Acesso em 2014 Jan 02]. Disponível em:
http://www.un.org/esa/population/publications/2012WorldPopAgeingDev_Chart/2012PopAgeingandDev_WallChart.pdf
- [4] IBGE. Relatório do censo demográfico da população brasileira para o ano de 2010. Dez. 2012. [Acesso em 2014 Jan 08]. Disponível em:
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm>
- [5] IBGE. Informação demográfica e socioeconômica número 24. Tábuas Completas de Mortalidade por Sexo e Idade, Brasil 2012. Nov. 2013. [Acesso em 2014 Jan 08]. Disponível em:
ftp://ftp.ibge.gov.br/Tabuas_Completas_de_Mortalidade/Tabuas_Completas_de_Mortalidade_2012/notastecnicas.pdf
- [6] IBGE. Informação demográfica e socioeconômica número 24. Projeção da população do Brasil por sexo e idade 1980-2050. Revisão 2008
- [7] POVOVA, J.; et al. Epidemiological of and risk factors for Alzheimer's disease: A review. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. v. 156, n. 2, p. 108–114, Jun. 2012.

- [8] BELLUTI, F.; et al. Benzophenone-based derivatives: A novel series of potent and selective dual inhibitors of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase-induced beta-amyloid. *European Journal Medicine Chemistry*, v.46, p. 682-1693, Fev. 2011.
- [9] UBHI, K.; MASLIAH, E. Alzheimer's disease: Recent advances and future perspectives. *Journal Alzheimers Disease*. 2012; 1–10
- [10] LUO, W.; et al. Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as dual inhibitors for cholinesterases and amyloid beta aggregation. *Bioorganic Medicine Chemistry*, v.19, p.763–770, 2011.
- [11] PRINCE M.; et al. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimer's & Dementia*, v. 9, p. 63-75, 2012.
- [12] ALZHEIMER DISEASE INTERNATIONAL. World Alzheimer Report 2010: The global economic impact of dementia. [Acesso em 2013 Out 15]. Disponível em: <http://www.alz.co.uk/research/files/WorldAlzheimerReport2010.pdf>
- [13] CHAVES, M.L.; et al. Incidence of mild cognitive impairment and Alzheimer Disease in Southern Brazil. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, v. 22, n. 3, p. 181-187, Sept. 2013.
- [14] LIMA, M. G.; CORADI, C. O. Gastos com medicamentos para tratamento da Doença de Alzheimer, 2007-2011. In: VI Jornada Nacional de Economia da Saúde, VI Jornada Nacional de Economia da Saúde, Brasília, 2012.
- [15] BRASIL, Portaria Nº 1.298, de 21 de novembro de 2013. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da doença de Alzheimer. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/ANEXO/anexo_prt1298_21_11_2013.pdf
- [16] MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil), Sistema de Indicadores de Saúde e Acompanhamento de Políticas do Idoso (SISAP) [Acesso em 2014 Jan 08]. Disponível em: <http://www.saudeidoso.icict.fiocruz.br/index.php>

[17] VERHEY, F.R.J.; Alois Alzheimer (1864–1915). *Journal Neurologic*, v. 256, p. 502–503, 2009.

[18] LAFERLA, F.M.; GREEN, K.N.; ODDO, S. Intracellular amyloid- β in Alzheimer's disease. *Nature Pub. Group*, v. 8, p. 499-509, 2007.

[19] VIEGAS, F.P.D.; et al. Doença de Alzheimer: Caracterização, evolução e implicações do processo neuroinflamatório. *Rev. Virtual Quim.*, v. 3, n. 4, p. 286-306, 2011.

[20] CIPRIANI, G.; et al. Alzheimer and his disease: a brief history. *Neurol Sci*, v. 32, p. 275–9, 2011.

[21] PAULA, V.J.R.; et al. Neurobiological pathways to Alzheimer's disease - Amyloid-beta, Tau protein or both? *Dement Neuropsychol.*, v. 3, n. 3, p. 188-194, 2009.

[22] LEÓN, R.; GARCIA, A.G.; MARCO-CONTELLAS, J. Recent advances in the multitarget-directed ligands approach for the treatment of Alzheimer's disease. *Medicine Research Reviews*, v. 33, n. 1, p. 139-189 Jul, 2011.

[23] LINDWALL G.; COLE R.D.. Phosphorylation affects the ability of tau protein to promote microtubule assembly. *The Journal of biological chemistry*, v. 259, n. 8, p. 5301-5, Apr, 1984.

[24] CLEVELAND D.W.; HOFFMAN P.N.; Neuronal and glial cytoskeletons. *Curr Opin Neurobiol*, v. 1, p. 346-353, 1991.

[25] VUILLET J.; et al. Ultrastructural relationships between choline acetyltransferase- and neuropeptide y-containing neurons in the rat striatum. *Neuroscience*, v.46, p. 351-360, 1992.

[26] ANDERTON B.H.; et al. Sites of phosphorylation in tau and factors affecting their regulation. *Biochem Soc Symp.*, v. 67, p. 73-80, 2001.

[27] JOHNSON, G.V.; STOOHOFF, W.H. Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *J Cell Sci*, v. 117, n. 24, p. 5721-5729, 2004.

[28] FASULO L.; et al. Cattaneo A The neuronal microtubule associated protein tau is a substrate for caspase-3 and an effector of apoptosis. *J Neurochem.*, v. 75, p. 624-633, 2000.

[29] TAYEB, H.O.; et al. Pharmacotherapies for Alzheimer's disease: Beyond cholinesterase inhibitors. *J Pharmacol Pharmacother*, v. 134, p. 8-25, 2012.

[30] YAN, J.W.; et al. Design, synthesis and evaluation of isaindigotone derivatives as dual inhibitors for acetylcholinesterase and amyloid beta aggregation. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 20, p. 2527–34, 2012.

[31] BOLOGNESI, M.L.; CAVALLI, A.; MELCHIORRE, C. Memoquin: A multi-target-directed ligand as an innovative therapeutic opportunity for alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*, v. 6, p. 152–162, 2009.

[32] HUANG, L.; et al. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of berberine derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 18, p. 1244–1251, 2010.

[33] SAMADI, A.; et al. Cholinergic and neuroprotective drugs for the treatment of Alzheimer and neuronal vascular diseases. II. Synthesis, biological assessment, and molecular modelling of new tacrine analogues from highly substituted 2-aminopyridine-3-carbonitriles. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 19, p. 122–133, 2011.

[34] MOHAMED, T.; et al. Design, synthesis and structure–activity relationship (SAR) studies of 2,4-disubstituted pyrimidine derivatives: Dual activity as cholinesterase and Ab-aggregation inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 19, p. 2269–2281, 2011.

[35] REITZ, C. Alzheimer's disease and the amyloid cascade hypothesis: A critical review. *Int J Alzheimers Dis.*, v. 2012, p. 1-11, 2012.

- [36] ZHU, Y.; et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel dual inhibitors of acetylcholinesterase and b-secretase. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 17, p. 1600–1613, 2009.
- [37] GREEN, K.N.; LAFERLA, F.M. Linking Calcium to Ab and Alzheimer's Disease. *Neuron.*, v. 59, n. 2, p. 190-4, July 2008.
- [38] BUTTERFIELD, D.A.; et al. Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide. *Trends Mol Med.*, v. 7, n. 12, p. 548-54, Dez 2001.
- [39] CASTRO, N.G.; et al. CNS-selective noncompetitive cholinesterase inhibitors derived from the natural piperidine alkaloid (-)-spectaline. *Eur J Pharm.*, v. 580, p. 339–349, 2008.
- [40] DVIR, H.; et al. Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. *Chem. Biol. Interact.*, v. 187, p. 10–22, 2010.
- [41] KOELLNER, G.; et al. Active-site gorge and buried water molecules in crystal structures of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*. *J. Mol. Biol.*, v. 296, p. 713-35, 2000.
- [42] ROMEIRO, LAS. Planejamento e desenvolvimento de novos candidatos a protótipos de fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer. XVII Semana Científica Farmacêutica e III Encontro Nacional de Farmácias Universitárias. Universidade Federal de Goiás (UFG). Goiânia. 2011
- [43] NIU, C.; et al. Dynamic mechanism of E2020 binding to acetylcholinesterase: A steered molecular dynamics simulation. *J. Phys. Chem. B.*, v. 109, p. 23730-23738, 2005.
- [44] CHEUNG, J.; et al. Structures of Human Acetylcholinesterase in Complex with Pharmacologically Important Ligands. *Journal of medicine chemistry*, v. 55, n. 22, p. 10282-6, Nov 2012.

[45] INESTROSA, N.C.; ALVAREZ, A.; CALDERON, F. Acetylcholinesterase is a senile plaque component that promotes assembly of amyloid beta-peptide into Alzheimer's filaments. *Mol Psychiatry*, v. 1, p. 359–361, 1996.

[46] SELKOE, D.J. Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature*, v. 399, p. A23–A31, 1999.

[47] DE FERRARI, G.V.; et al. A structural motif of acetylcholinesterase that promotes amyloid beta-peptide fibril formation. *Biochemistry*, v. 40. n. 35, p. 10447–10457, Set 2001.

[48] BARTOLINI, M.; et al. Beta-Amyloid aggregation induced by human acetylcholinesterase: Inhibition studies. *Biochem Pharmacol*, v. 65, n. 3, p. 407–416, Fev 2003.

[49] ROMAN, A.; et al. Nicotinic-receptor potentiator drugs, huprine X and galantamine, increase ACh release by blocking AChE activity but not acting on nicotinic receptors. *Brain Res.*, v. 1061, p. 73–9, 2005.

[50] BOLOGNESI, M.L.; et al. Synthesis of monomeric derivatives to probe memoquin's bivalent interactions. *J Med. Chem.*, v. 54, n. 24, p. 8299- 8204, May 2011.

[51] BOLOGNESI, M.L.; et al. Multitargeted drugs discovery: Balancing anti-amyloid and anticholinesterase capacity in a single chemical entity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011; v. 21, n. 9, p. 2655–58, May 2011.

[52] NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as sources of a new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, v. 66, n. 7, p. 1022-1037, Jul 2003.

[53] LÓPEZ, S.; et al. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. *Life Sciences*, v. 71, n. 21, p. 2521-2529, Out 2002.

[54] ZANGARA, A. The psychopharmacology of huperzine A: an alkaloid with cognitive enhancing and neuroprotective properties of interest in the treatment of Alzheimer's disease. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 75, n. 3, p. 675-686, Jun 2003.

[55] BARREIRO, E.J. Biodiversidade: Fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Quim. Nova*, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

[56] JOTHY, S.L.; et al. *Cassia spectabilis* (DC) Irwin et Barn: a promising traditional herb in health improvement. *Molecules*, v. 17, n. 9, p. 10292-10305, Aug 2012.

[57] VIEGAS J.R.; BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Produtos Naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento de Alzheimer. *Química Nova.*, v. 27, n. 4, p. 655-660, Mai 2004.

[58] VIEGAS, J.R.; et al., New selective acetylcholinesterase inhibitors designed from natural piperidine alkaloids. *Bioorg. Med. Chem*, v. 13, n. 13, p. 4184–4190, Jul 2005.

[59] PAULA, A.A.N.; et al. Electronic structure calculations toward new potentially AChE inhibitors. *Chemical Physics Letters*, v. 446, n. 4, p. 304–308, 2007.

[60] PAULA, A.A.N.; et al. New potential AChE inhibitor candidates. *Eur J Med Chem.*, v. 44, n. 9, p. 3754–59, Set 2009.

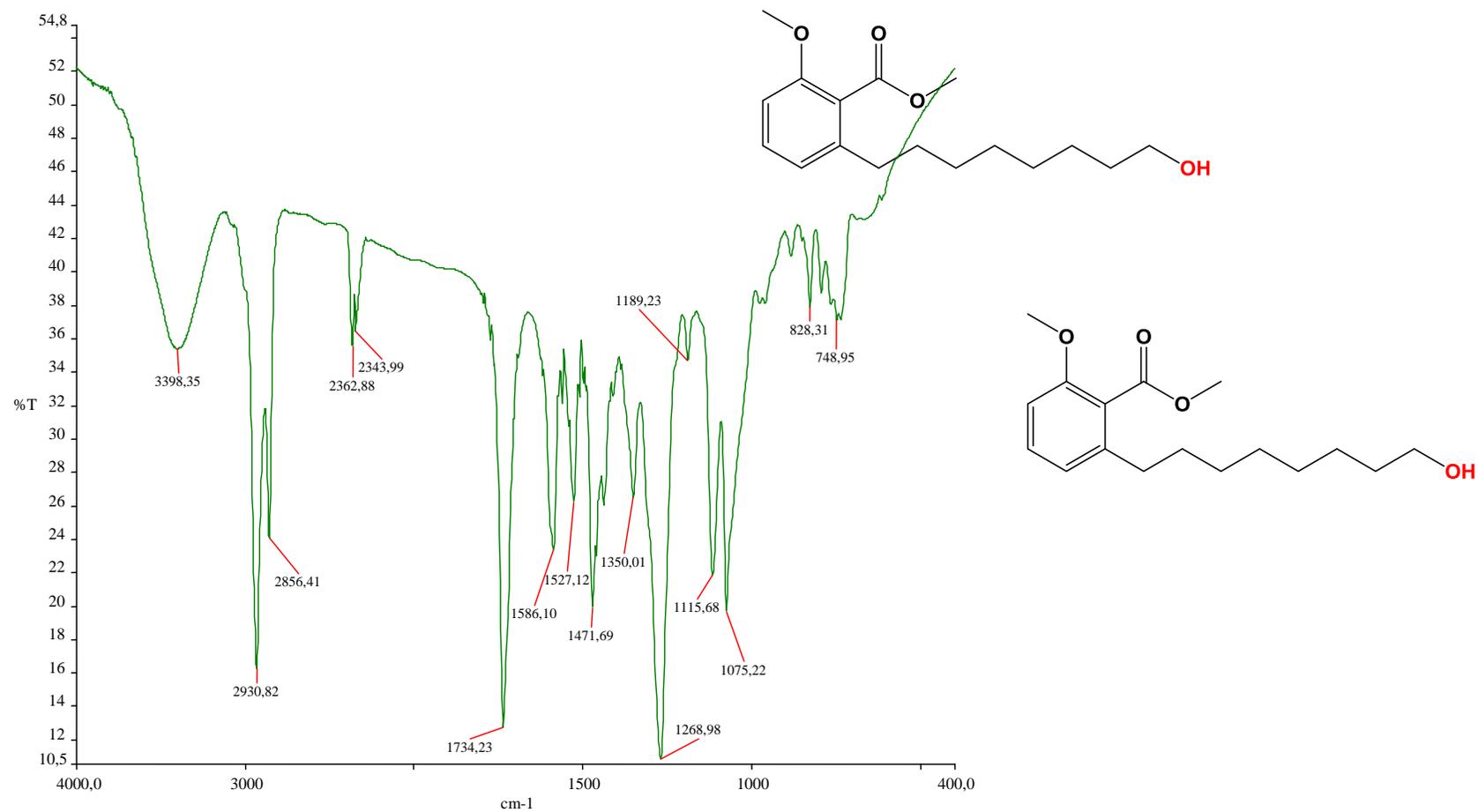
[61] LEMES, L. F. N. Síntese e avaliação farmacológica de novos inibidores da AChE planejados a partir do cardanol candidatos ao tratamento de Alzheimer. 2013. 225p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

[62] MAZZETTO, SE, LOMONACO, D. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 732-41, 2009.

- [63] ATTANASI, O.A.; FILIPPONE, P. Cardanol: una preziosa materia prima rinnovabile. *La Chimica e l'Industria*, v. 85, p. 11-12, 2003.
- [64] AVELLAR, I.G.J.; GODOY, K.; MAGALHÃES, G.C. New Quaternary Ammonium Salts Derived from Cardanol and their Use as Phase Transfer Catalyst. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 11, n. 1, p. 22, 2000.
- [65] SANTOS, M.L.; MAGALHÃES, G.C. Utilisation of Cashew Nut Shell Liquid from *Anacardium occidentale* as Starting Material for Organic Synthesis: A Novel Route to Lasiodiplodin from Cardols. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 10, n. 1, p. 13-20, 1999.
- [66] GONZAGA, WA. Preparação e avaliação farmacológica de derivados dos lipídeos fenólicos do líquido da castanha do caju [dissertação]. Universidade de Brasília (UnB); 2008
- [67] LOGRADO, L.P.L.; et al. Synthesis and biological evaluation of new salicylate macrolactones from anacardic acids. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 16, n. 6^a, p. 1217-25, 2005.
- [68] RODRIGUES, F.H.A.; et al. Antioxidant activity of cashew nut shell liquid (CNSL) derivatives on the thermal oxidation of synthetic cis-1,4-polyisoprene. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 17, n. 2, p. 265-71, 2006.
- [69] KUMAR, P.P.; et al. Process for Isolation of Cardanol from Technical Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid. *J. Agric. Food Chem.*, v. 50, p. 4705-08, 2002.
- [70] MUROI, H.; KUBO, I. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. *J. Agric. Food Chem.*, v. 41, n. 10, p. 1780–1783, 1993.

- [71] GRAZZINI, R.; *et al.* Inhibition of lipoxygenase and prostaglandin endoperoxide synthase by anacardic acids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 176, n. 2, p. 775–780, Abr 1991.
- [72] MUROI, H.; KUBO, I. Antibacterial activity of anacardic acid and totarol, alone and in combination with methicillin, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Bacteriology*, v. 80, n. 4, p. 387–394, 1996.
- [73] KUBO, I.; *et al.* Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. *J. Agric. Food Chem.*, v. 41, n. 6, p. 1016–1019, 1993.
- [74] JOUNG, T.; KUBO, I. Lipoxygenase Inhibitory Activity of Anacardic Acids. *J. Agric. Food Chem.*, v. 53, n. 11, p. 4350–4354, 2005.
- [75] KUBO, I.; NIHEI, K.; TSUJIMOTO, K. Antibacterial Action of Anacardic Acids against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Agric. Food Chem.*, v. 51, n. 26, p. 7624–7628, 2003.
- [76] STASIUK, M.; KOZUBEK, A. Biological activity of phenolic lipids. *Cell. Mol. Life Sci.*, v. 67, n. 6, p. 841–860, Out 2010.
- [77] STASIUK, M.; BARTOSIEWICZ KOZUBEK, A. Inhibitory effect of some natural and semisynthetic phenolic lipids upon acetylcholinesterase activity. *Food Chem.*, v. 108, n. 3, p. 996–1001, Jun 2008.
- [78] DVIR, H.; *et al.* Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. *Chem. Biol. Interact.*, v. 187, n. 1-3, p.10–22, Set 2010.

ANEXO 1



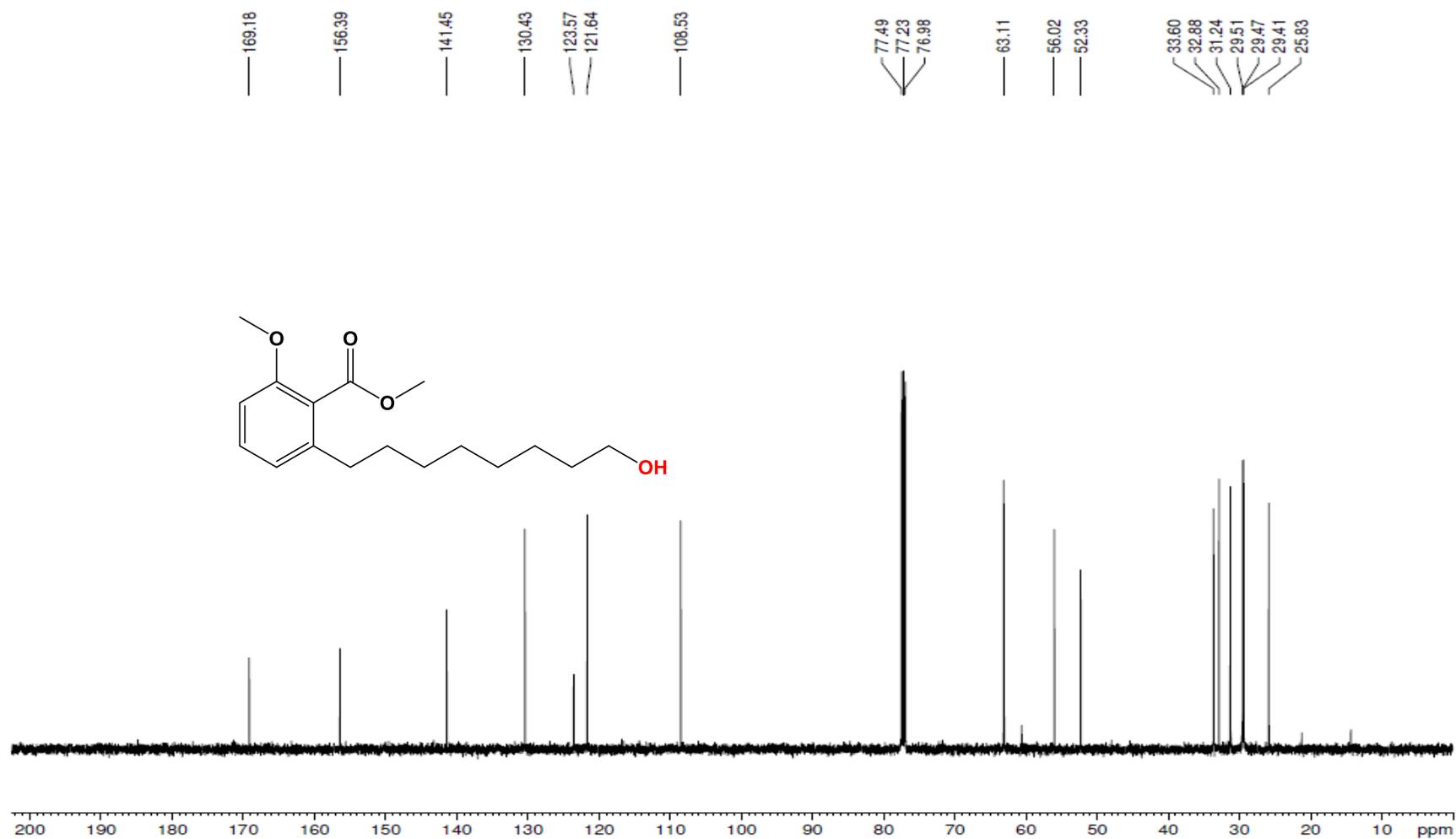
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT74 (27)

ANEXO 2



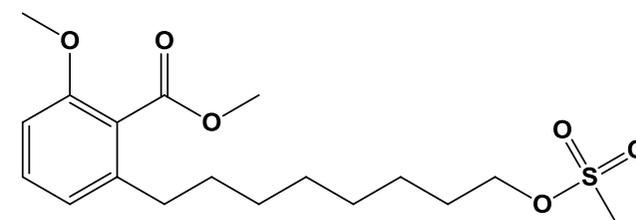
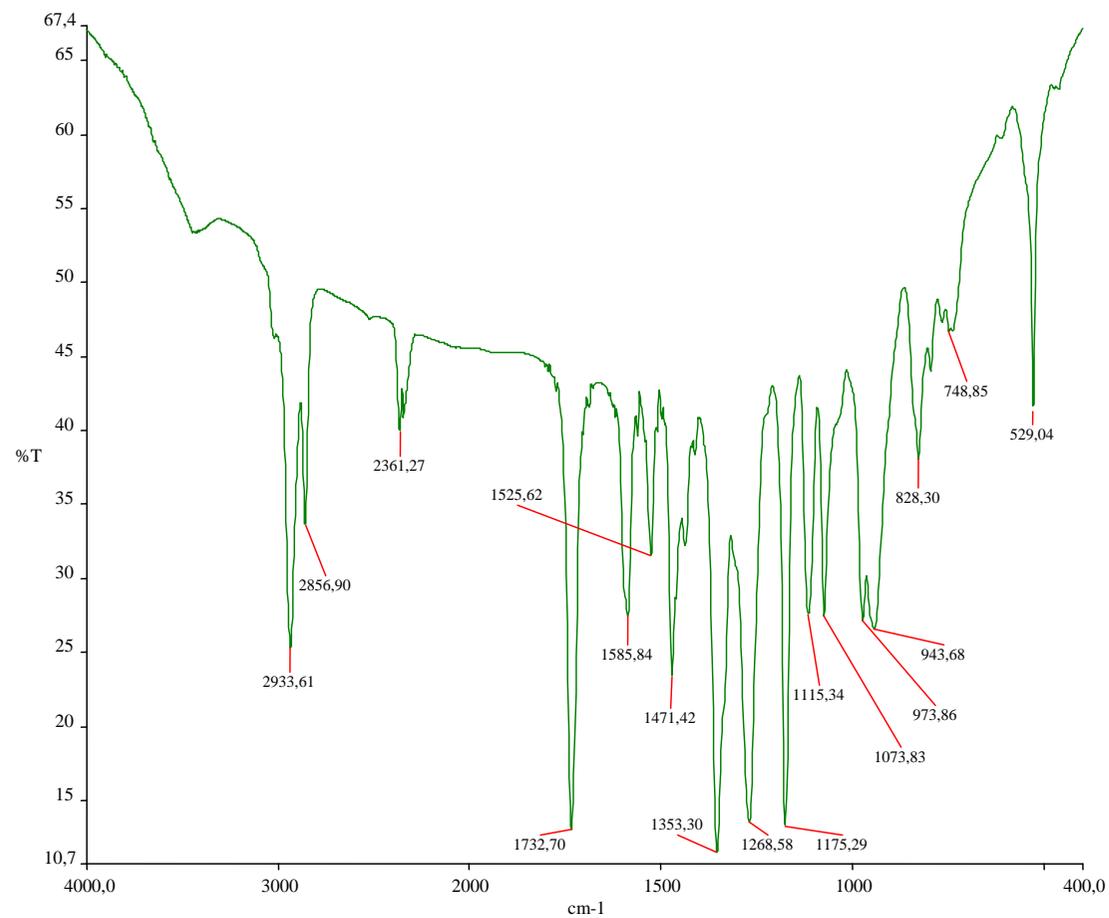
Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – LDT74 (27)

ANEXO 3



Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – LDT74 (27)

ANEXO 4



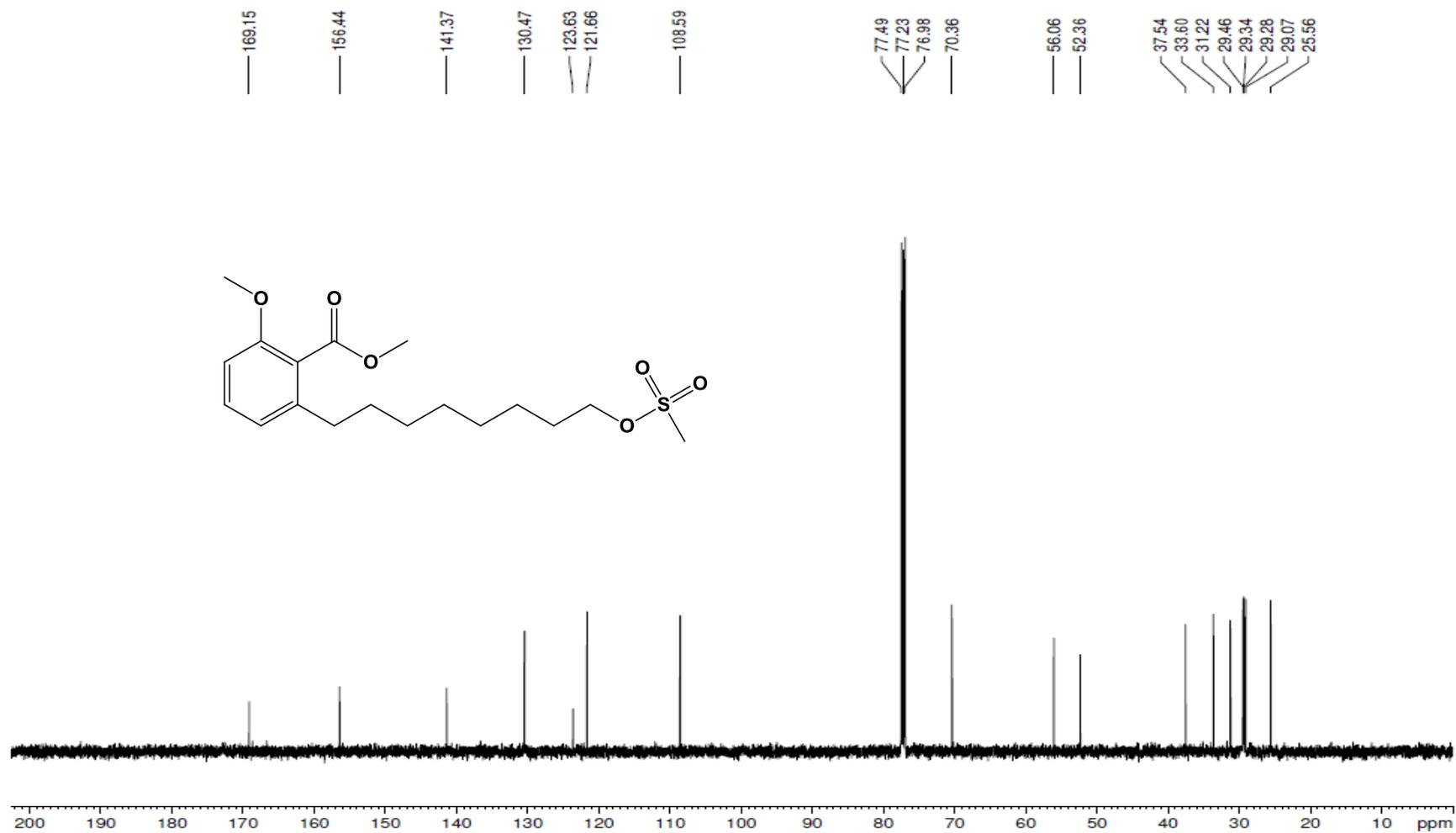
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT74Ms (28)

ANEXO 5



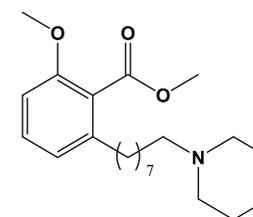
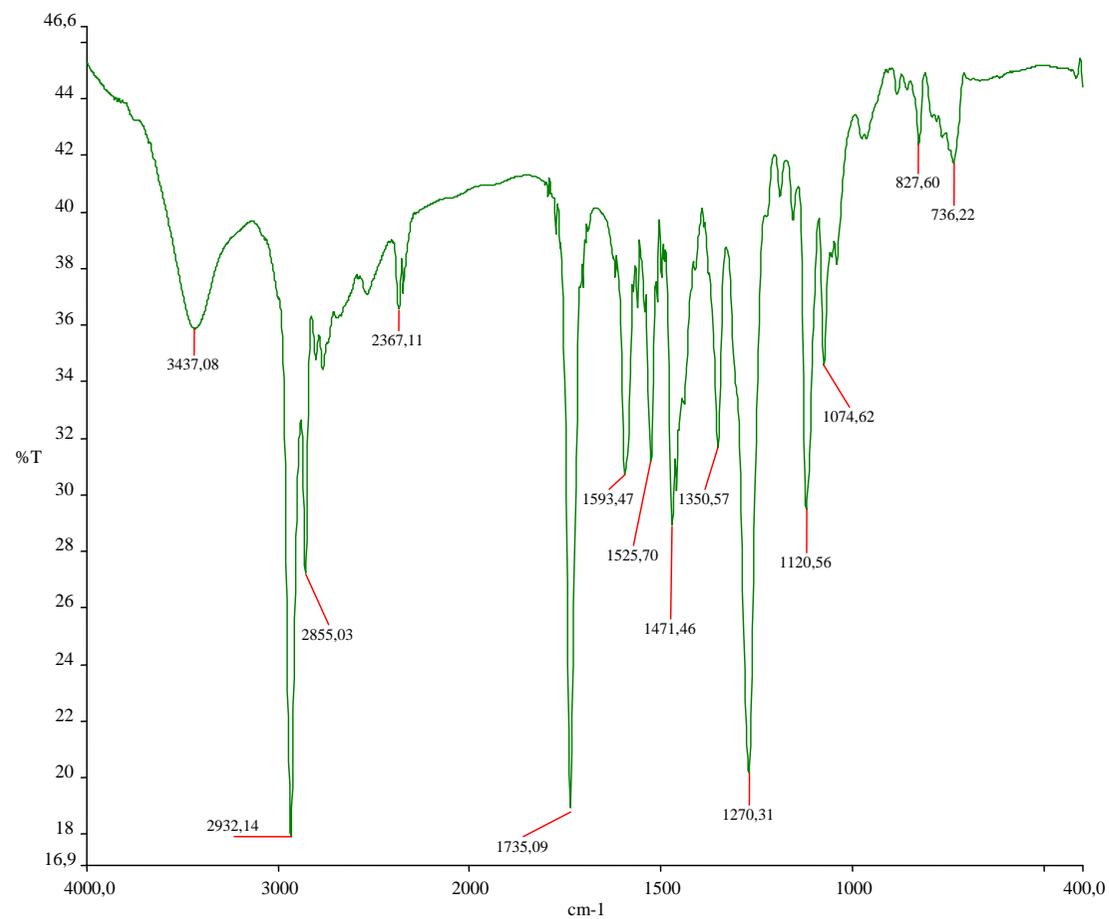
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – LDT74Ms (28)

ANEXO 6



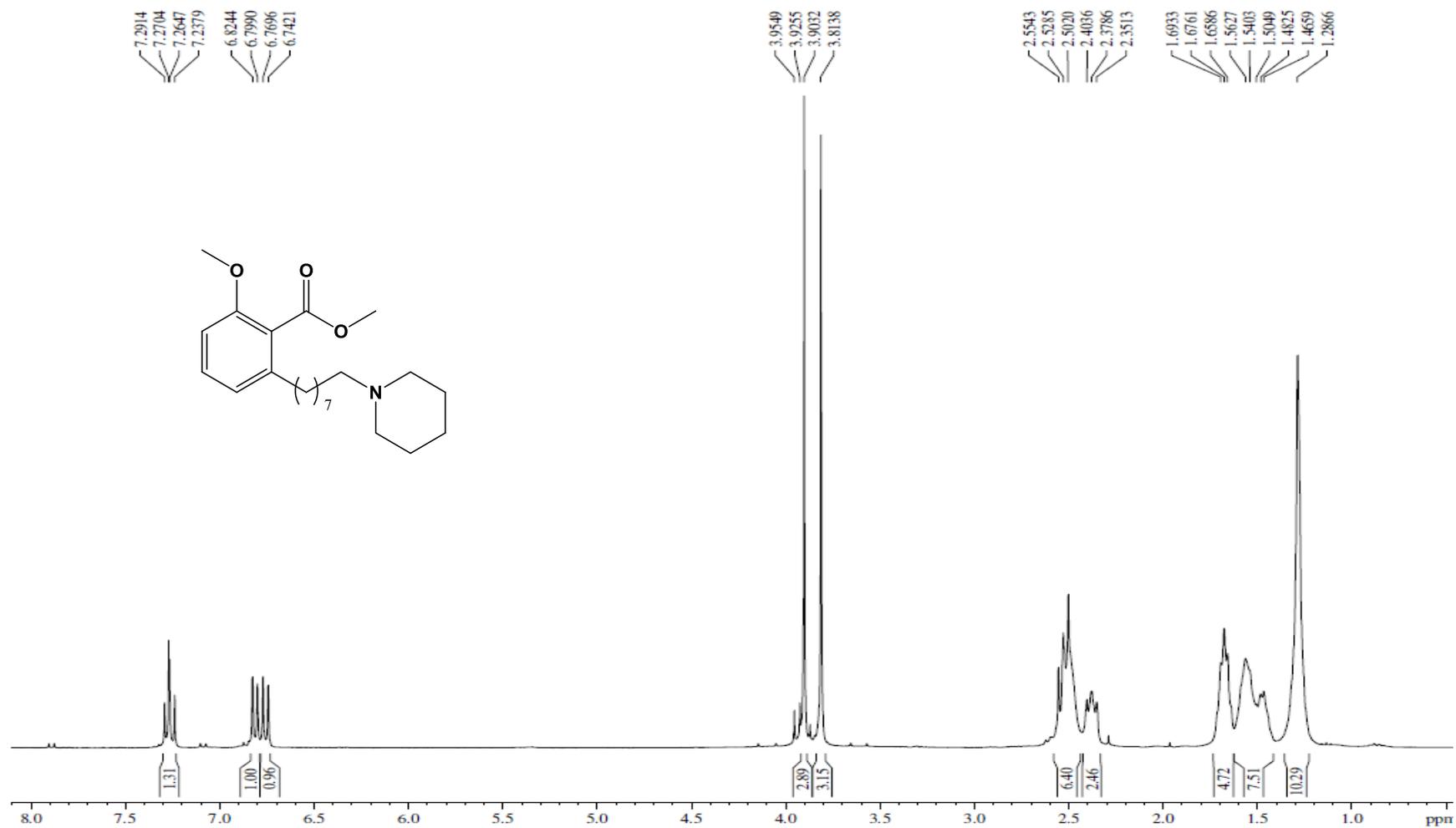
Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – LDT74Ms (28)

ANEXO 7



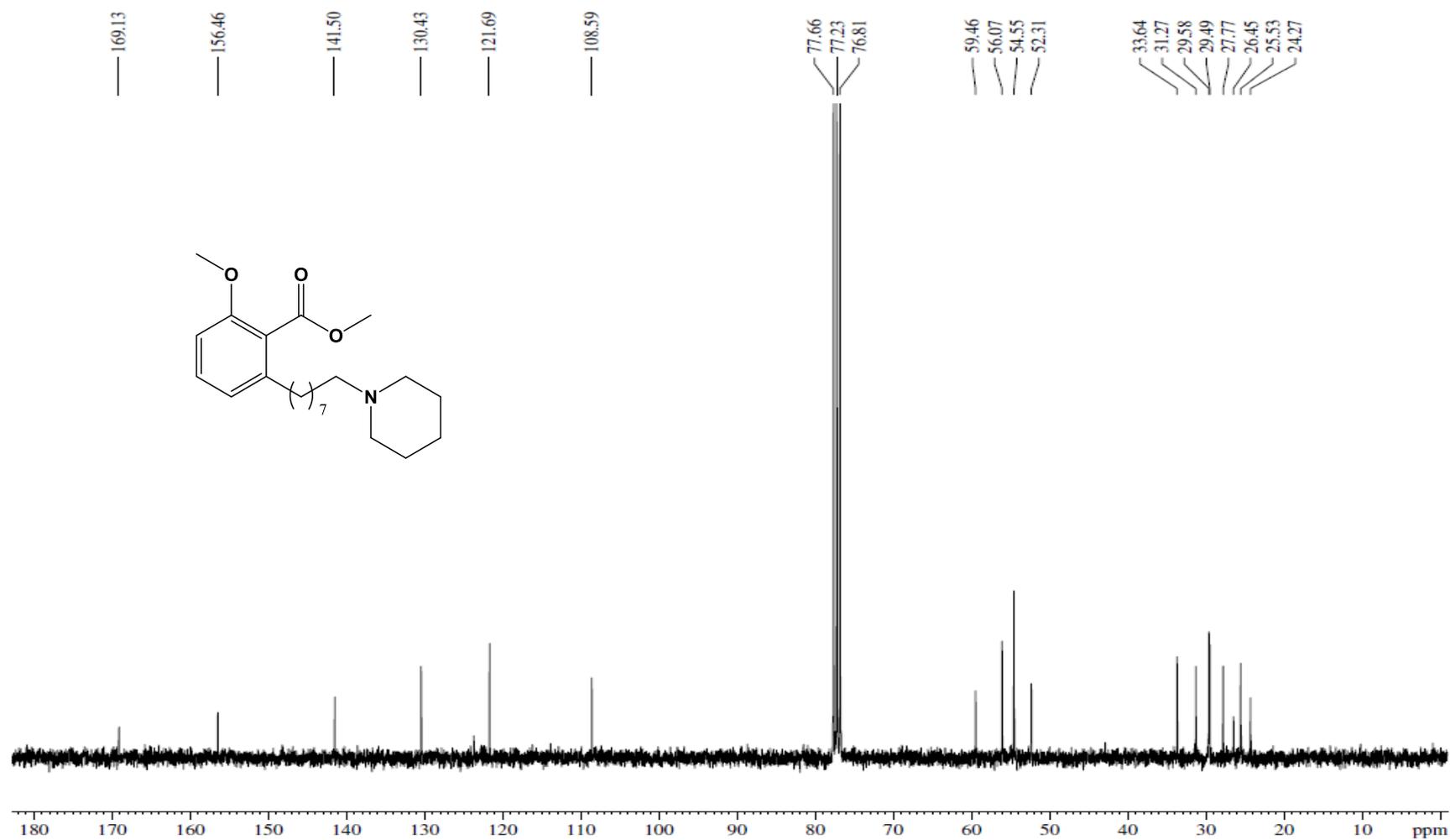
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT410 (29)

ANEXO 8



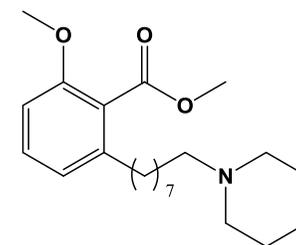
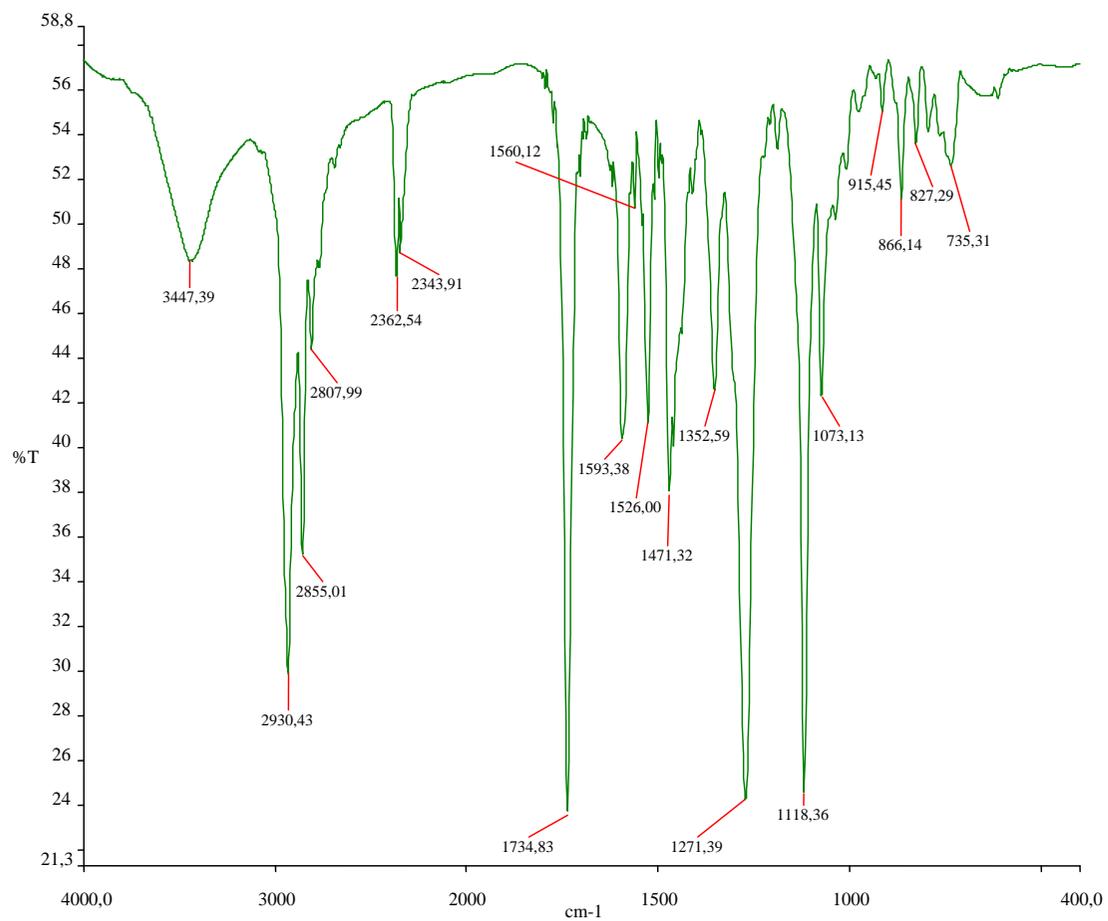
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT410 (29)

ANEXO 9



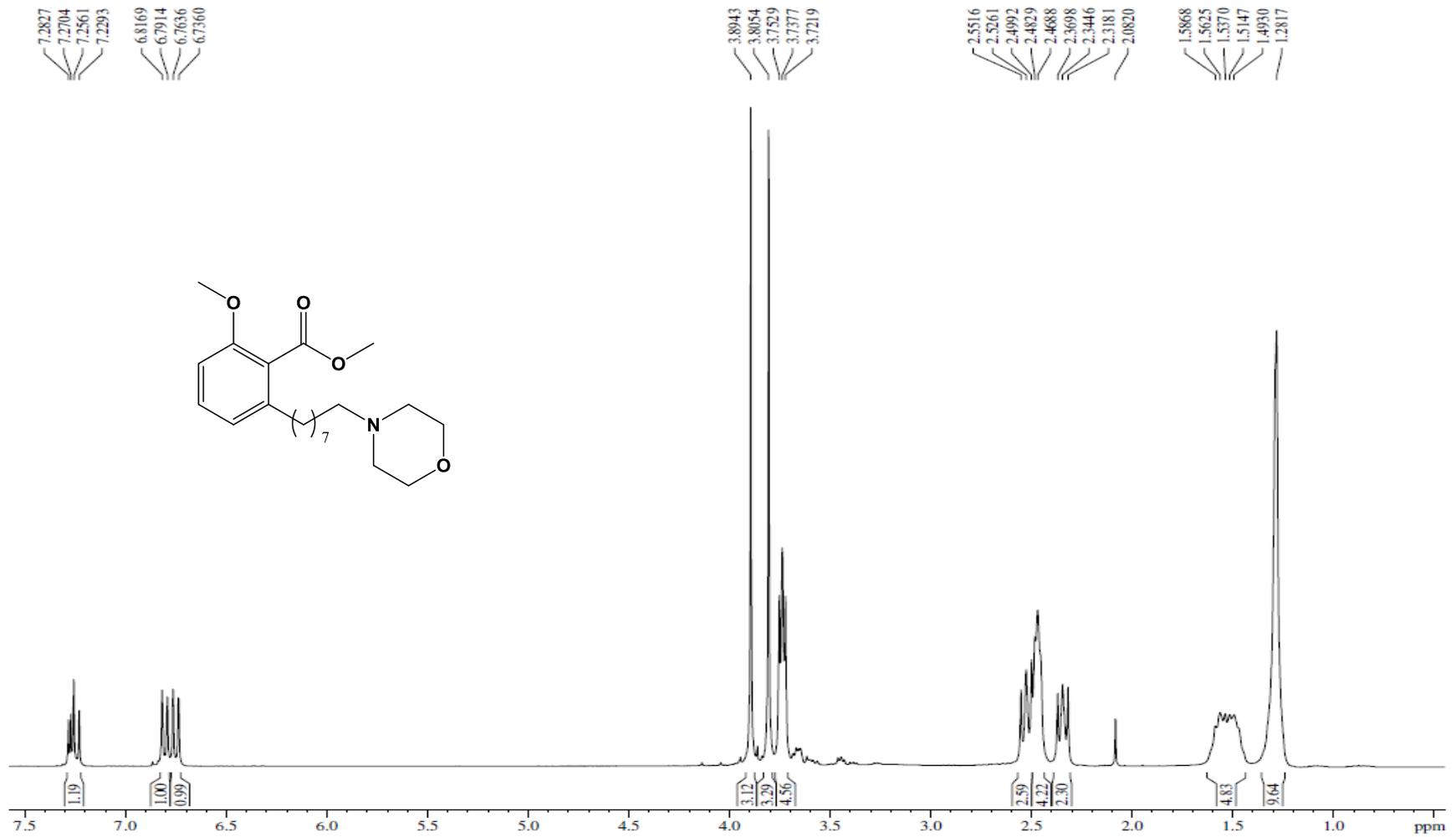
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT410 (29)

ANEXO 10



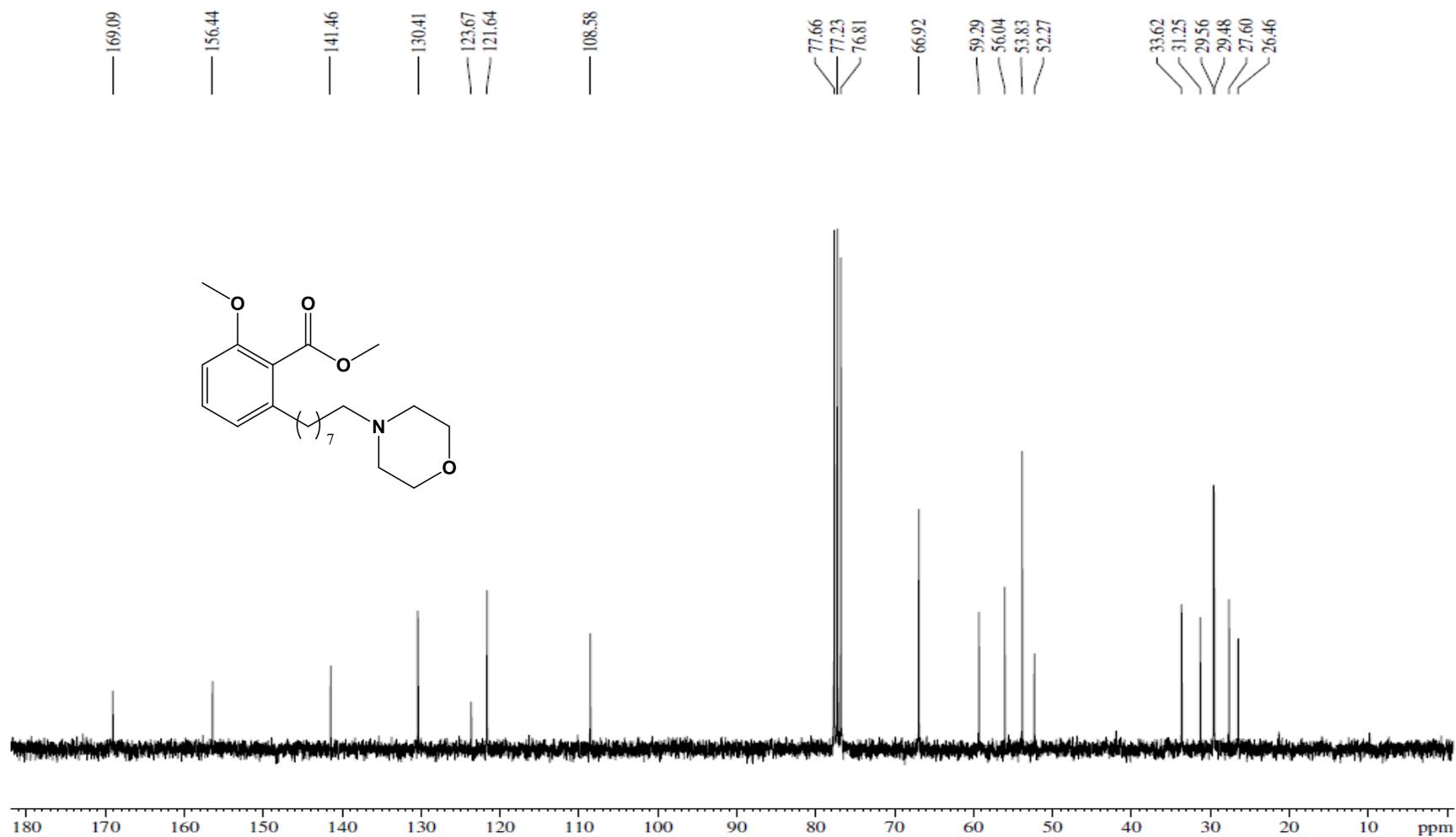
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT411 (30)

ANEXO 11



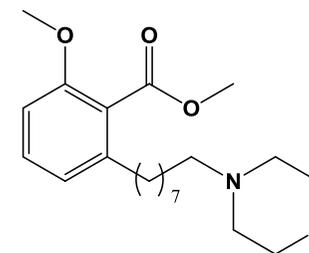
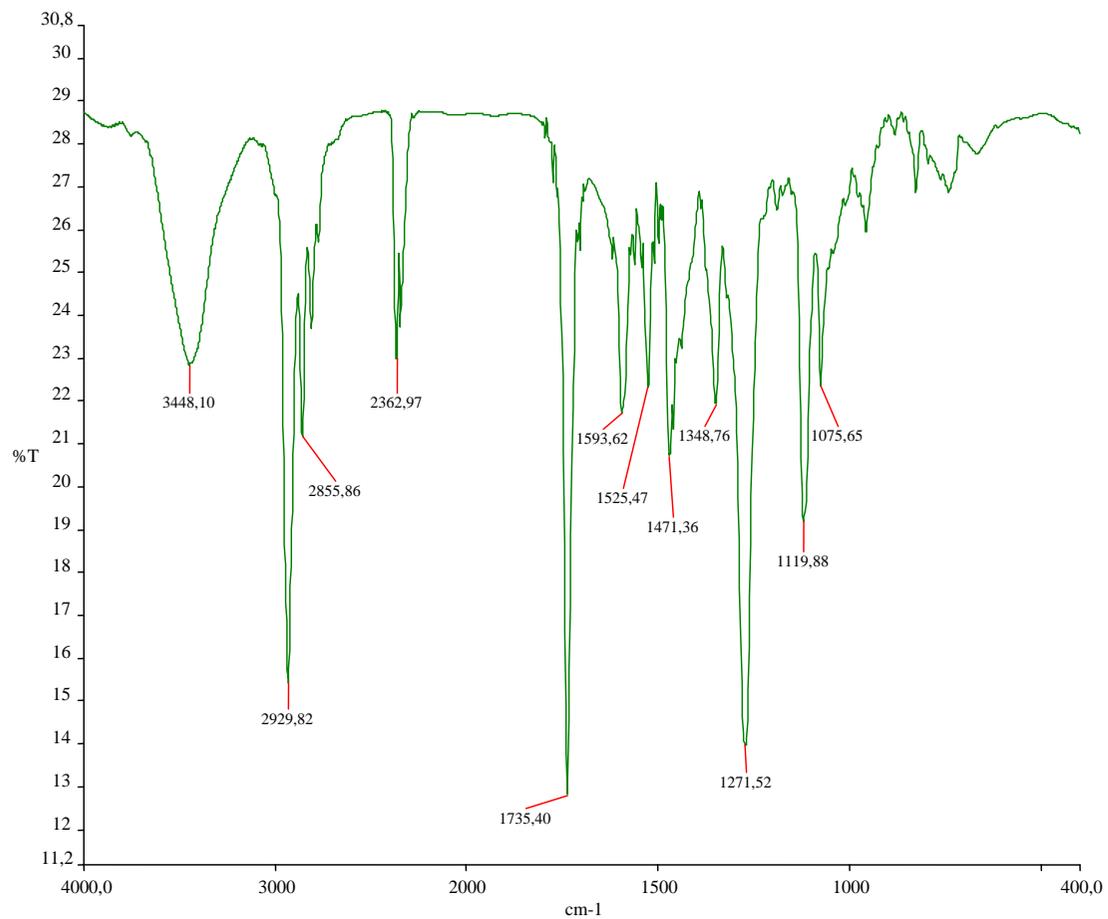
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT411 (30)

ANEXO 12



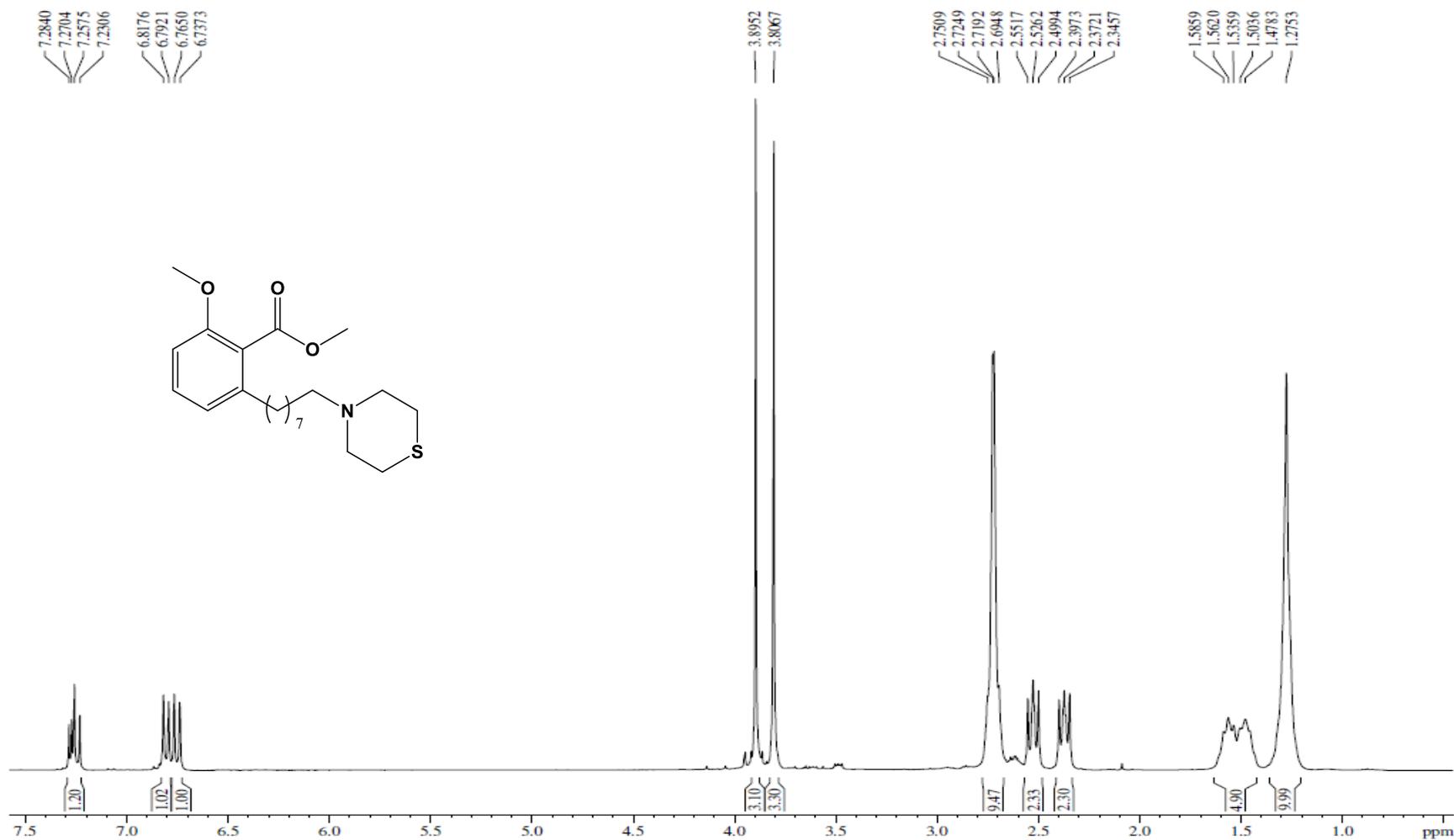
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT411 (30)

ANEXO 13



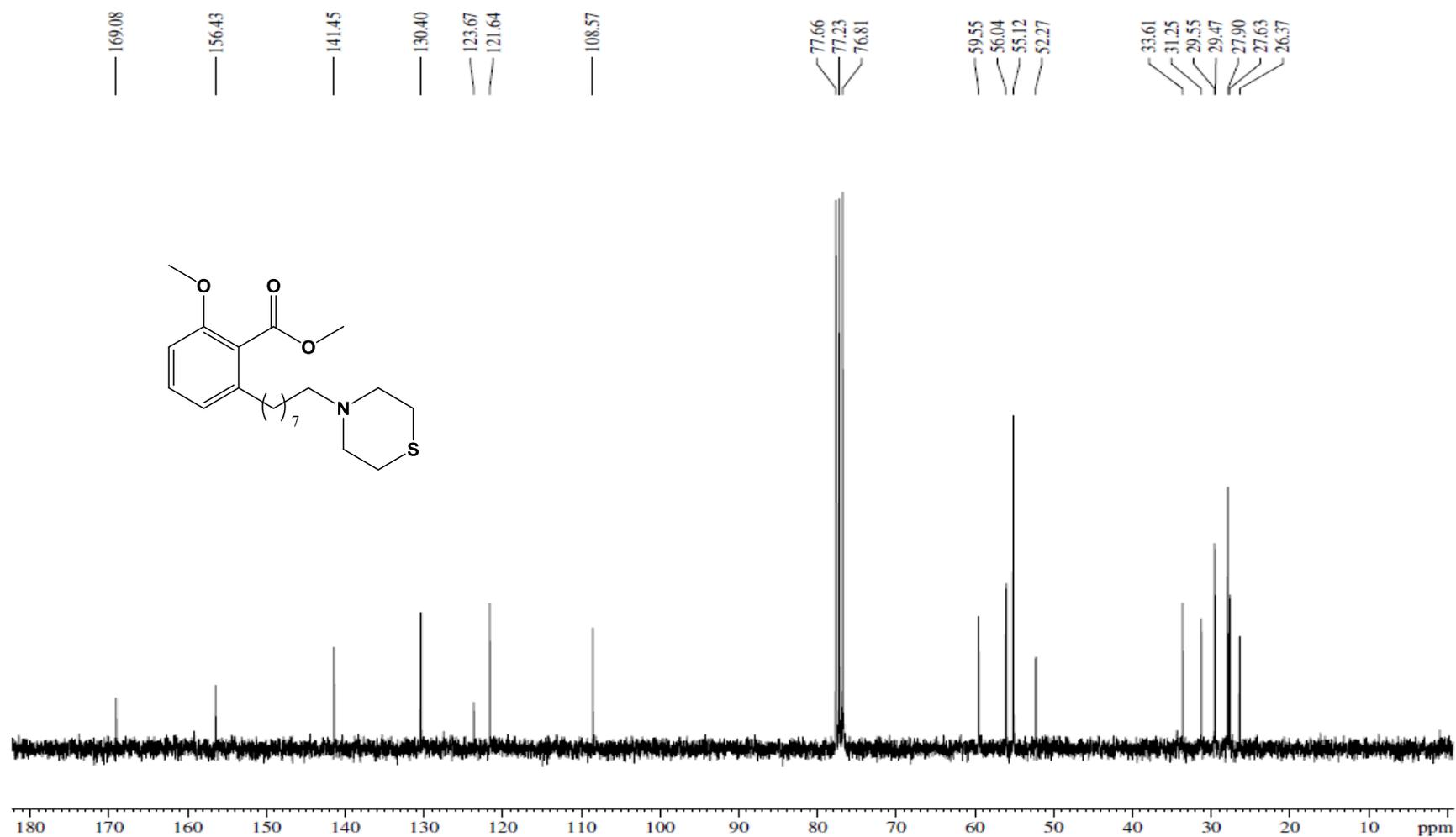
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT412 (31)

ANEXO 14



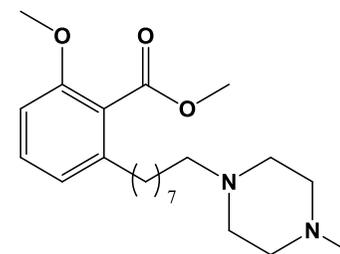
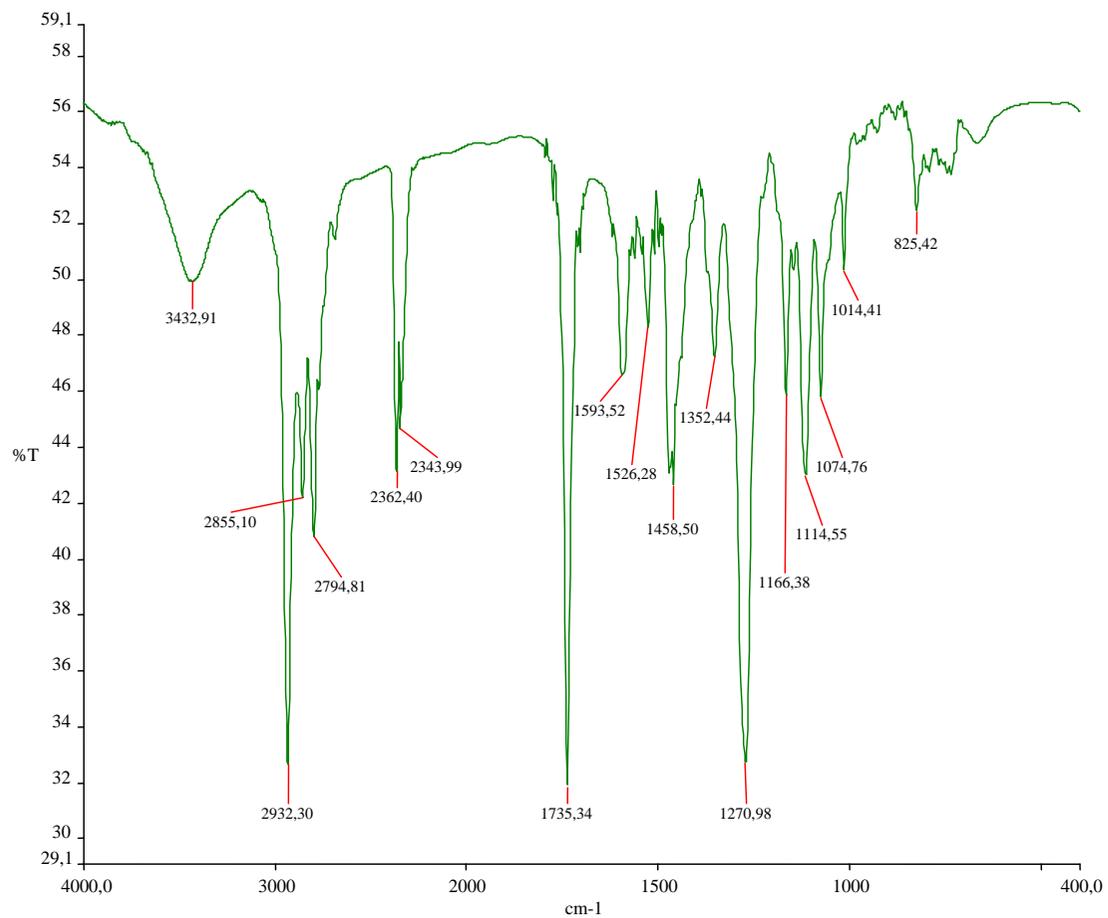
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT412 (31)

ANEXO 15



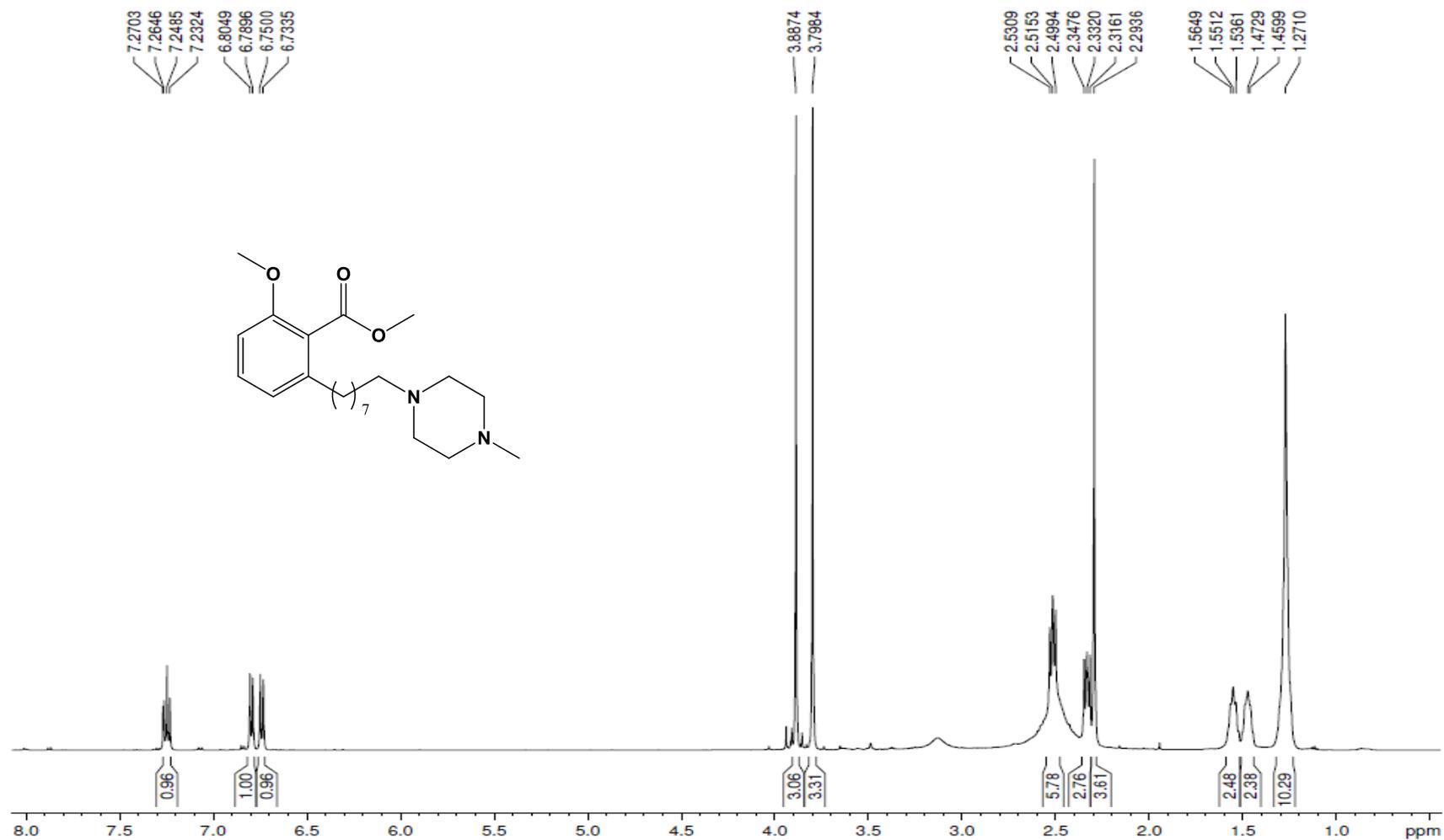
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT412 (31)

ANEXO 16



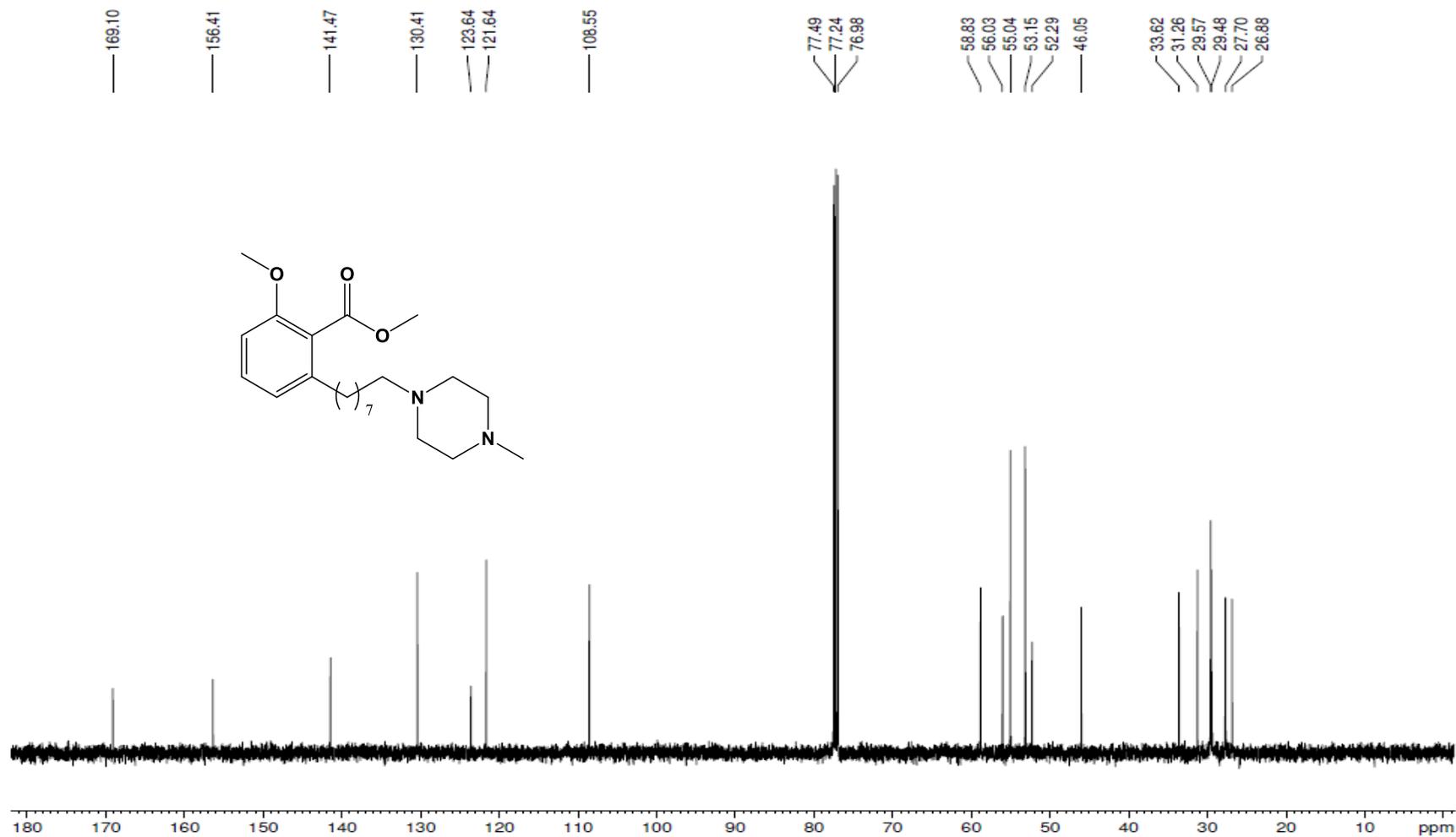
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT414 (21)

ANEXO 17



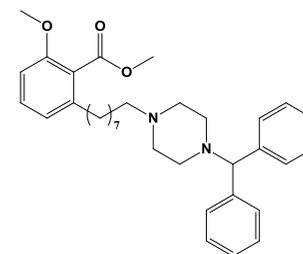
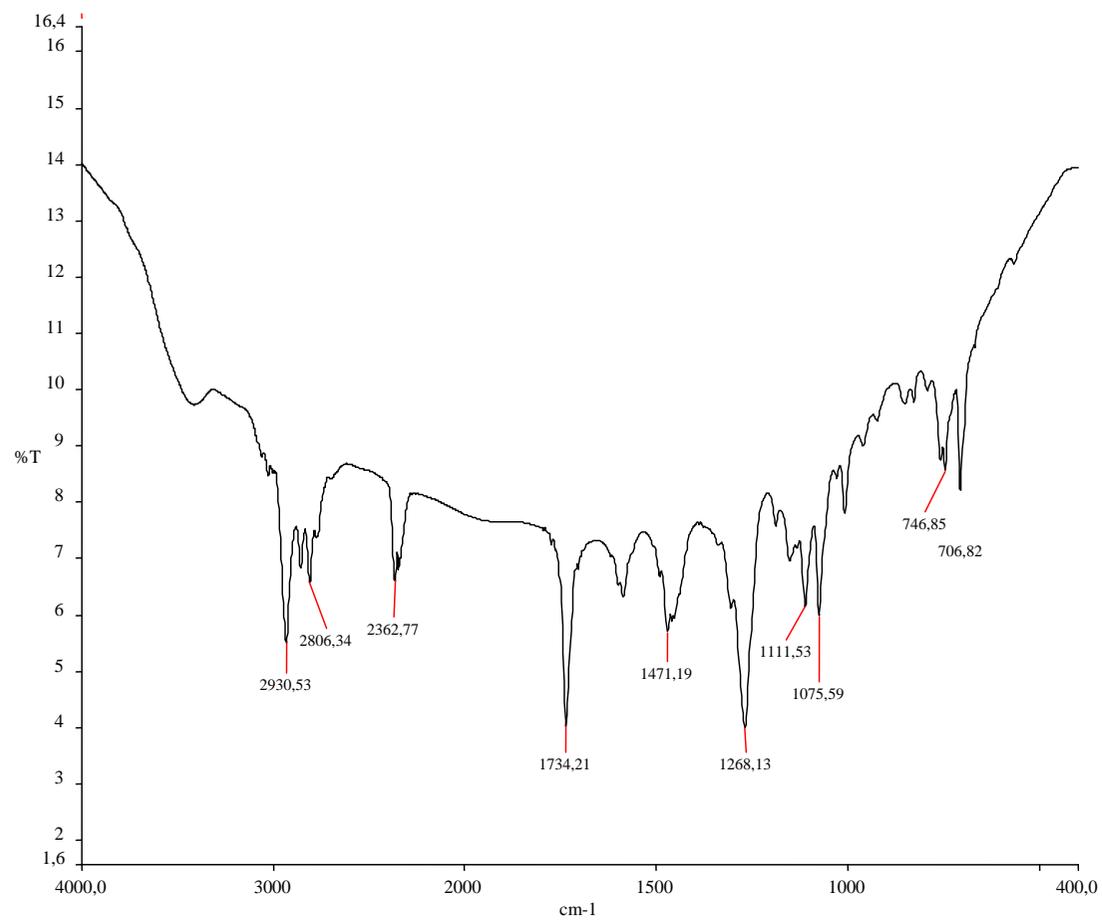
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – LDT414 (32)

ANEXO 18



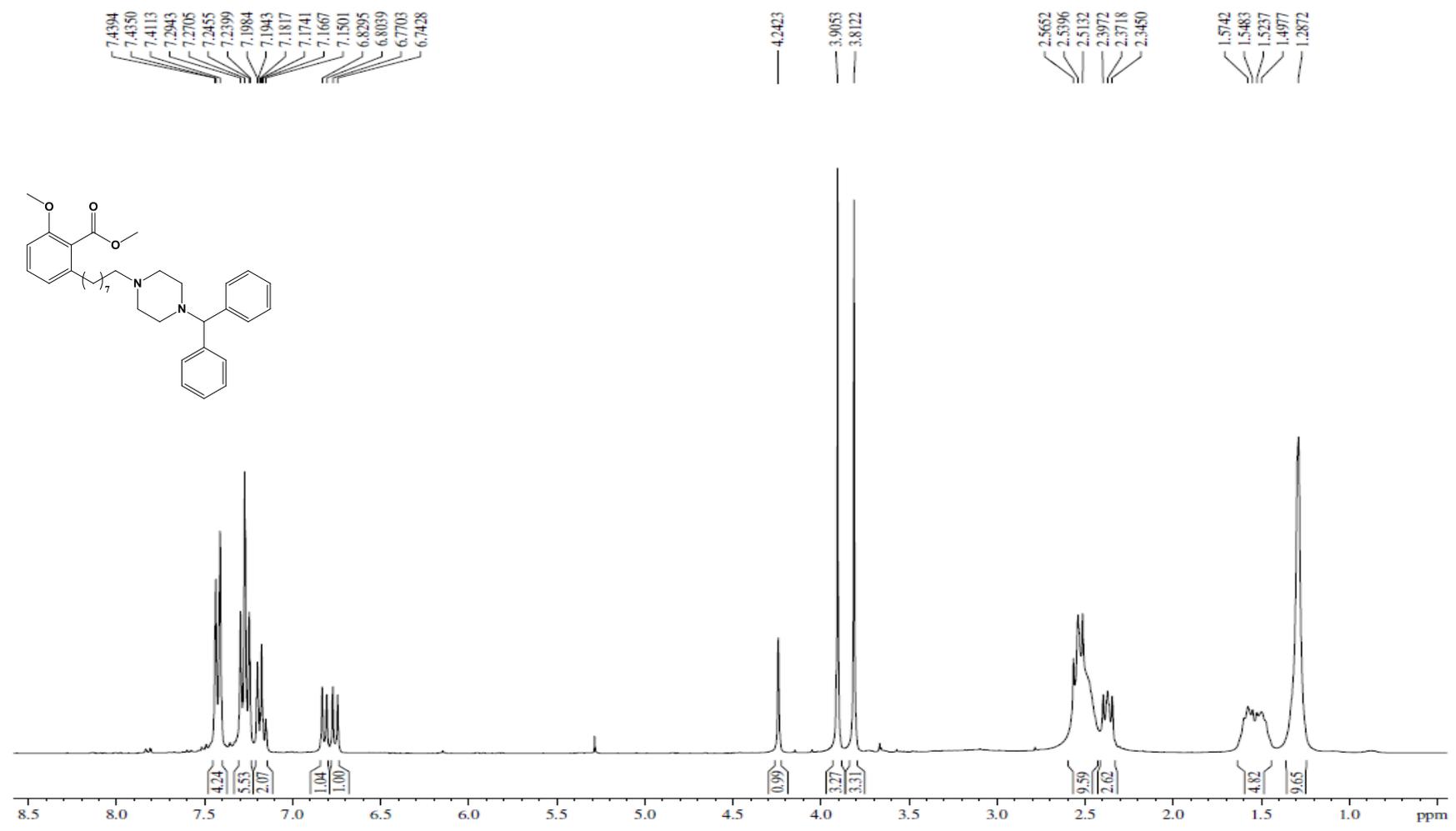
Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – LDT414 (32)

ANEXO 19



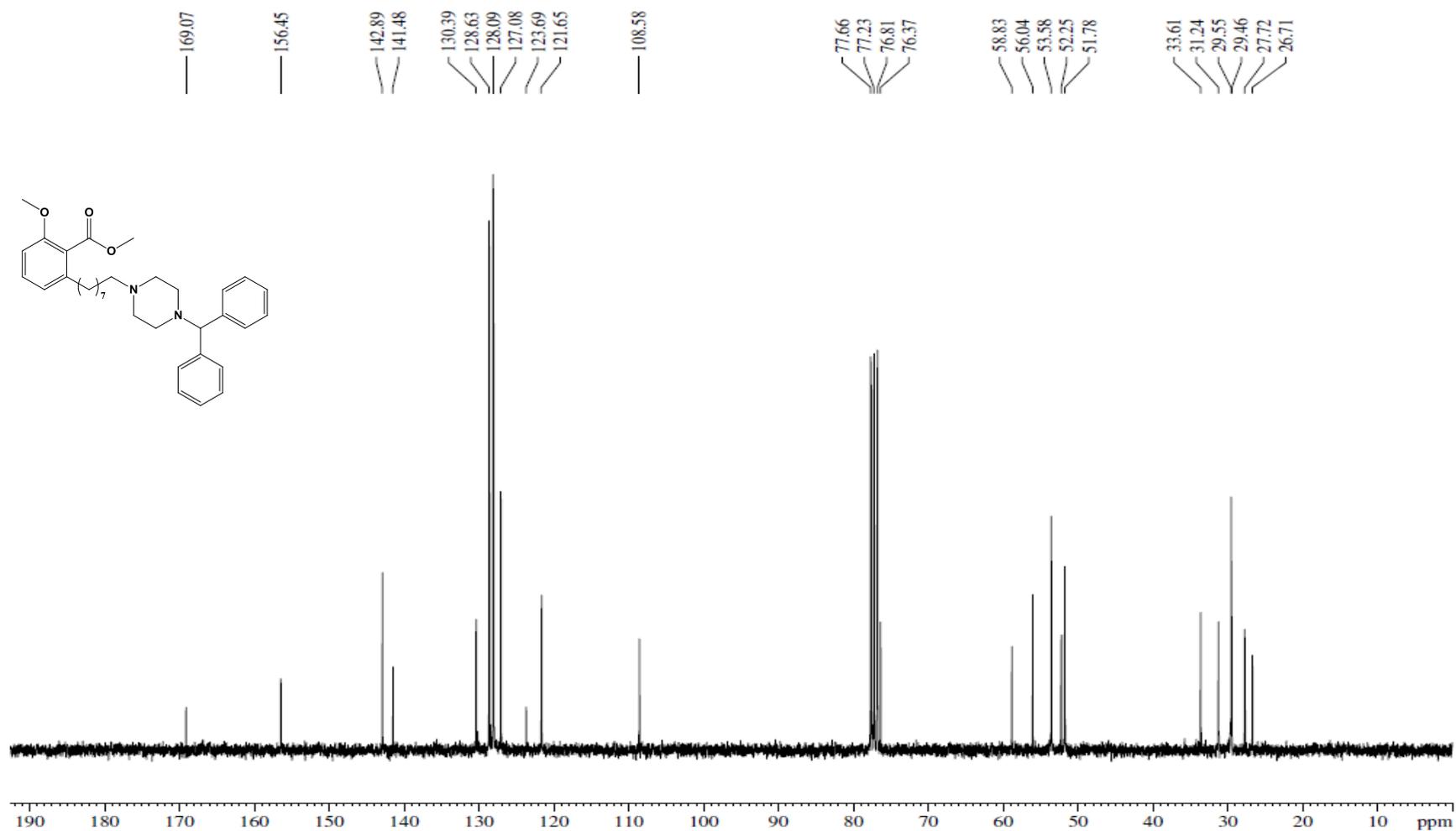
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT416 (33)

ANEXO 20



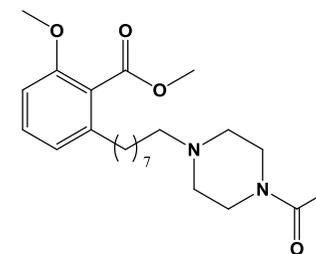
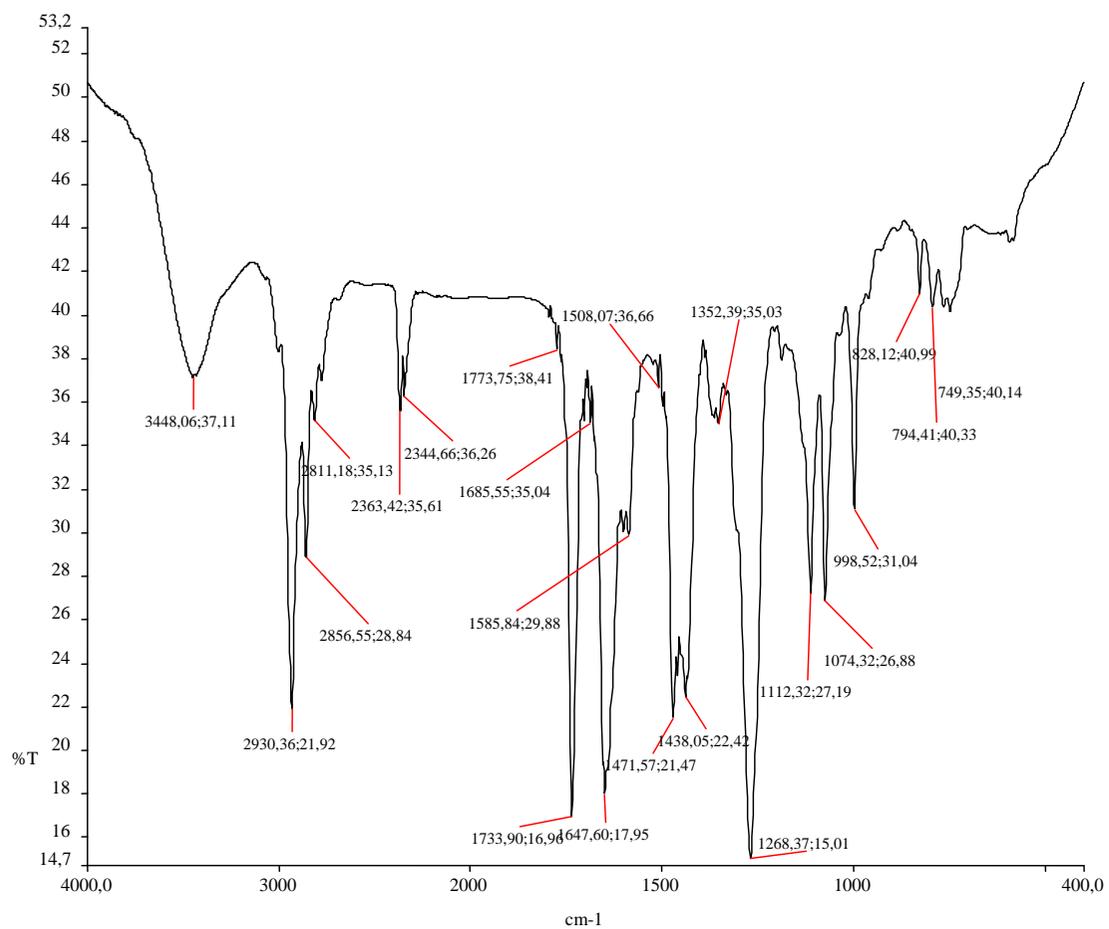
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT416 (33)

ANEXO 21



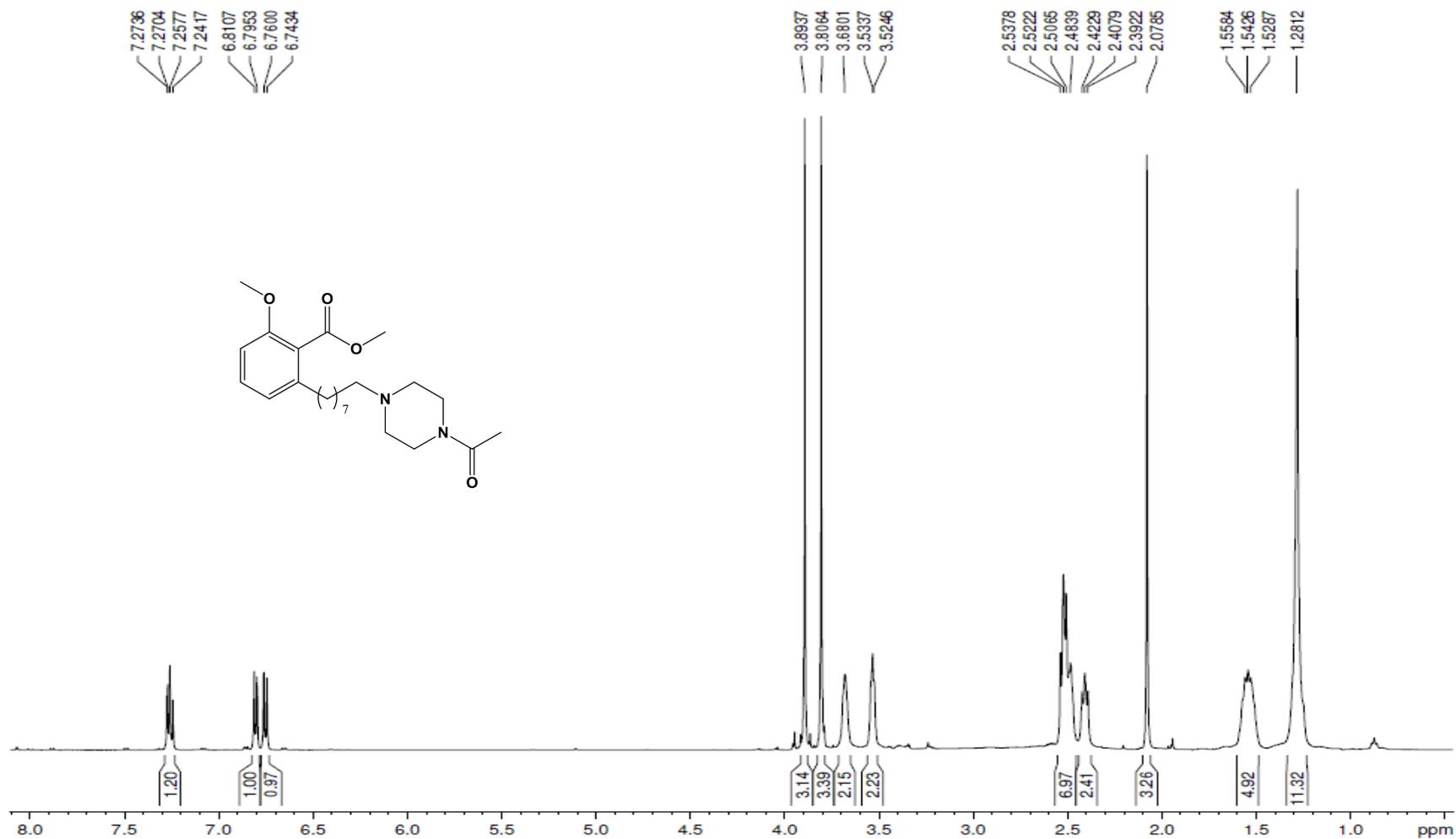
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT416 (33)

ANEXO 22



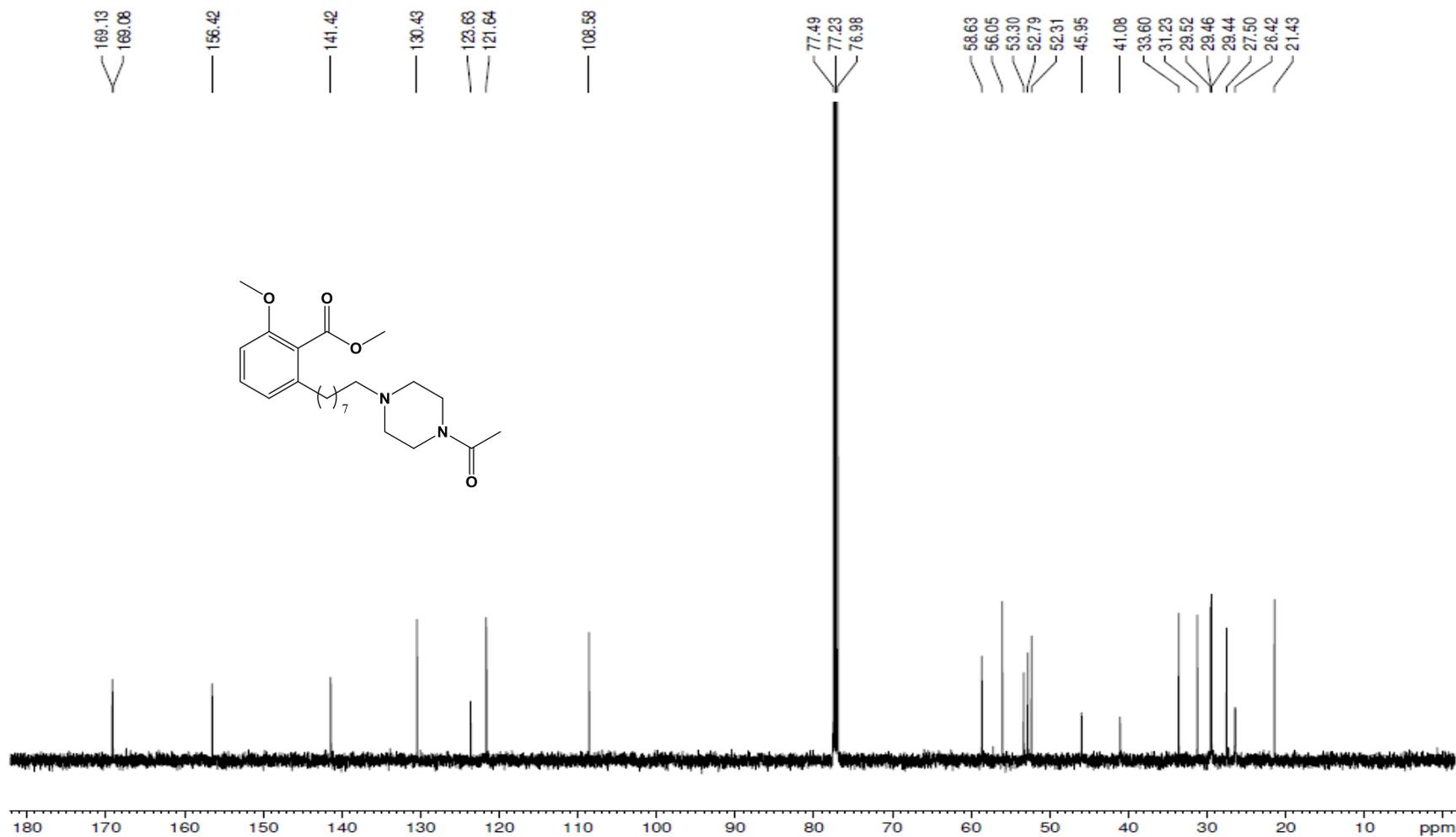
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT417 (34)

ANEXO 23



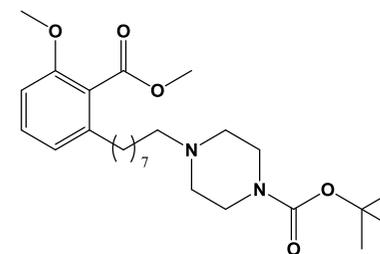
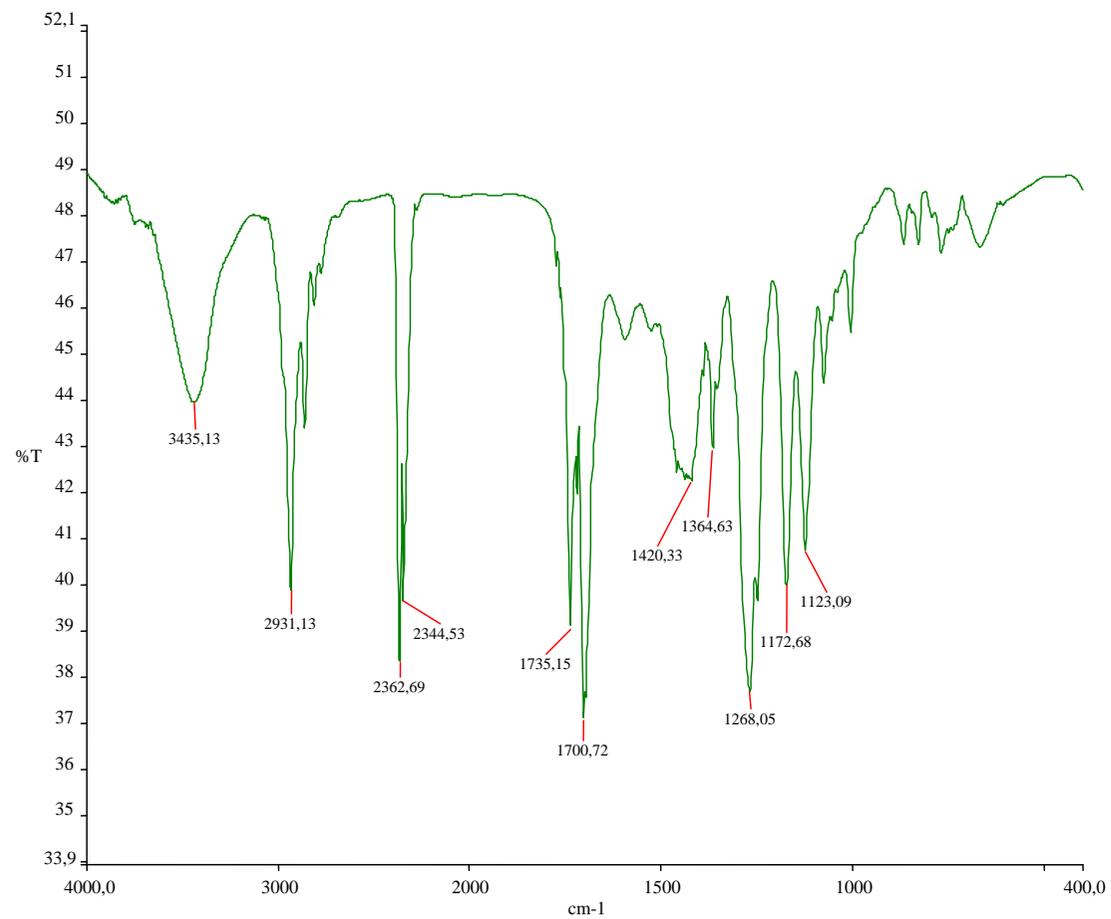
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – LDT417 (34)

ANEXO 24



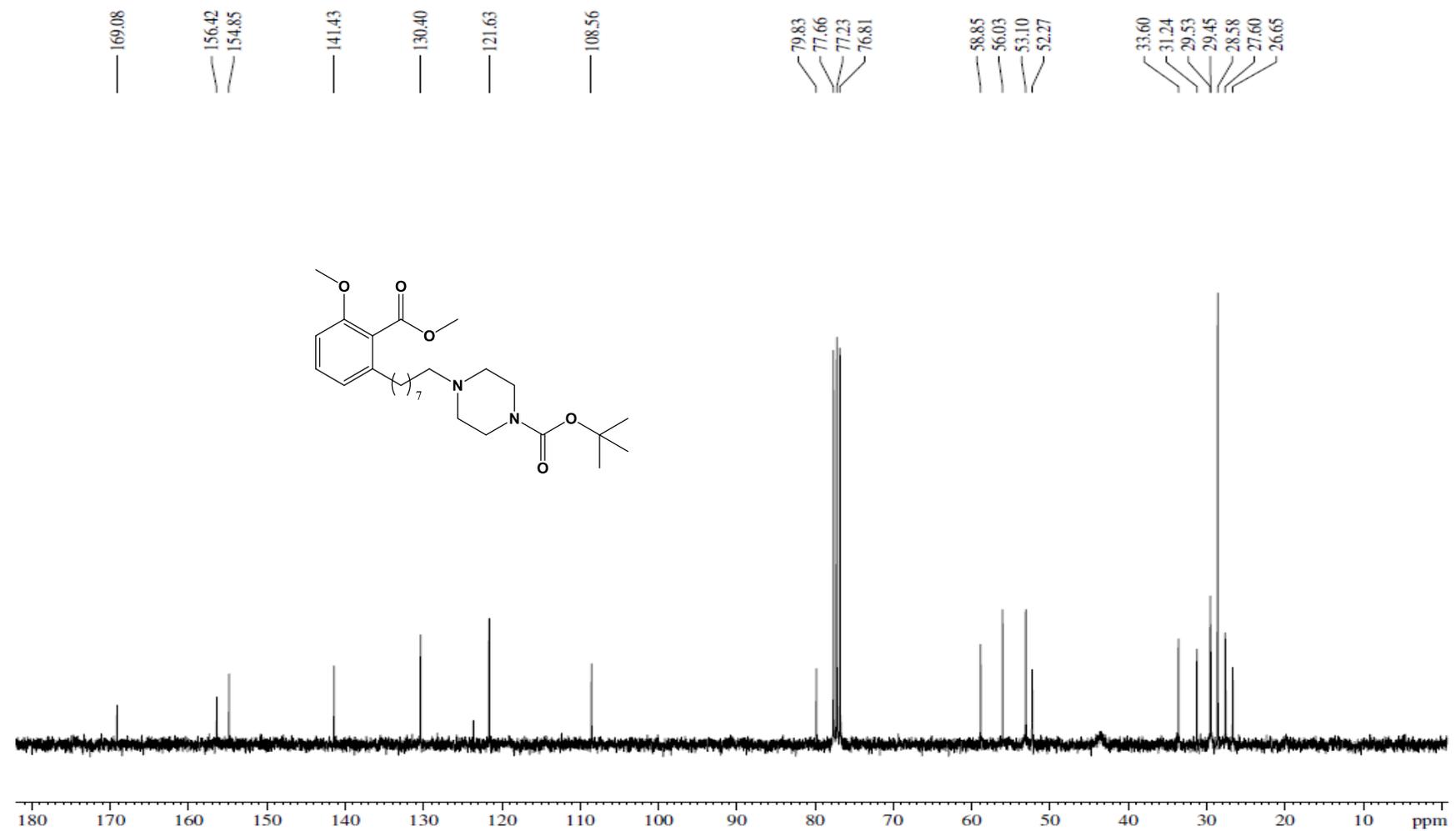
Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – LDT417 (34)

ANEXO 25



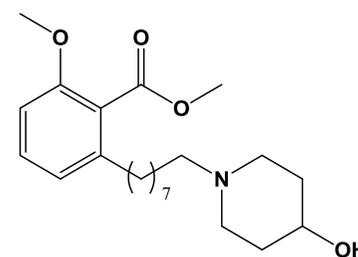
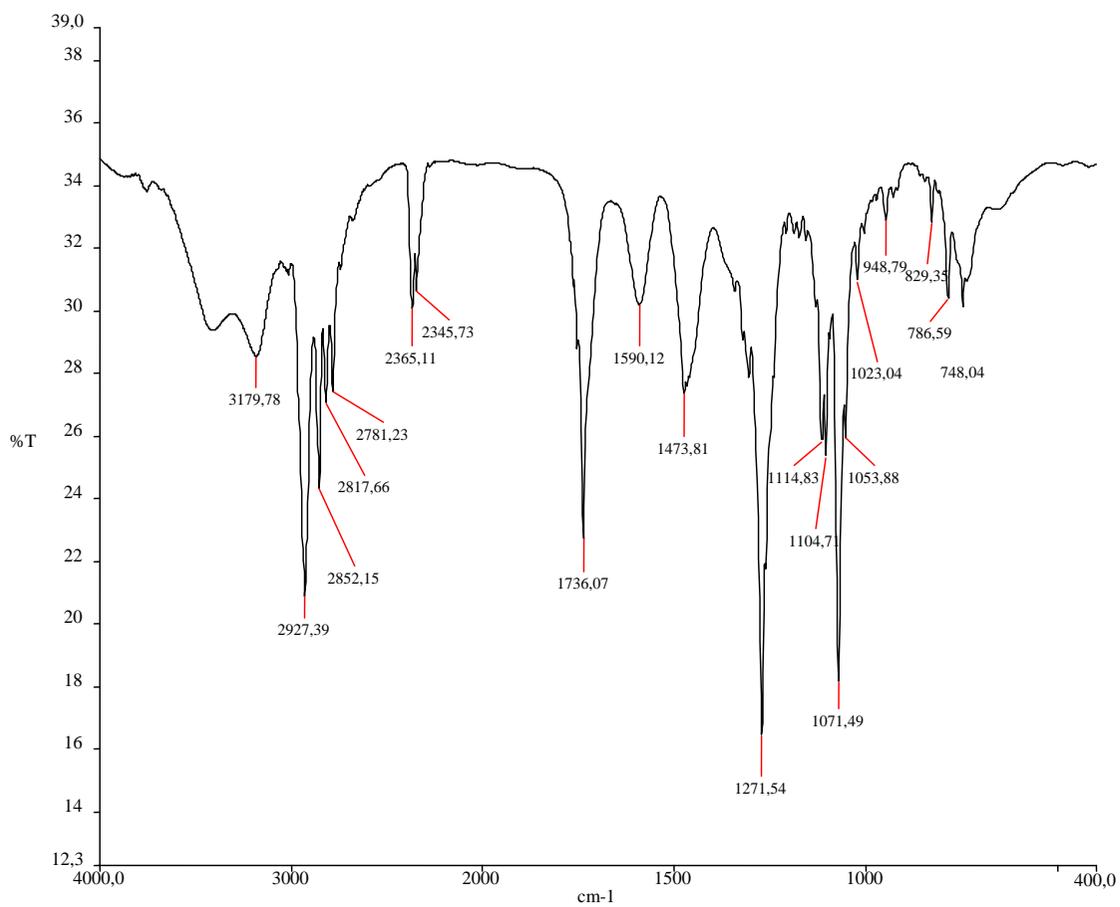
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT419 (35)

ANEXO 27



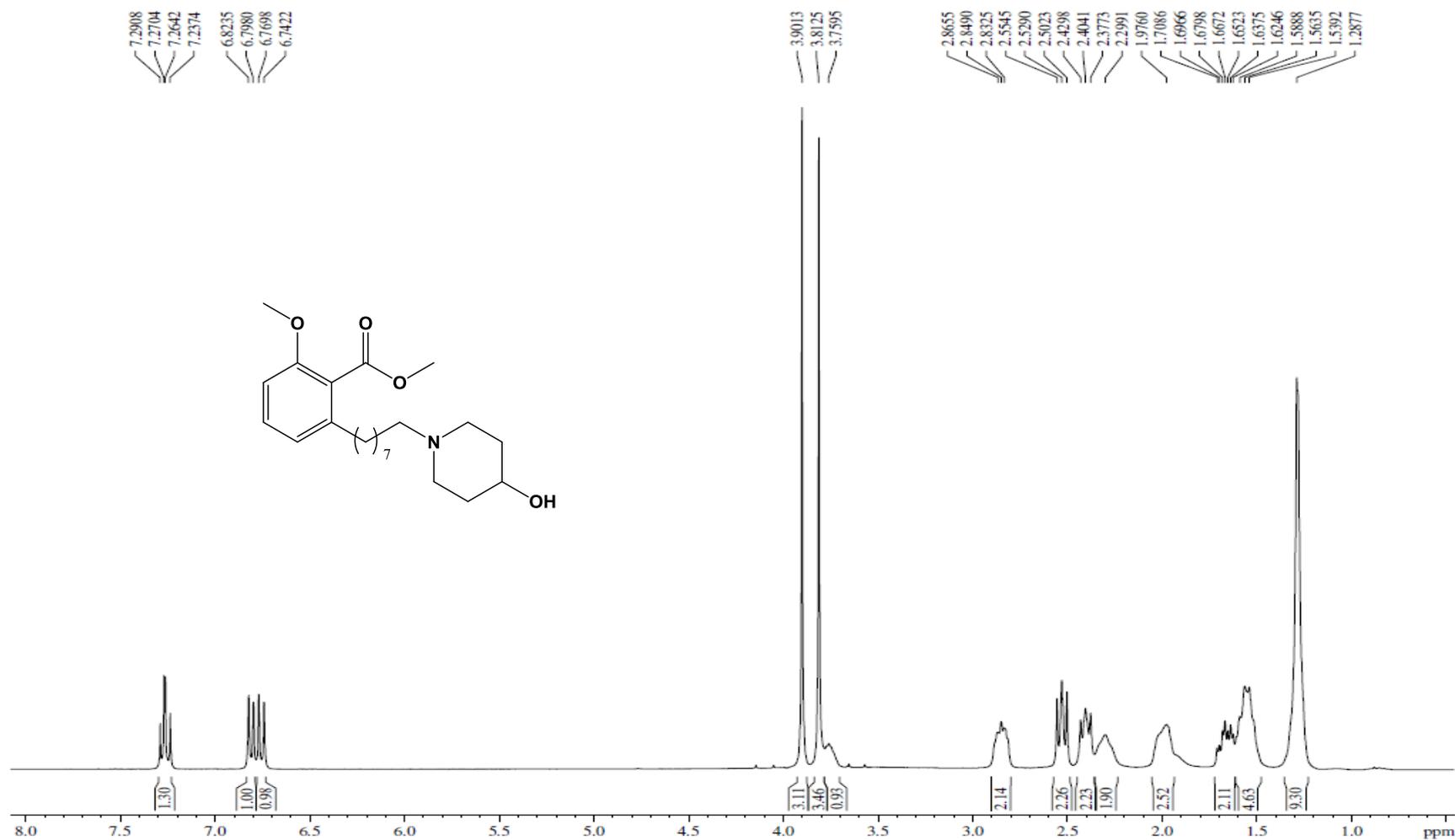
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT419 (35)

ANEXO 28



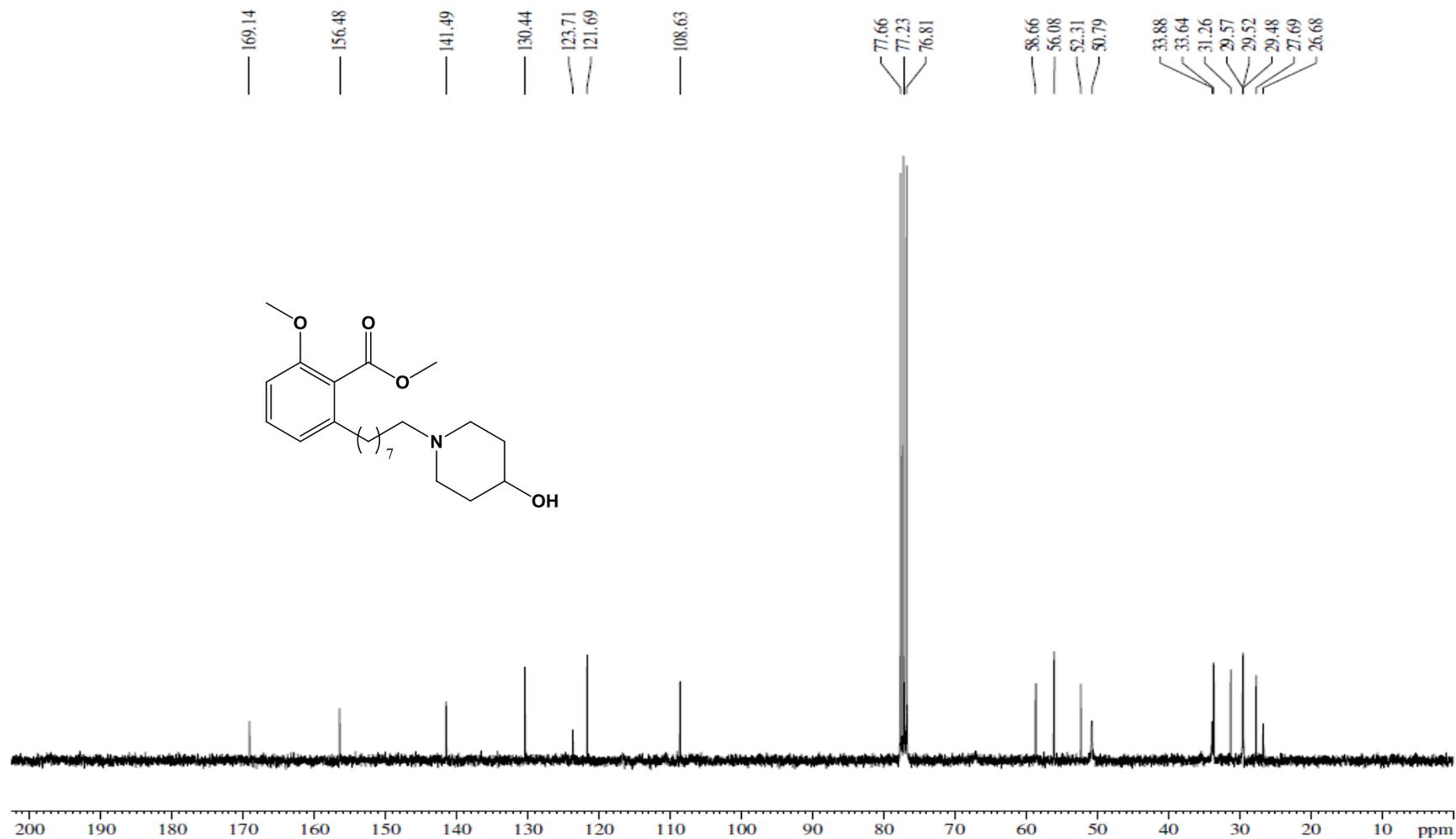
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT420 (36)

ANEXO 29



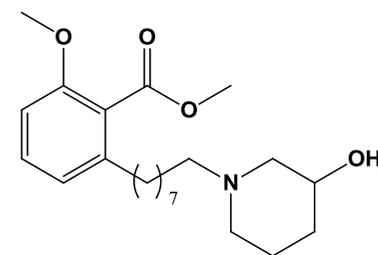
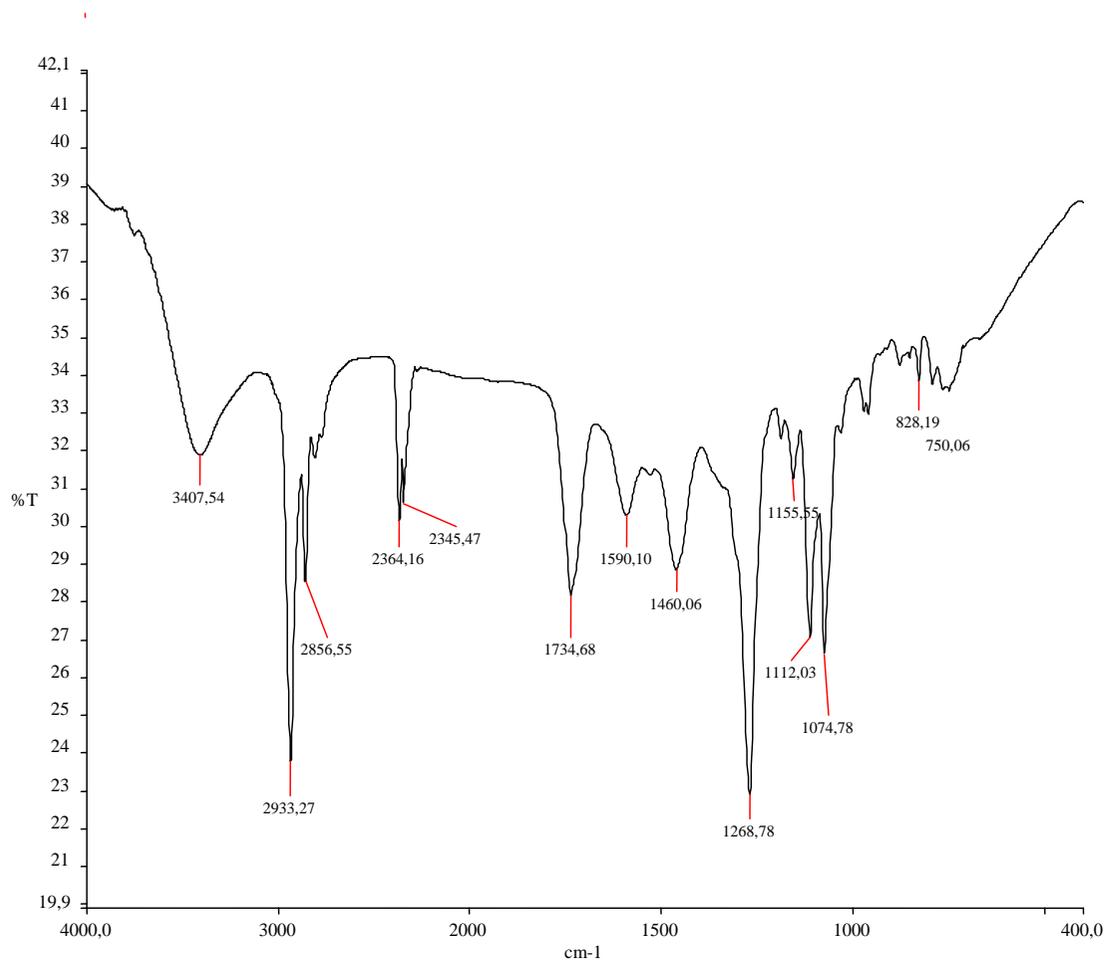
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT420 (36)

ANEXO 30



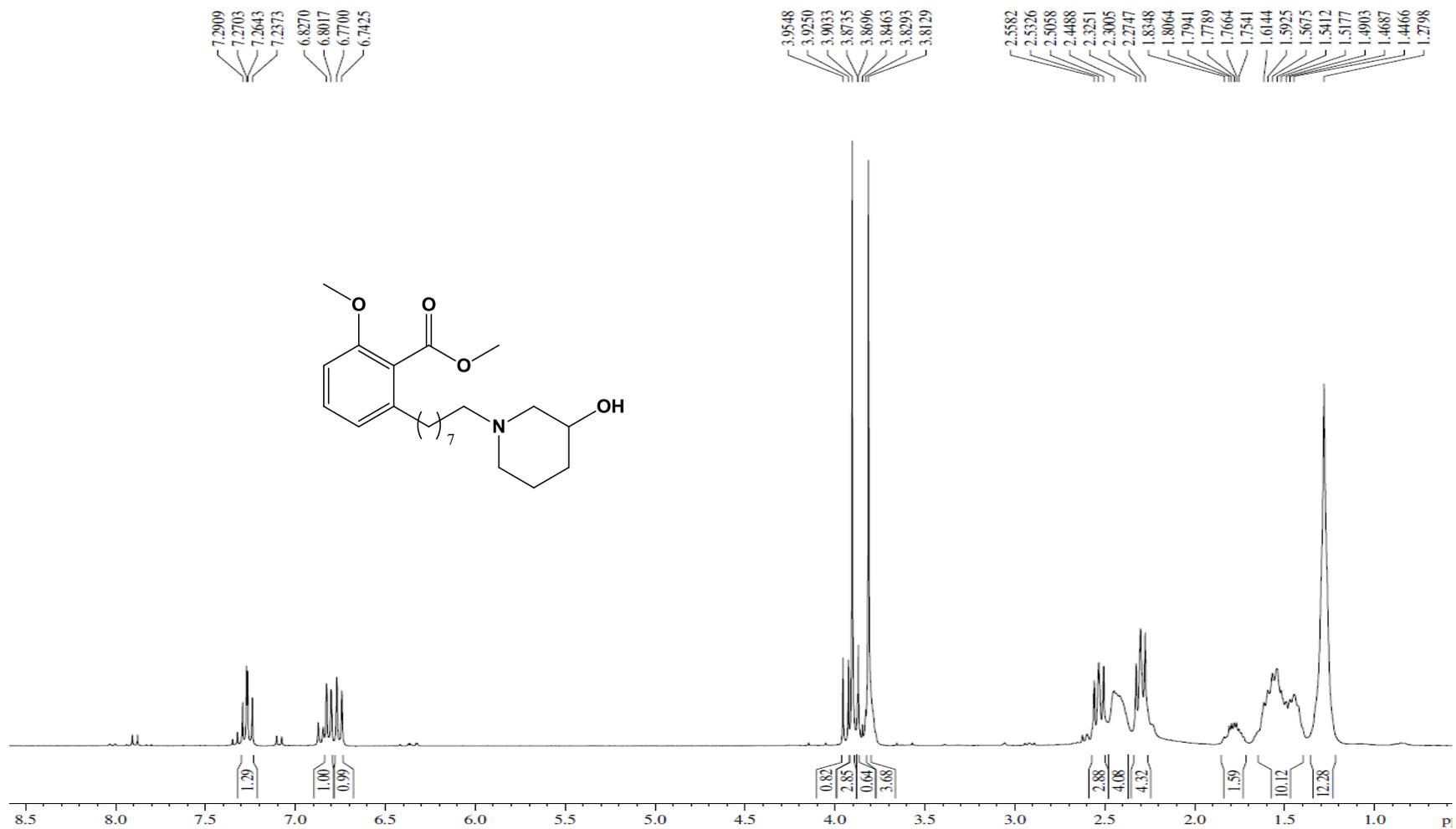
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT420 (36)

ANEXO 31



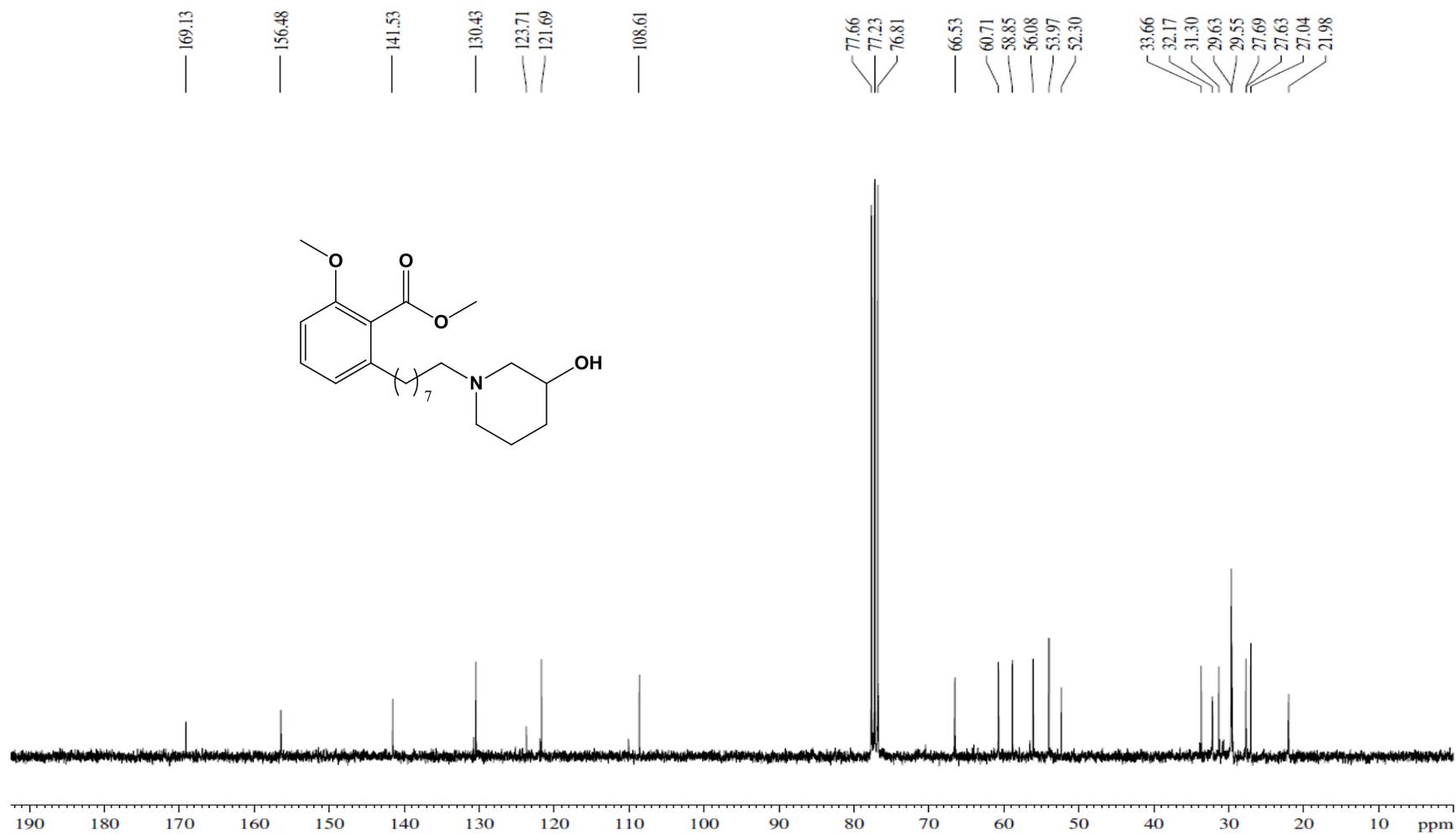
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT423 (37)

ANEXO 32



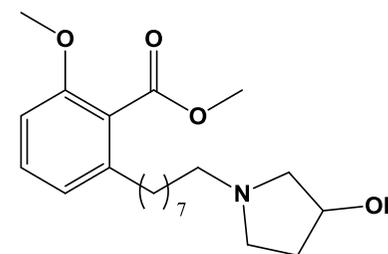
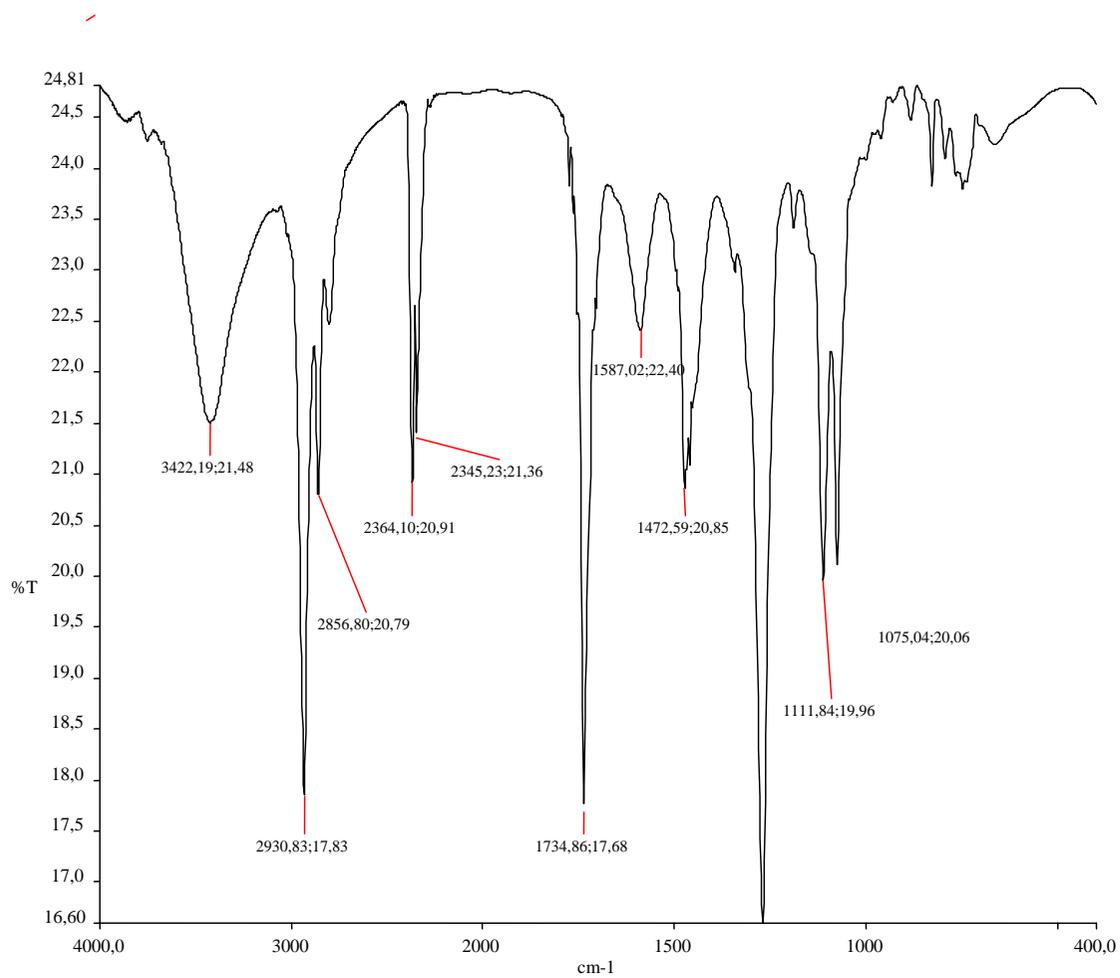
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT423 (37)

ANEXO 33



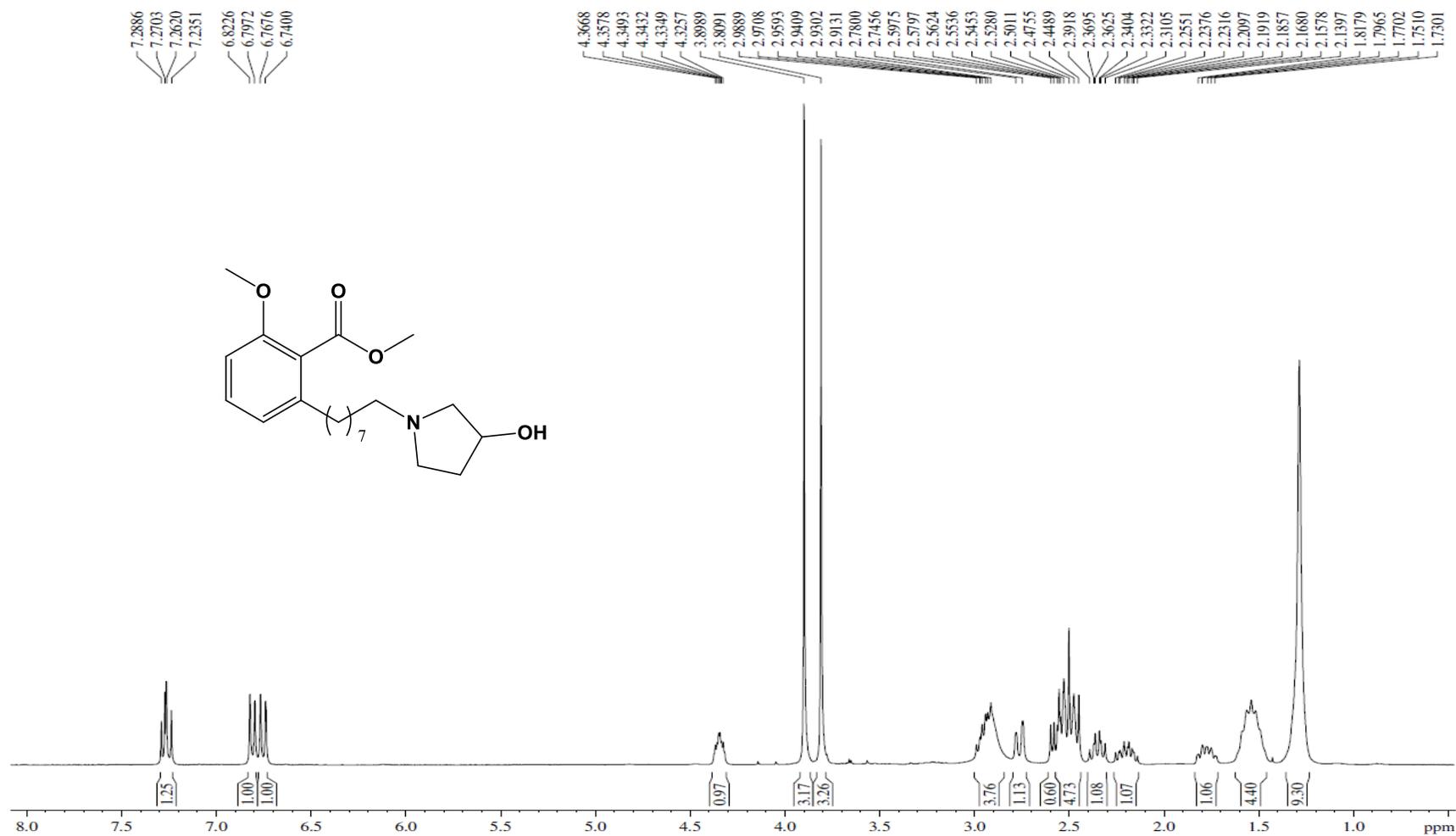
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT423 (37)

ANEXO 34



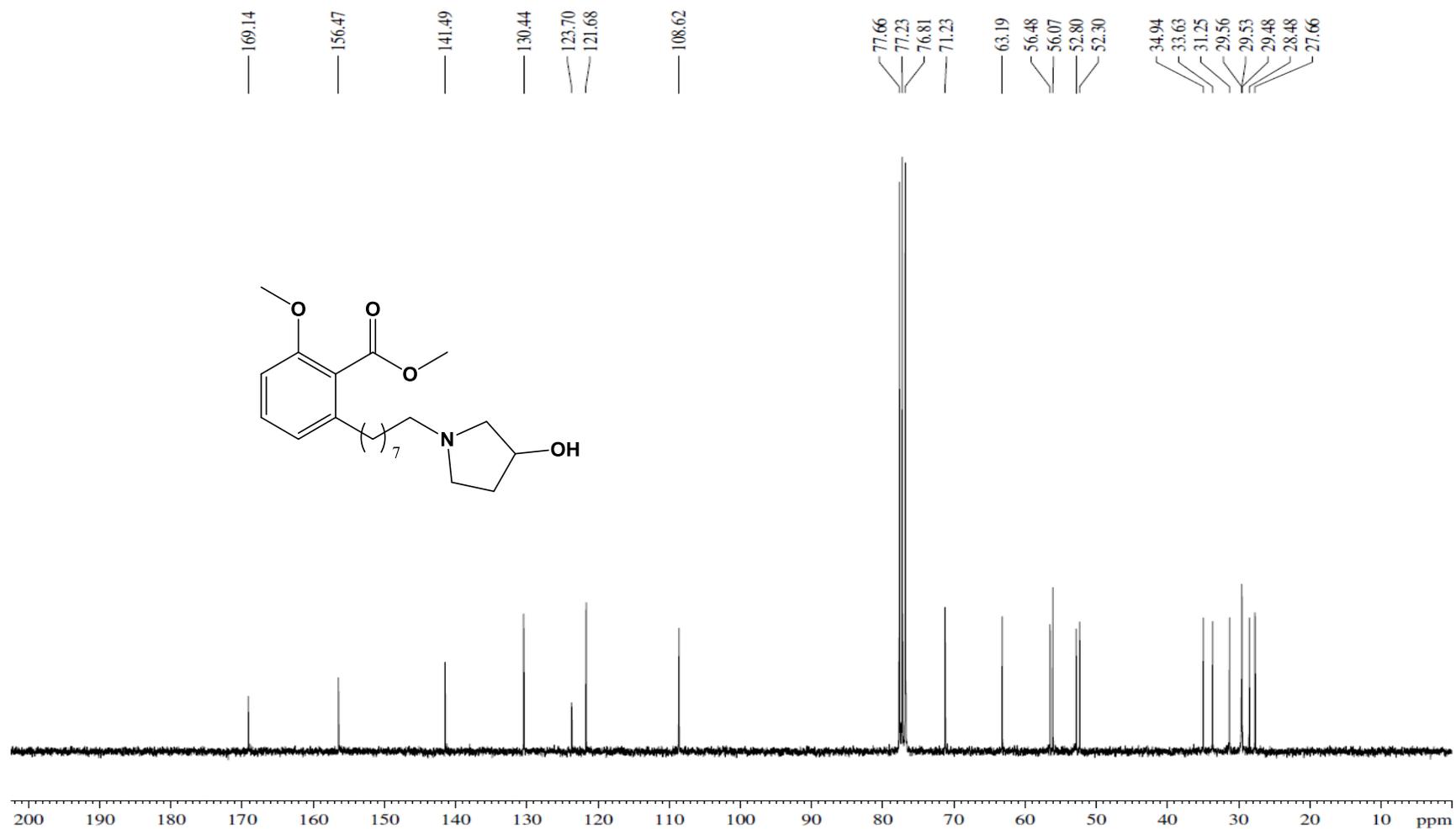
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT426 (38)

ANEXO 35



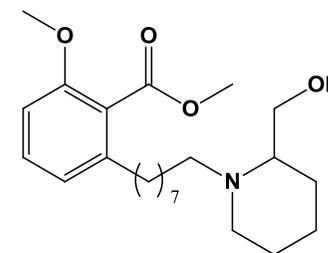
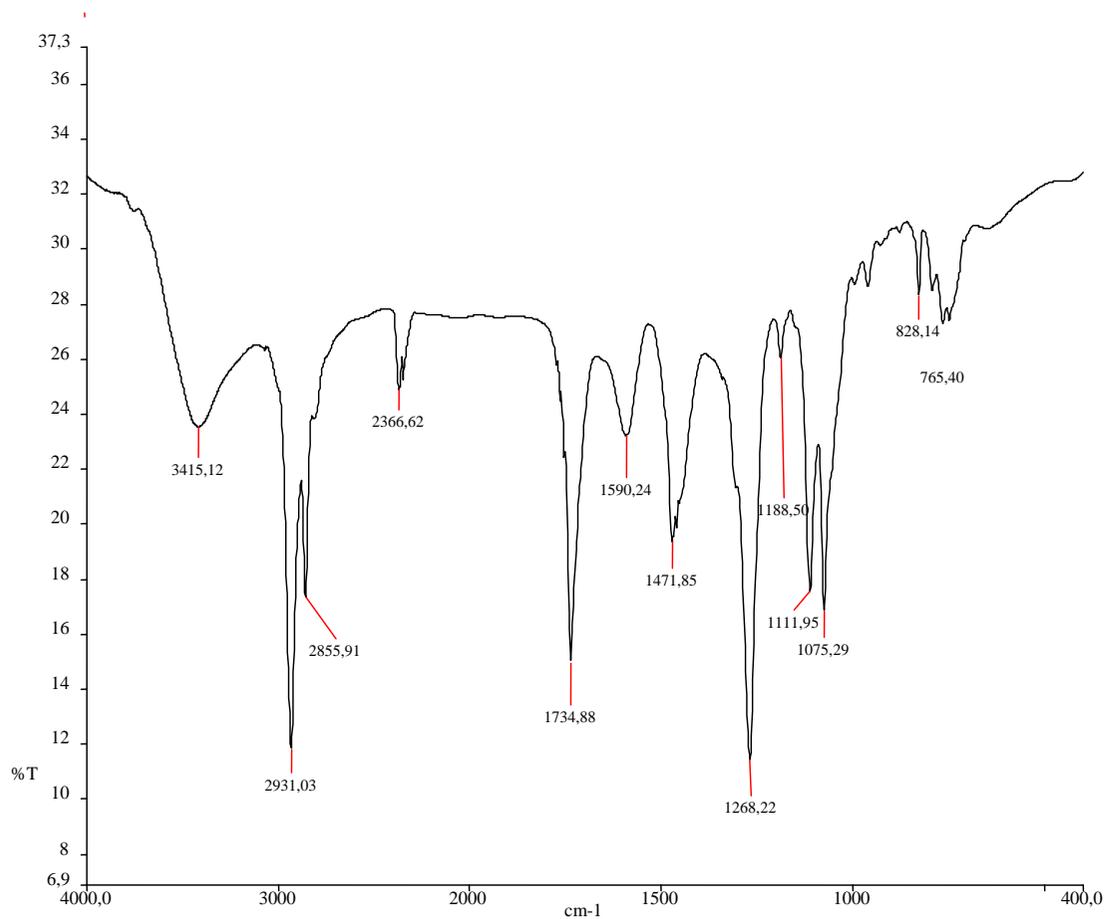
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT426 (38)

ANEXO 36



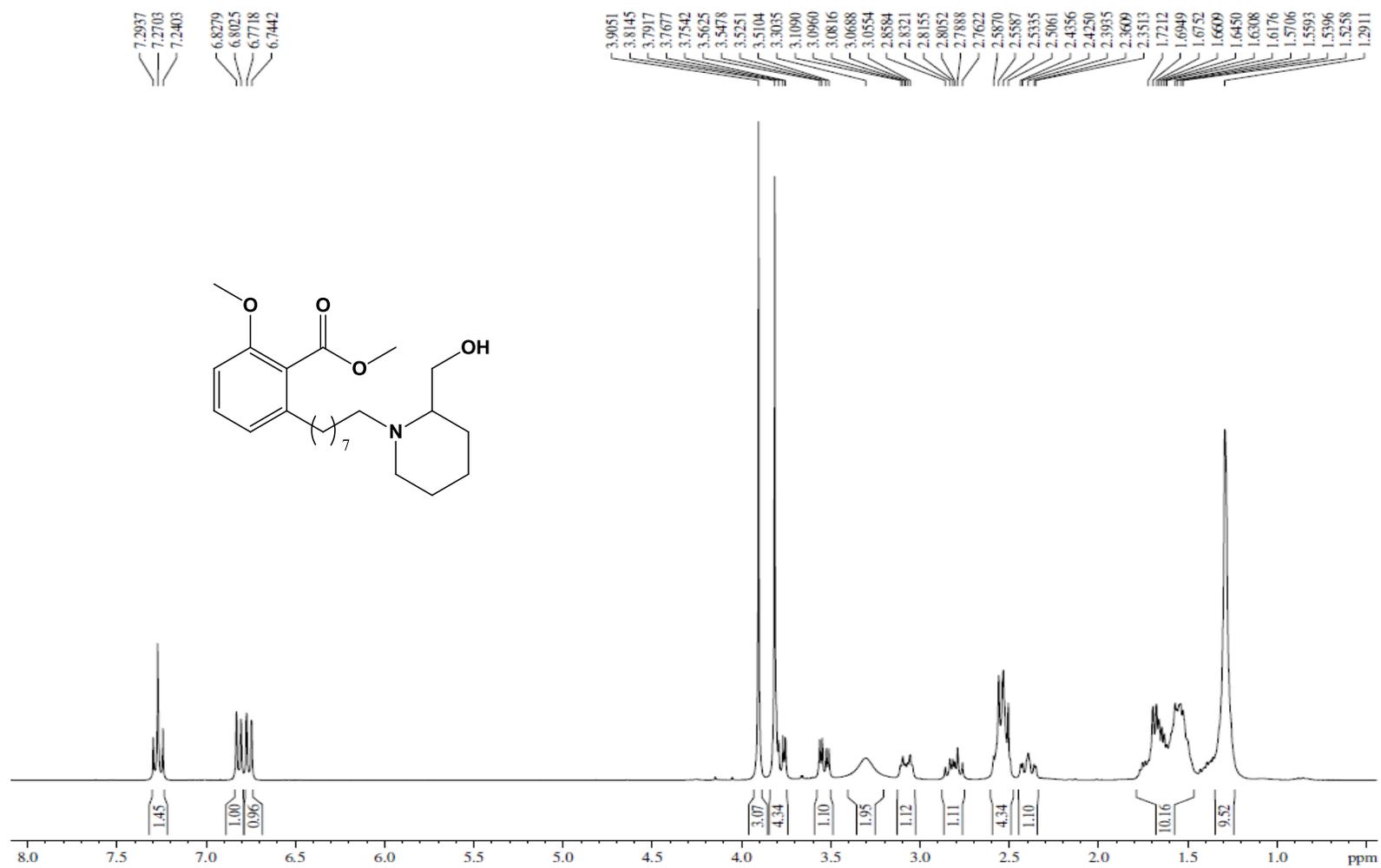
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT426 (38)

ANEXO 37



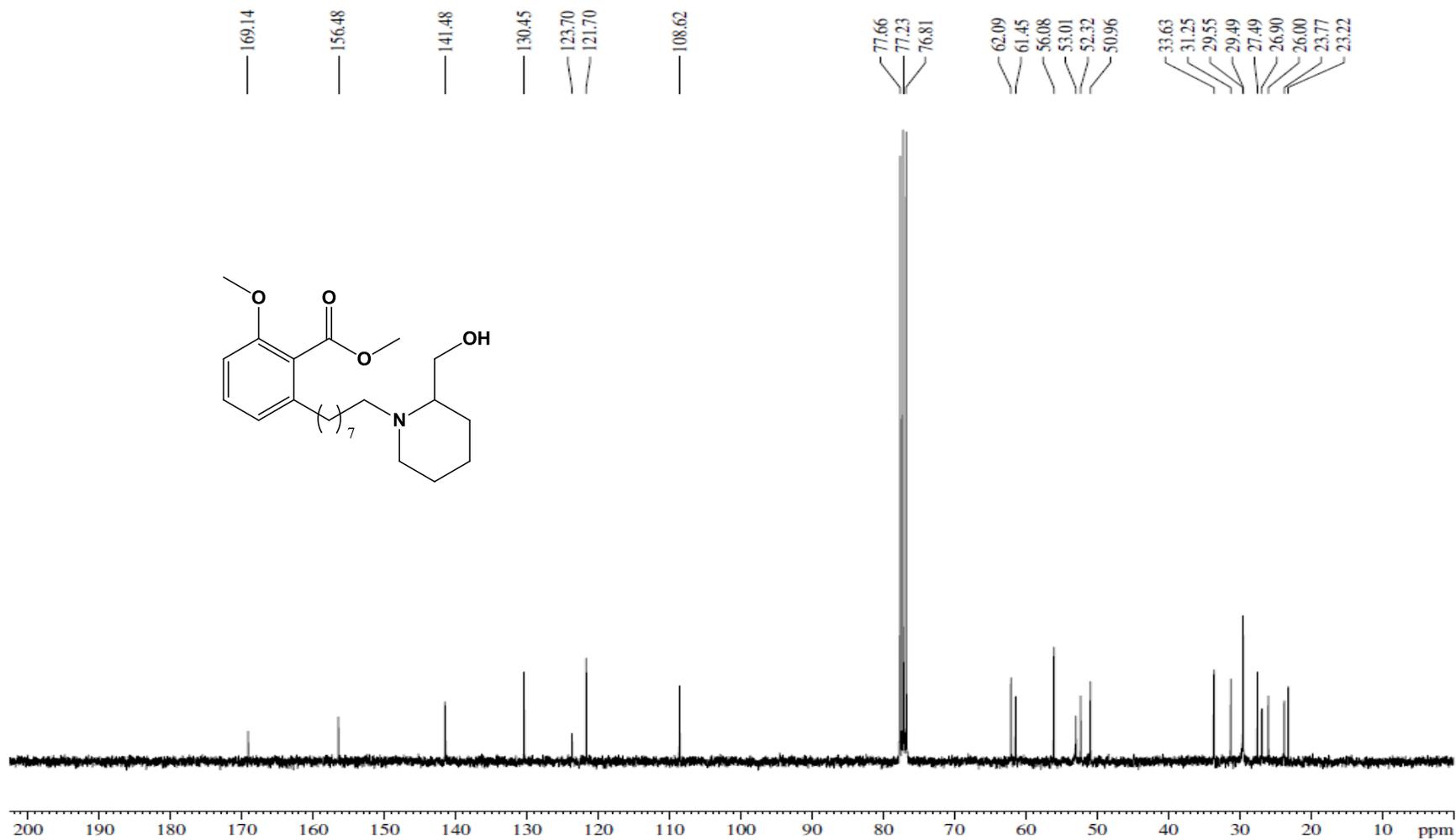
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT429 (39)

ANEXO 38



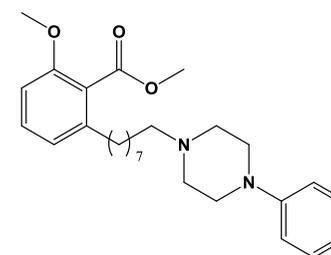
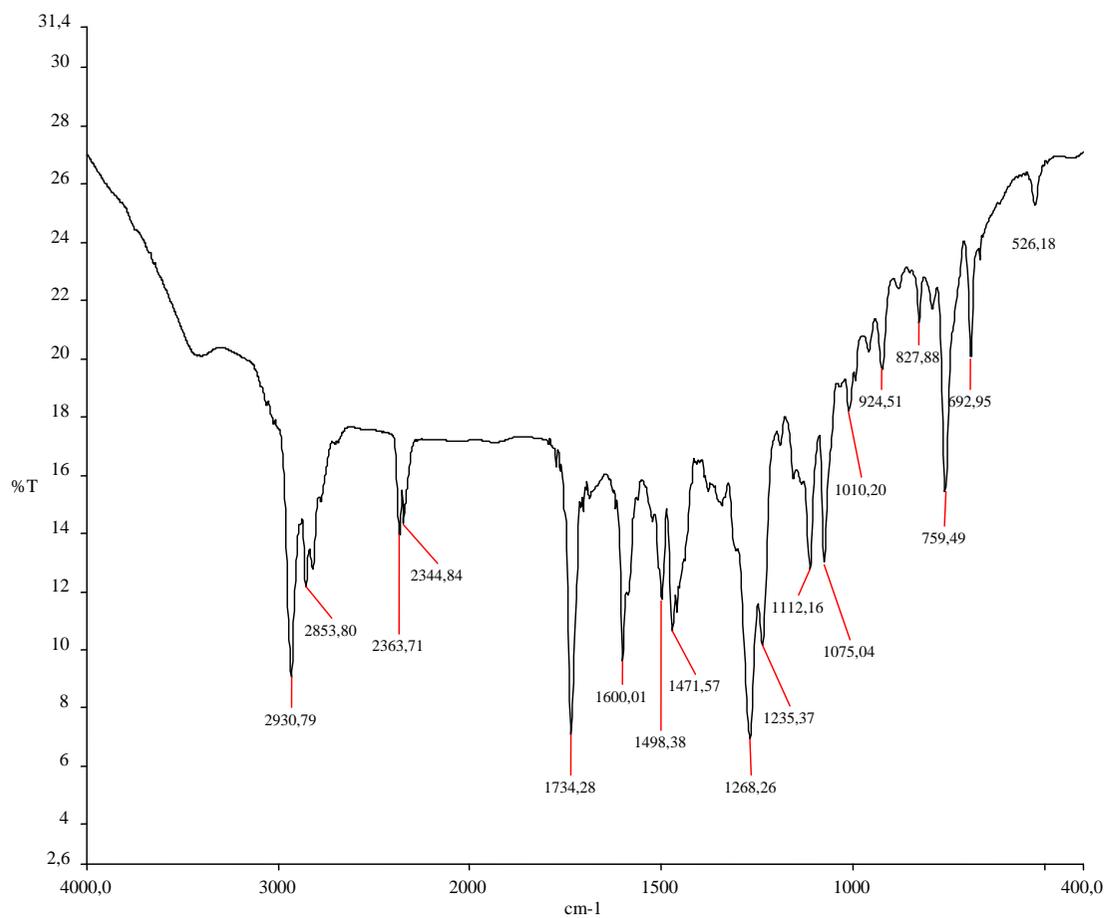
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT429 (39)

ANEXO 39



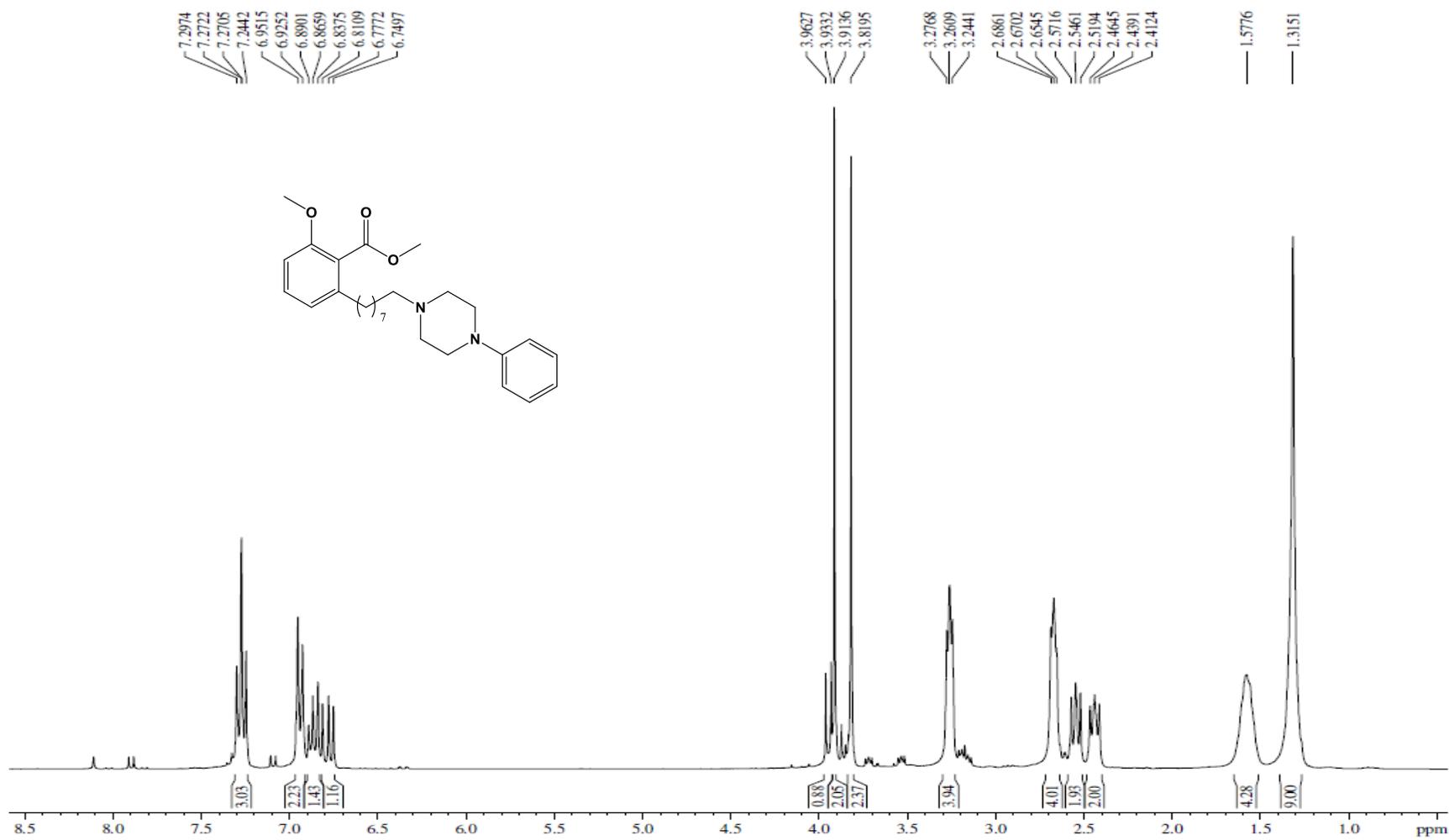
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT429 (39)

ANEXO 40



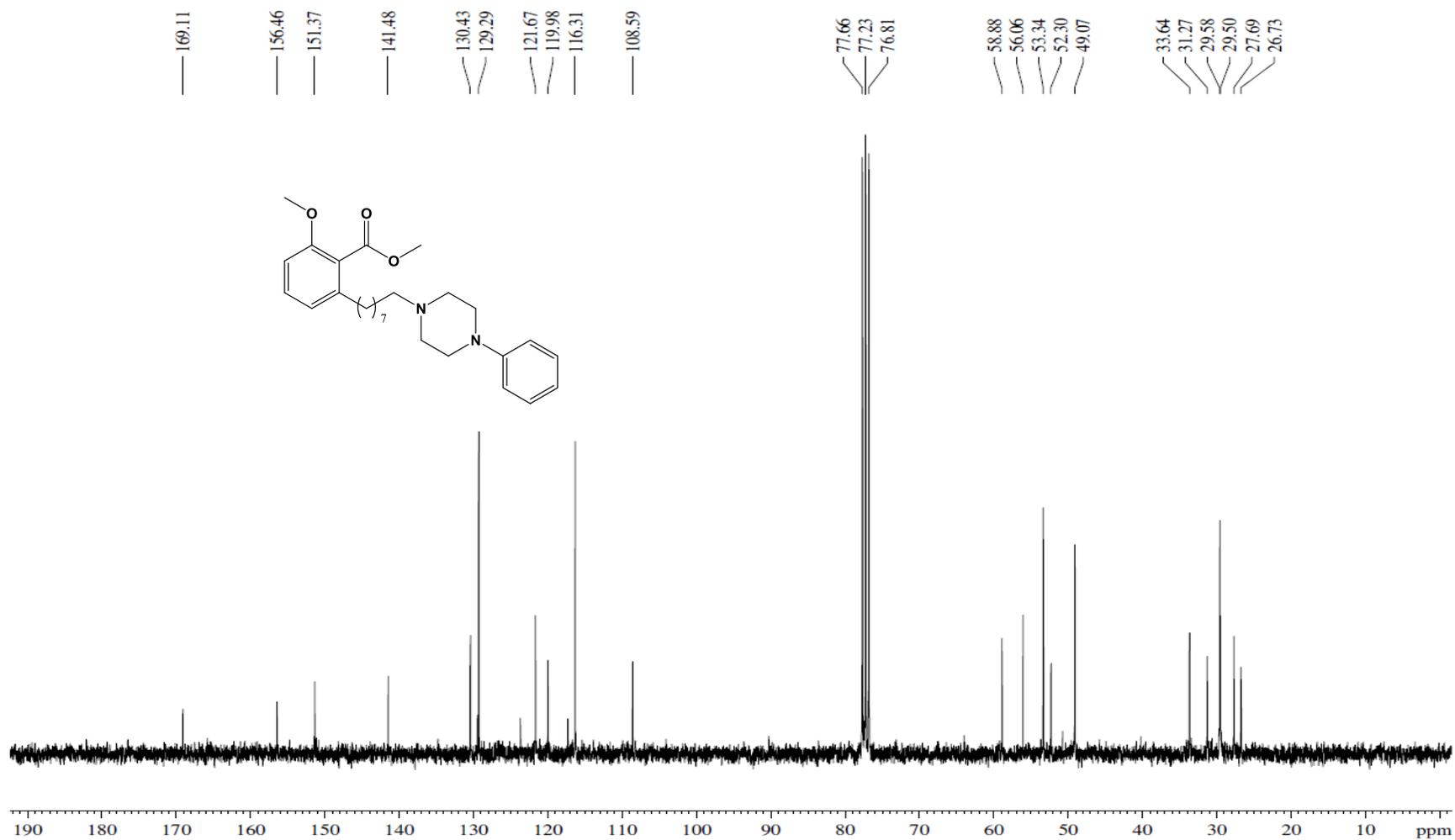
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT432 (40)

ANEXO 41



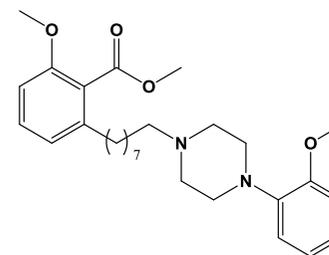
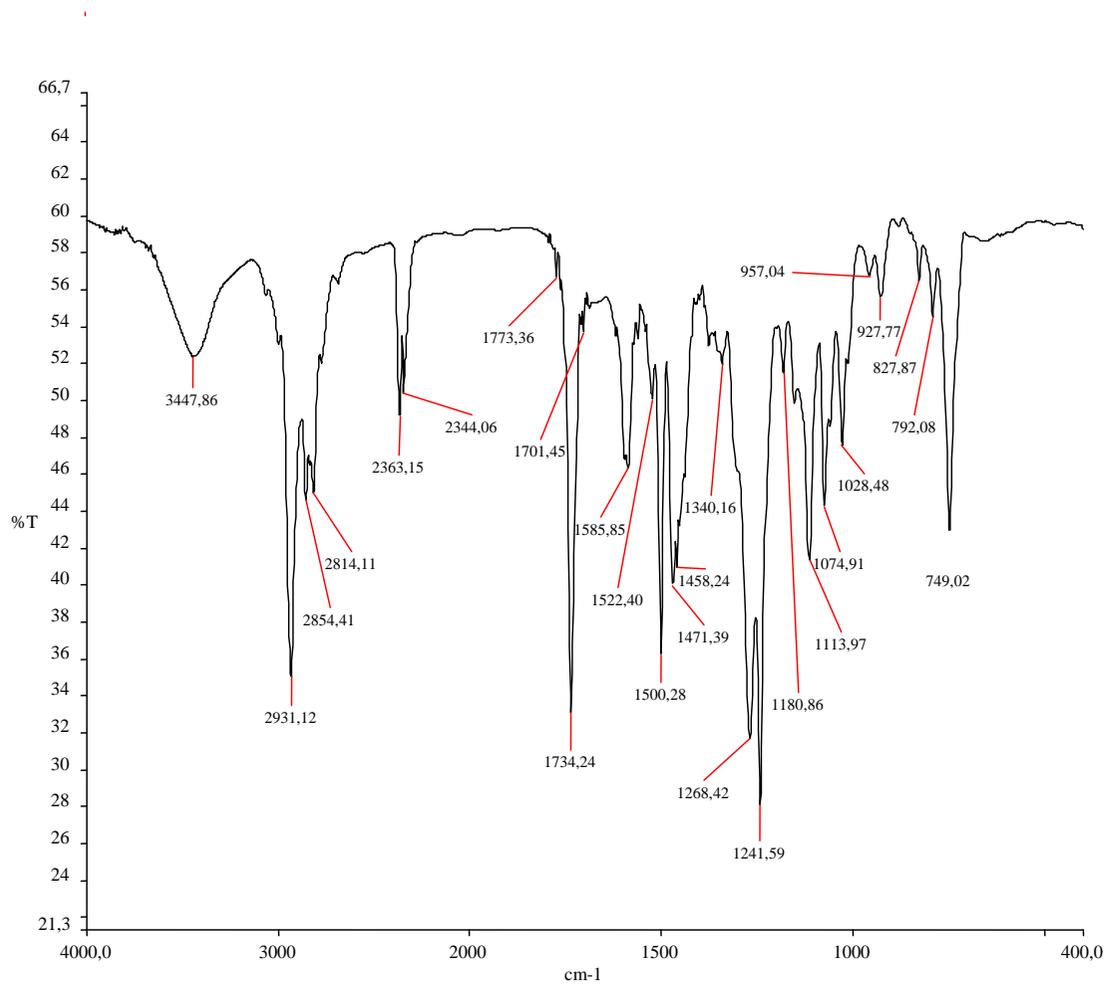
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT432 (40)

ANEXO 42



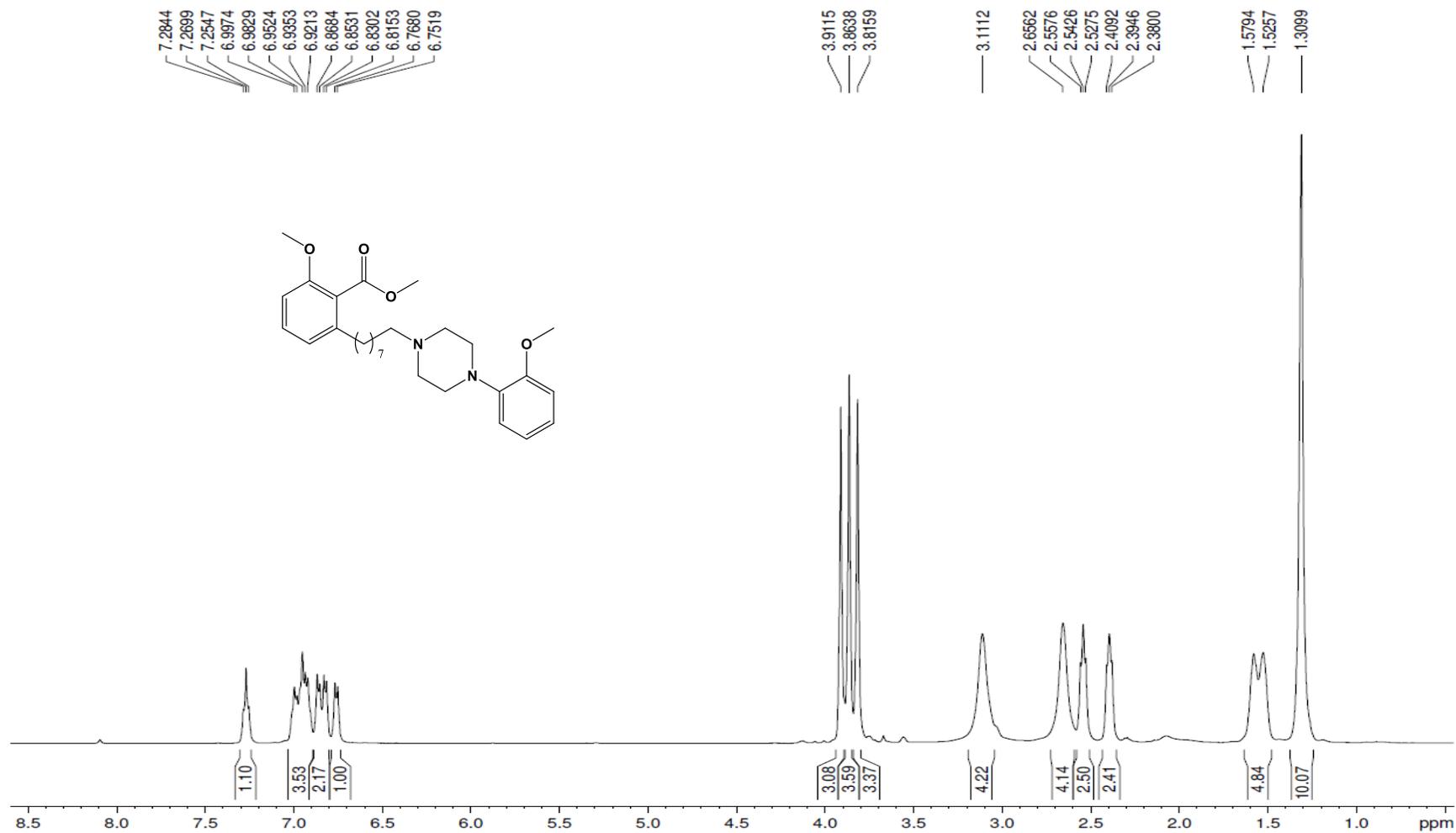
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT432 (40)

ANEXO 43



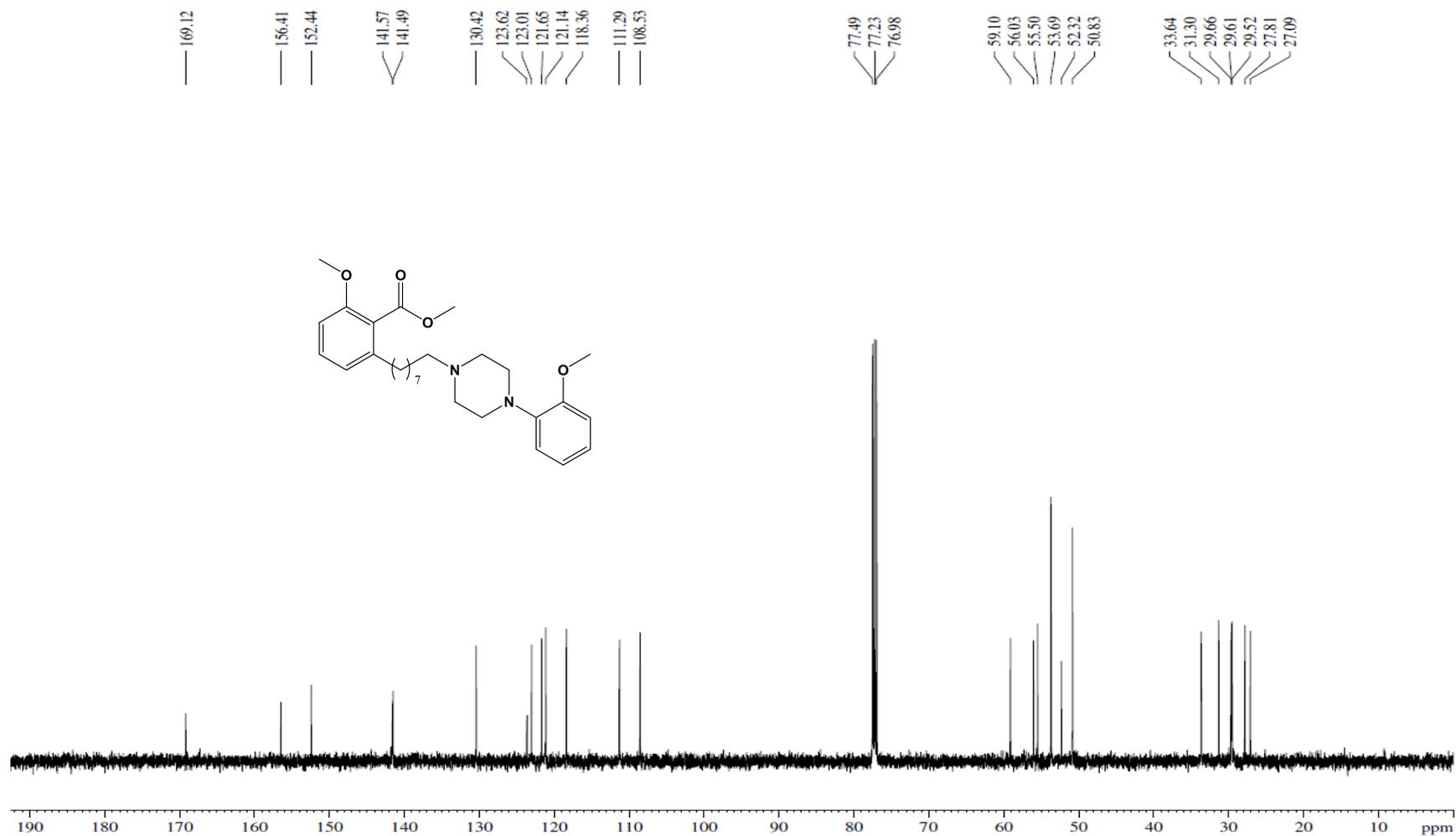
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT433 (41)

ANEXO 44



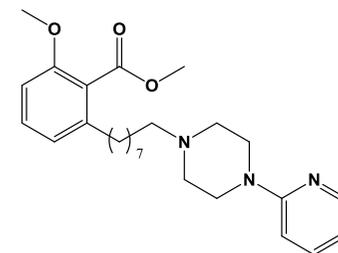
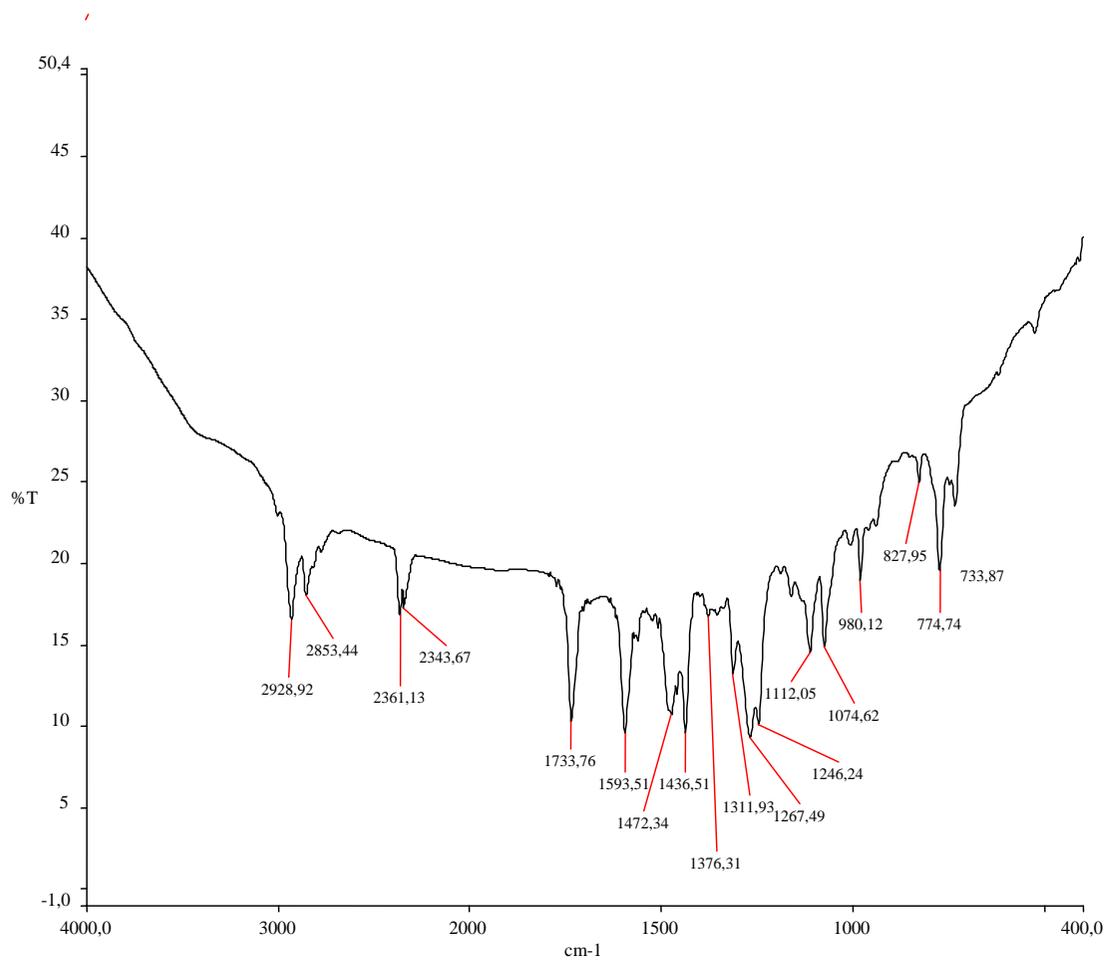
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – LDT433 (41)

ANEXO 45



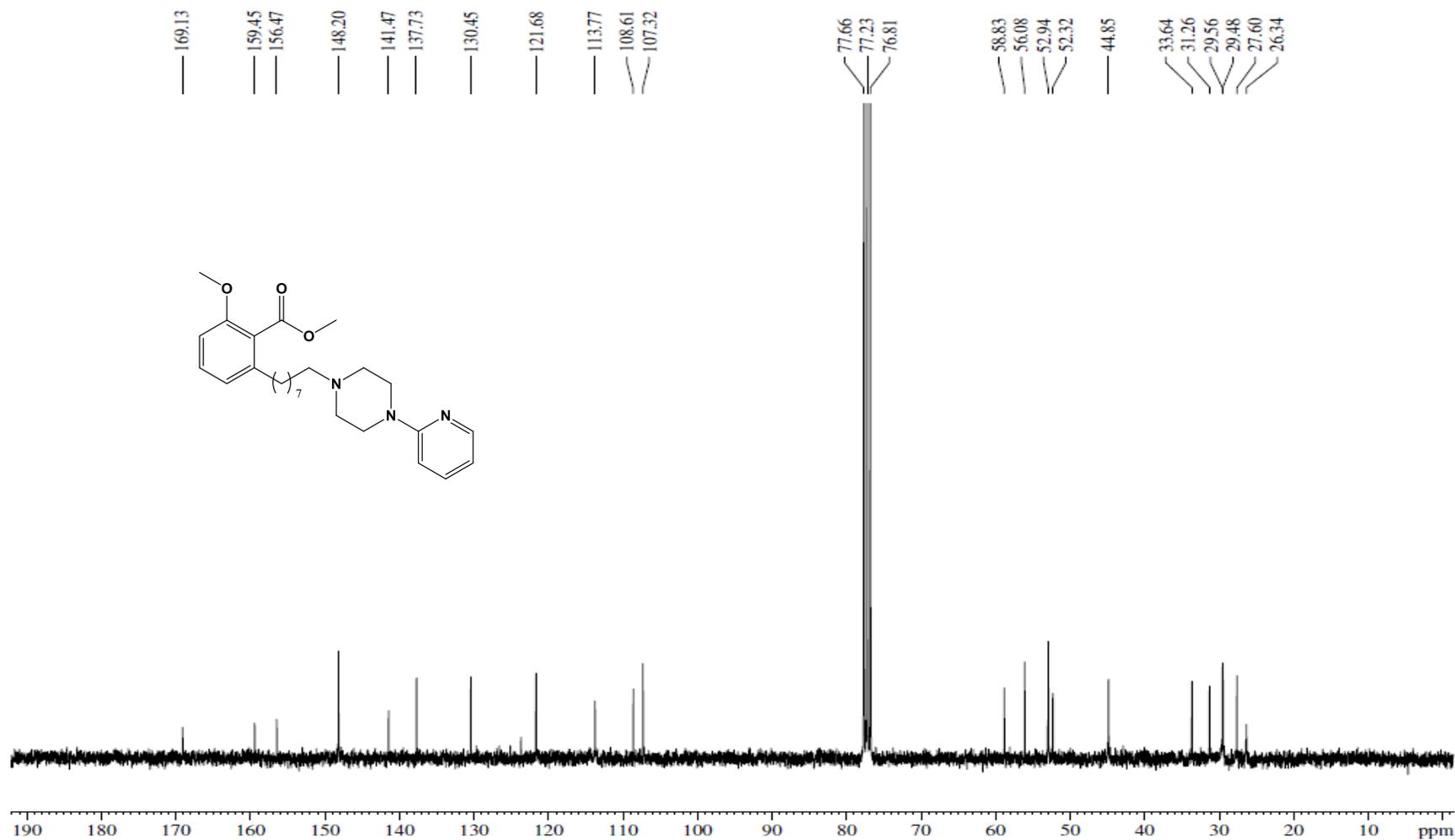
Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – LDT433 (41)

ANEXO 46



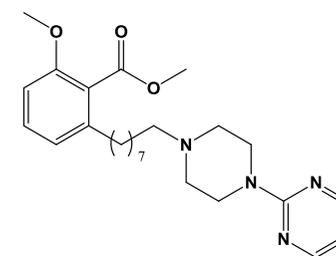
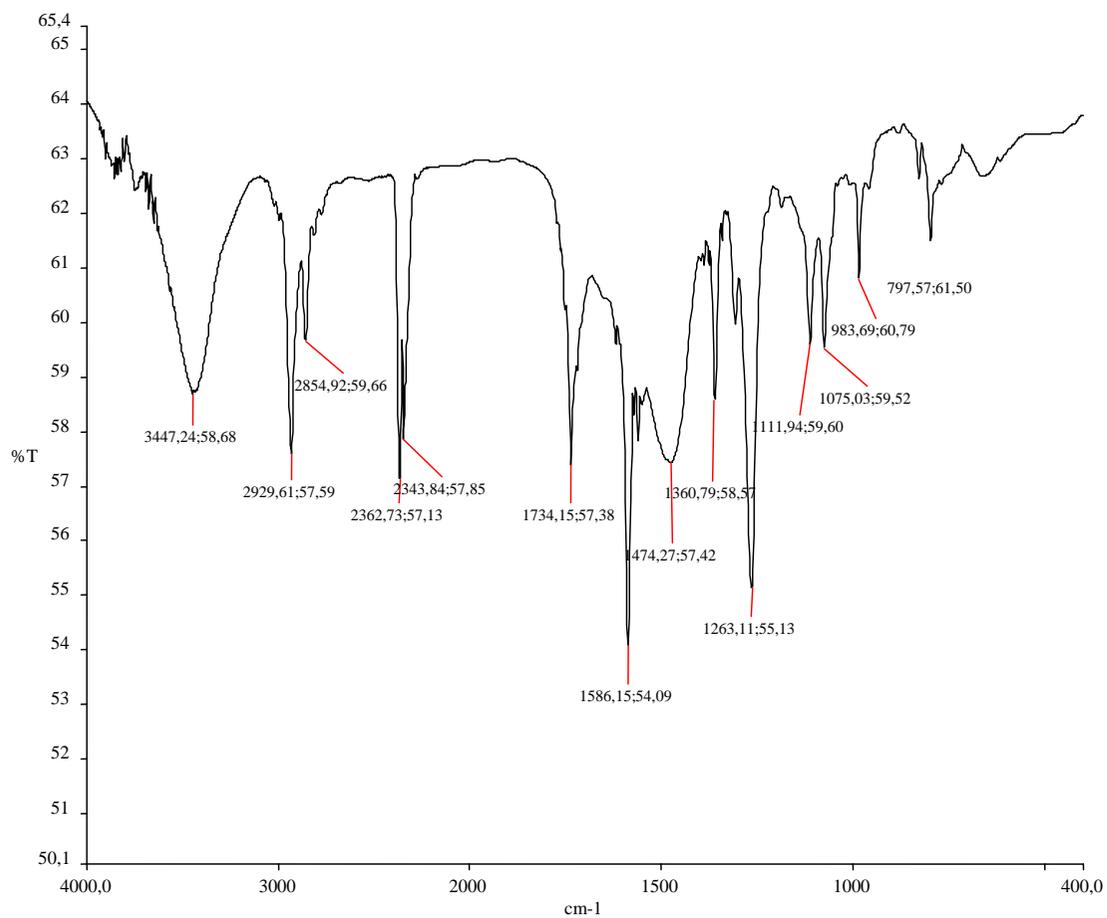
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT434 (42)

ANEXO 48



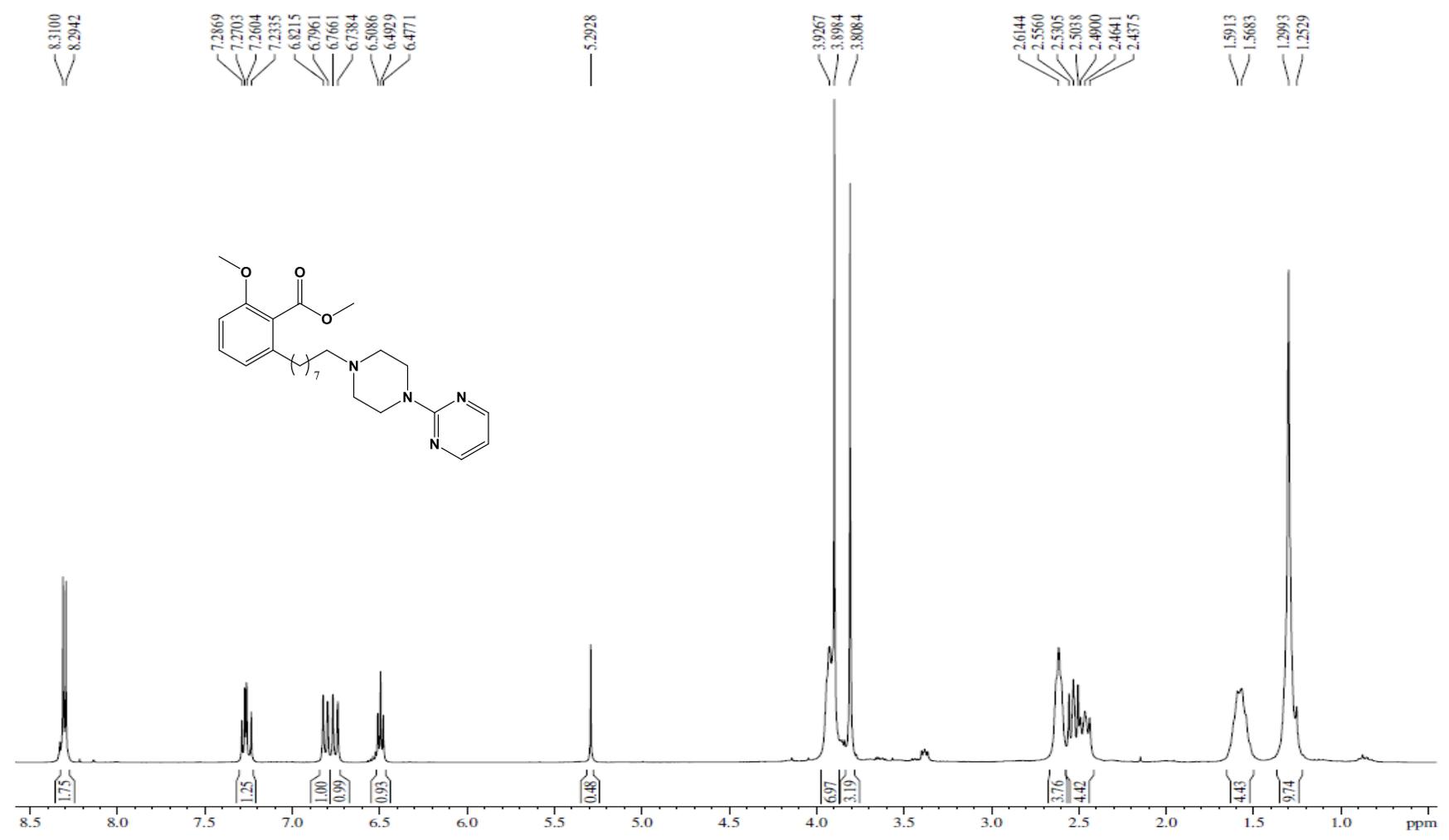
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT434 (42)

ANEXO 49



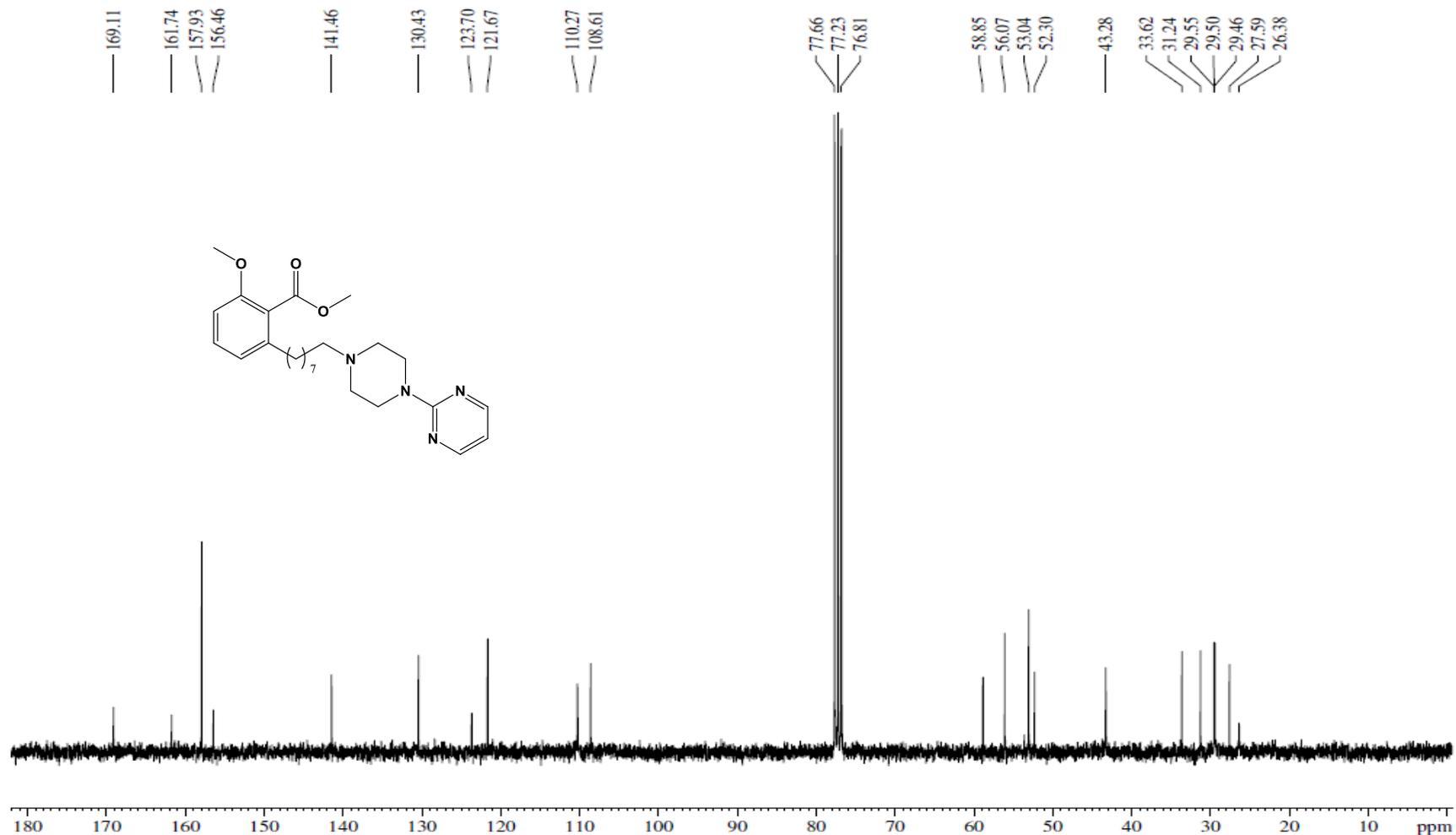
Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT435 (43)

ANEXO 50



Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT435 (43)

ANEXO 51



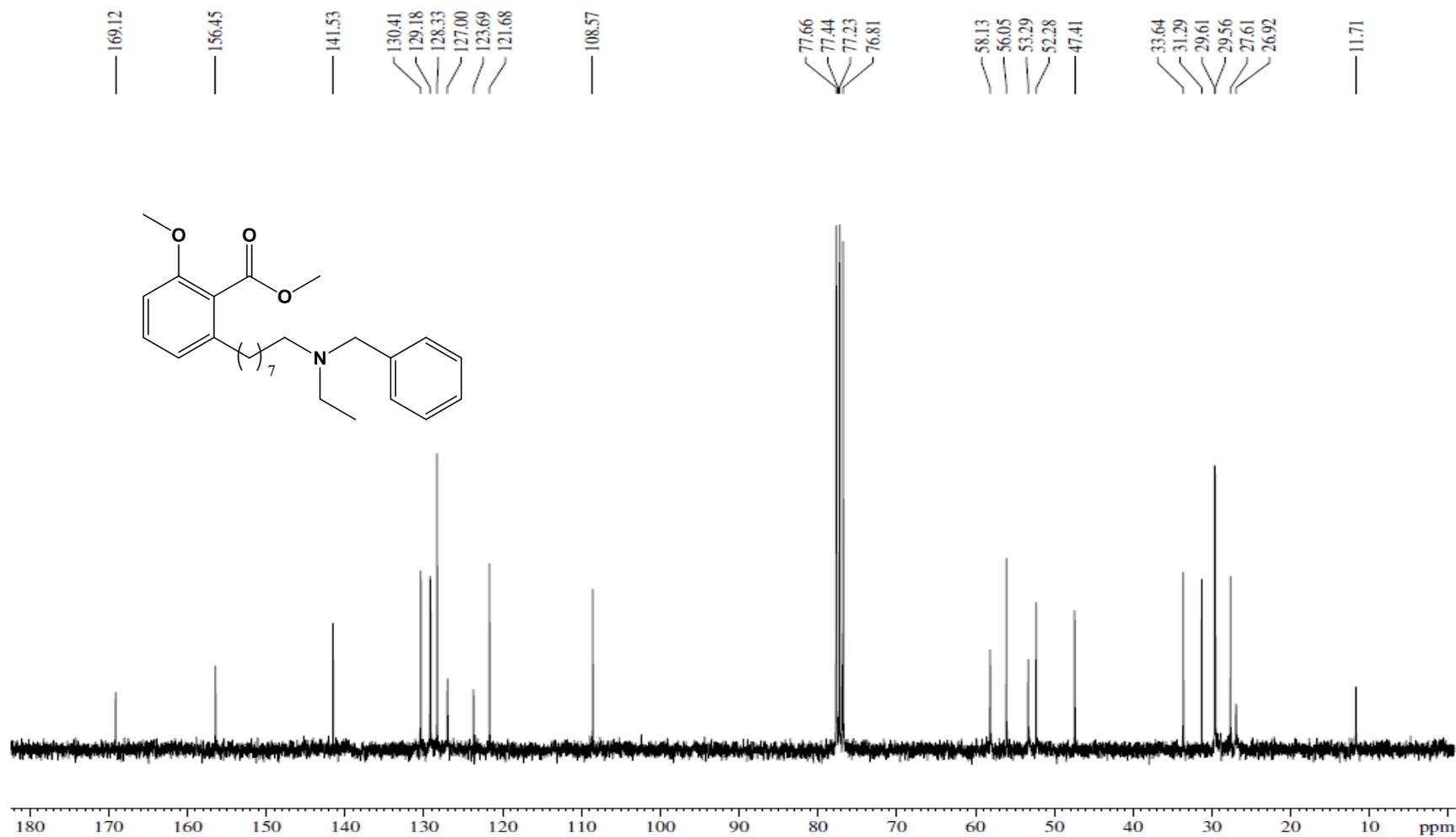
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT435 (43)

ANEXO 53



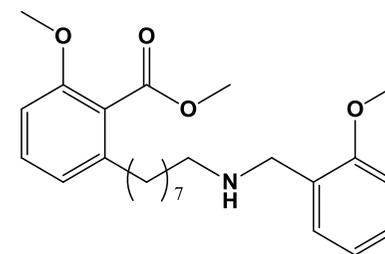
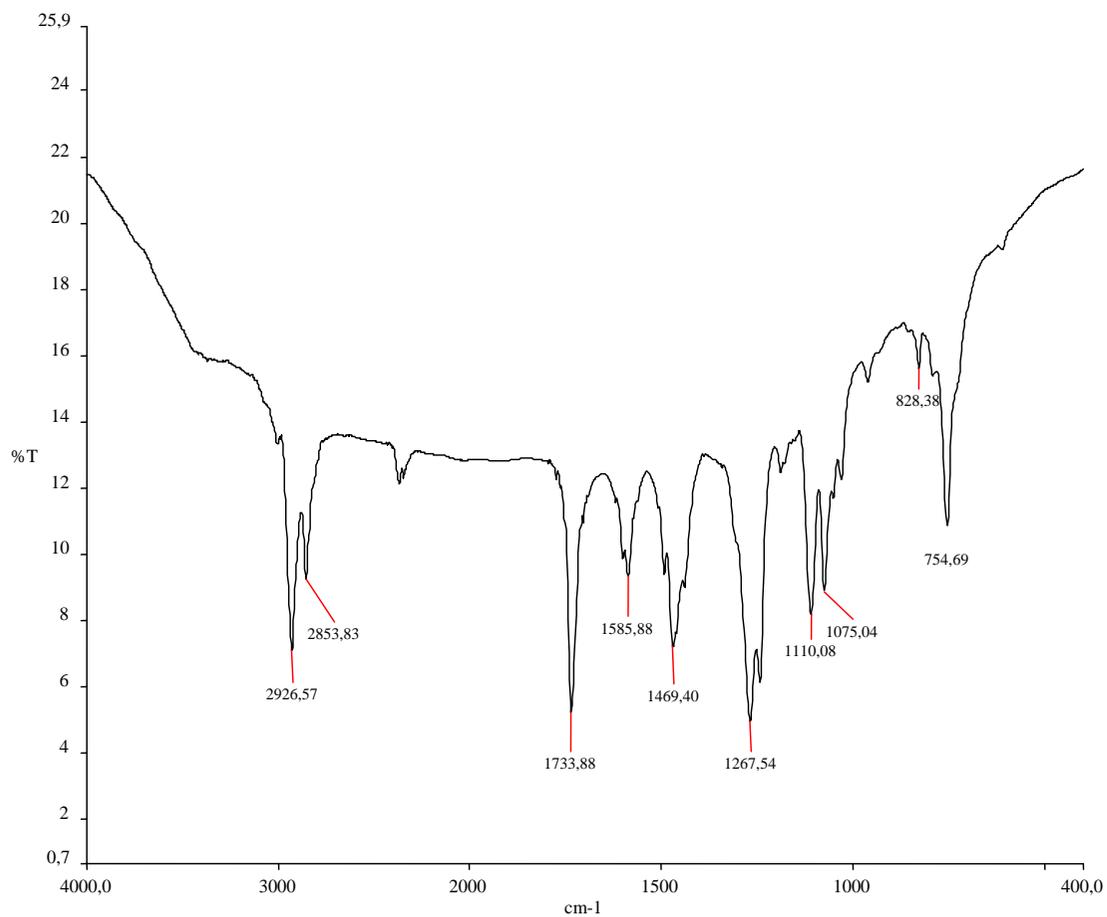
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT439 (44)

ANEXO 54



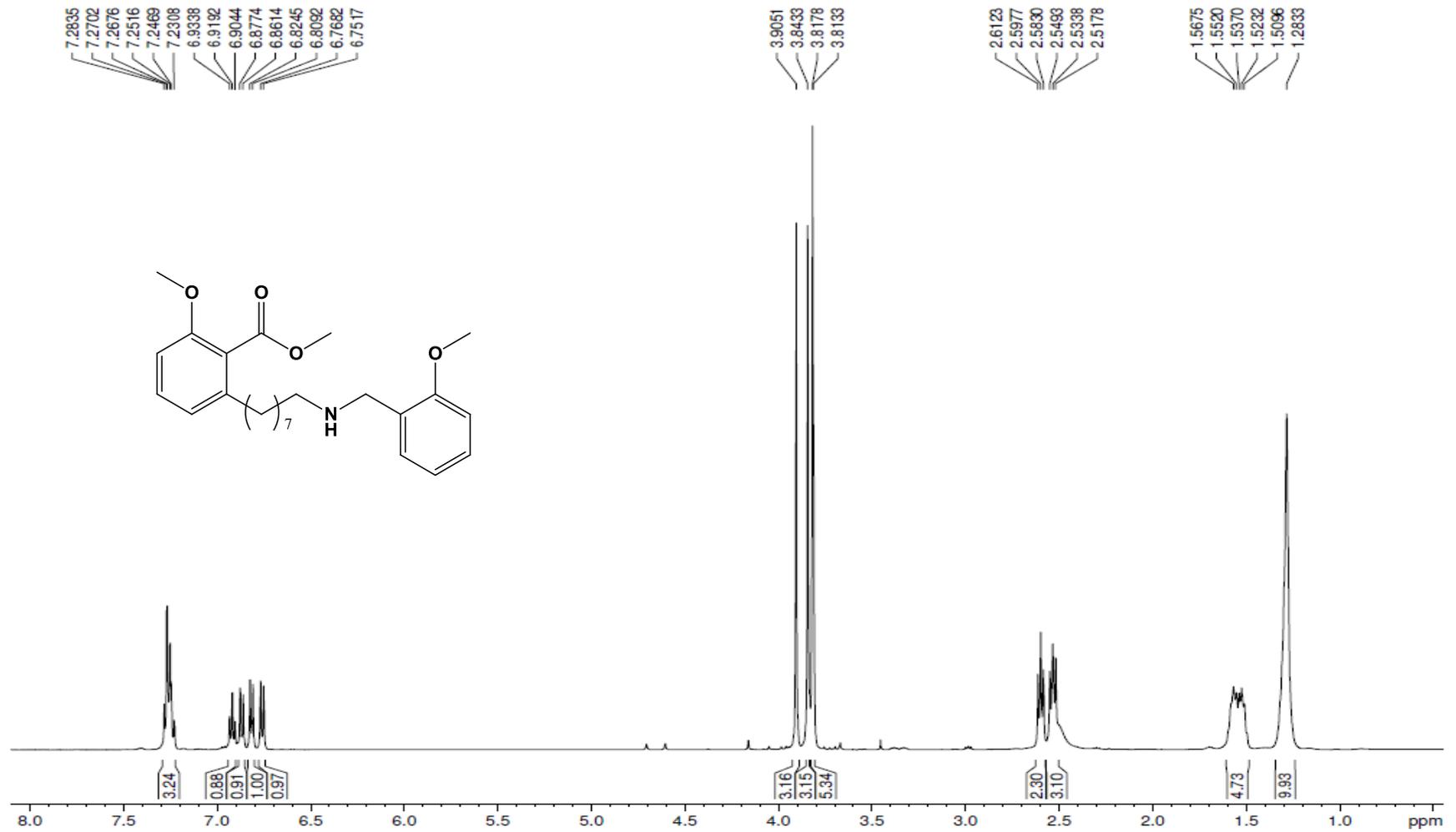
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT439 (44)

ANEXO 55



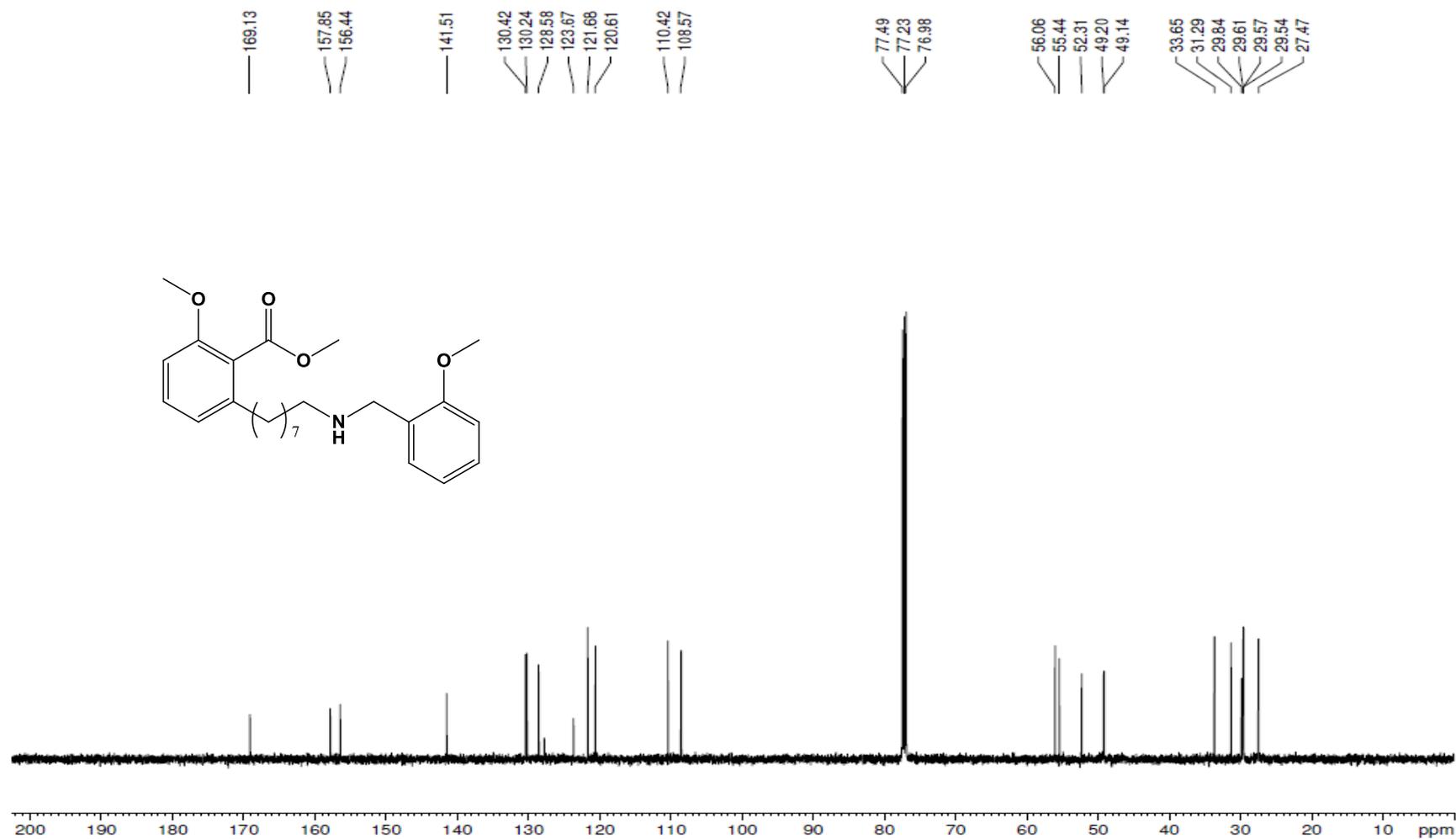
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT436 (45)

ANEXO 56



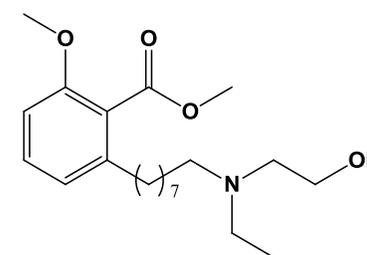
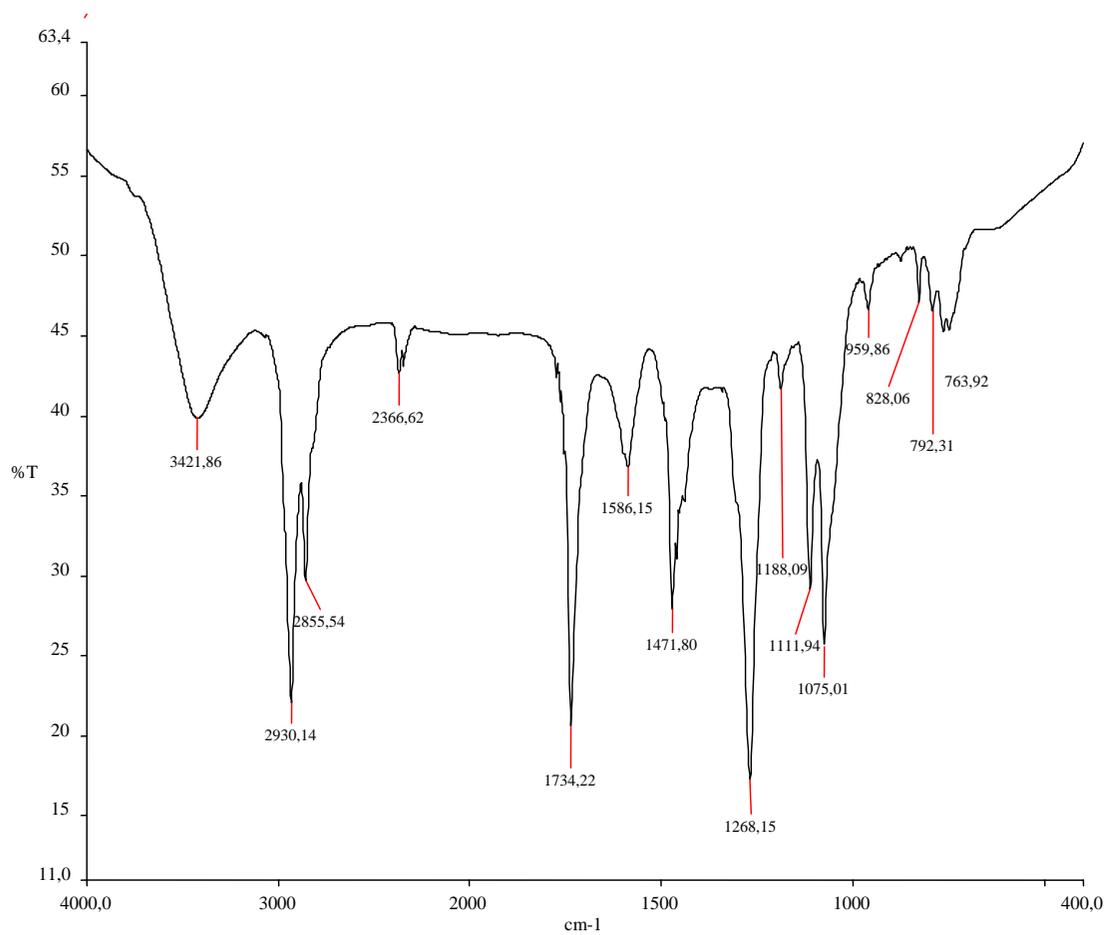
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – LDT436(45)

ANEXO 57



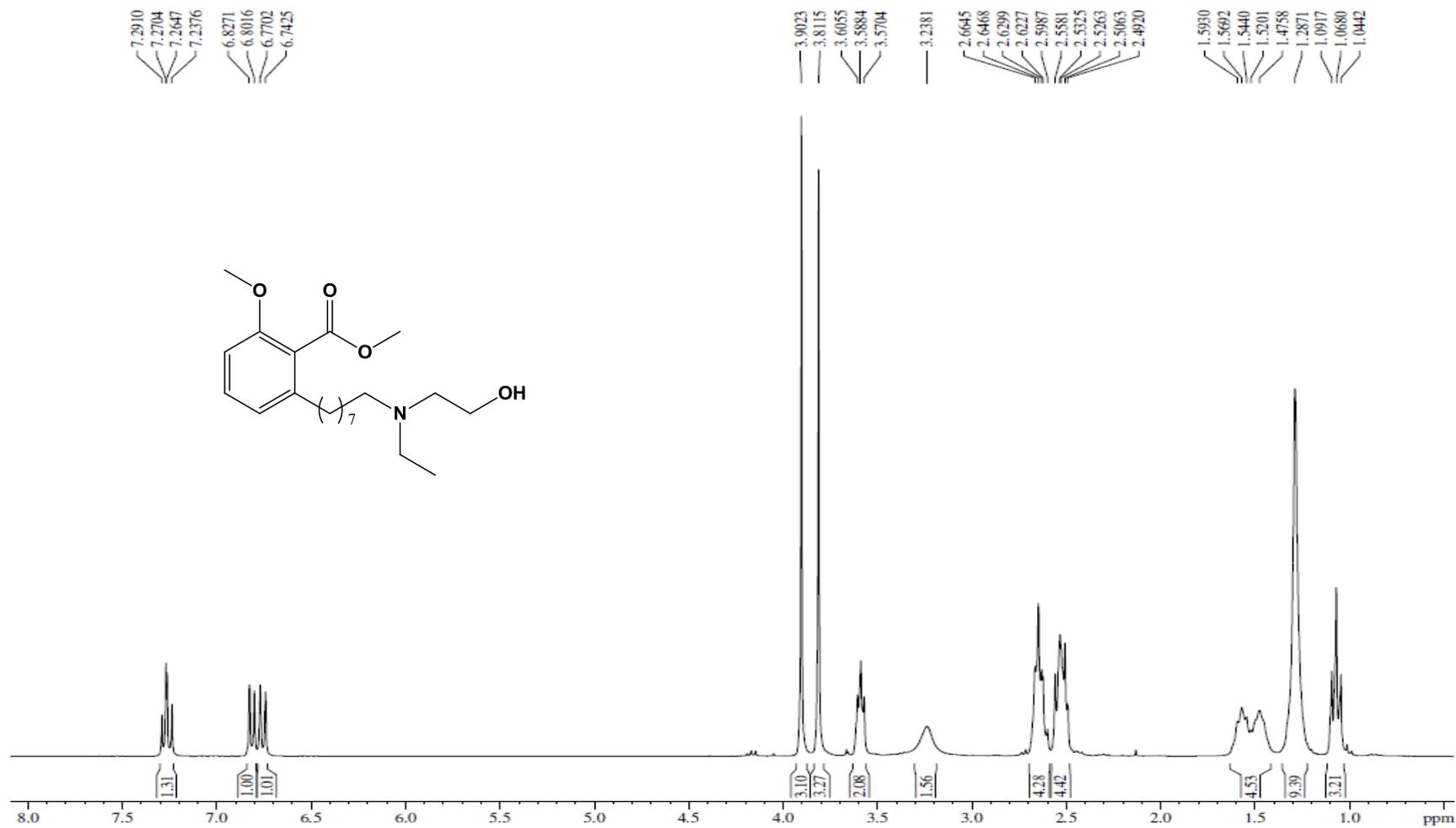
Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – LDT436 (45)

ANEXO 58



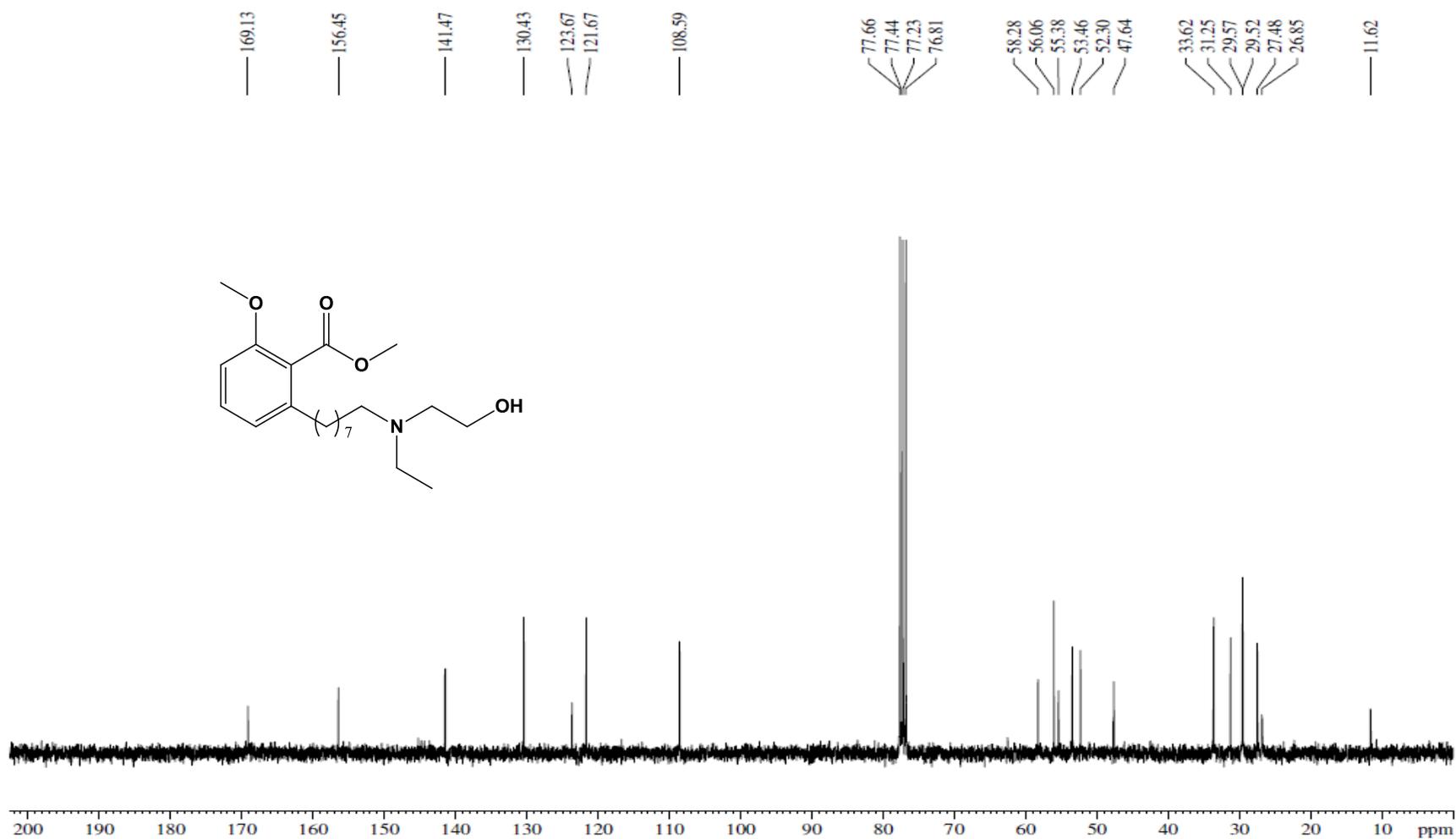
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT441 (46)

ANEXO 59



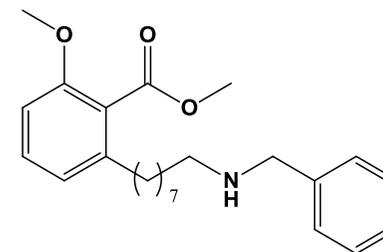
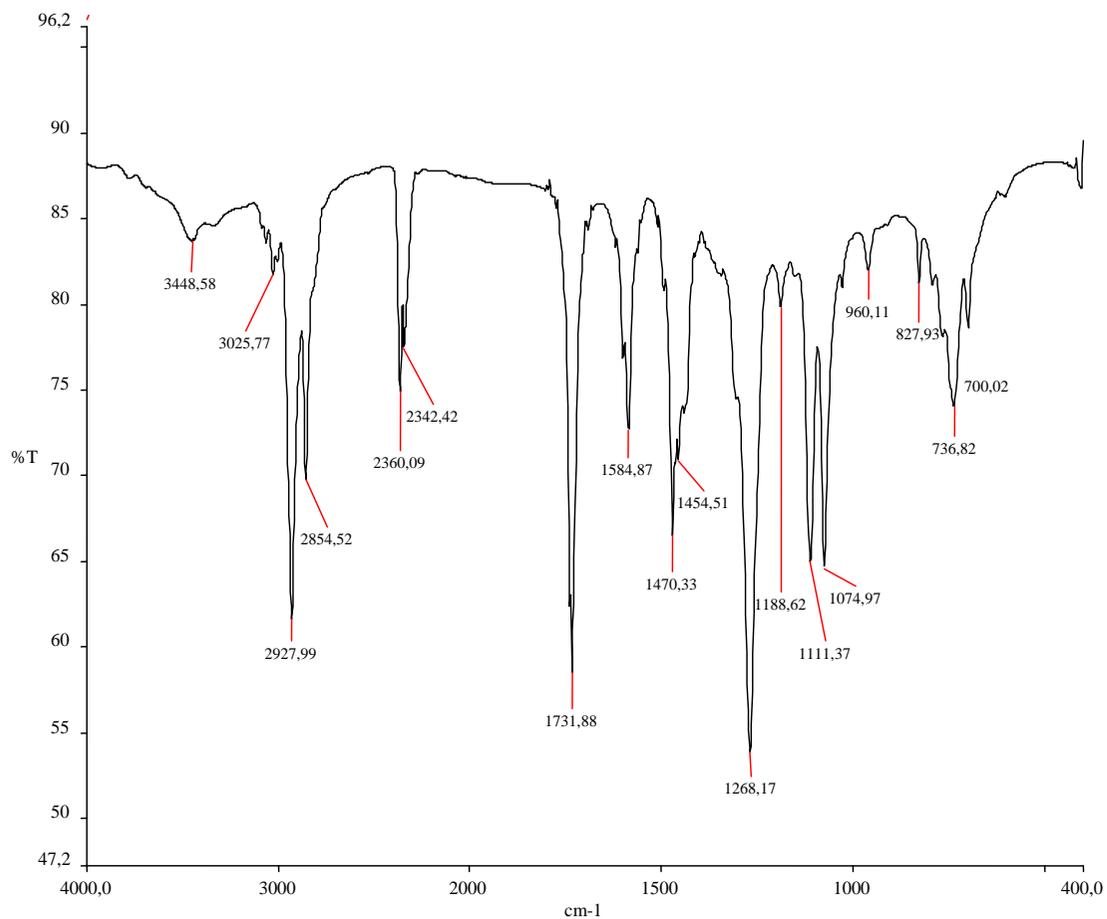
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT441 (46)

ANEXO 60



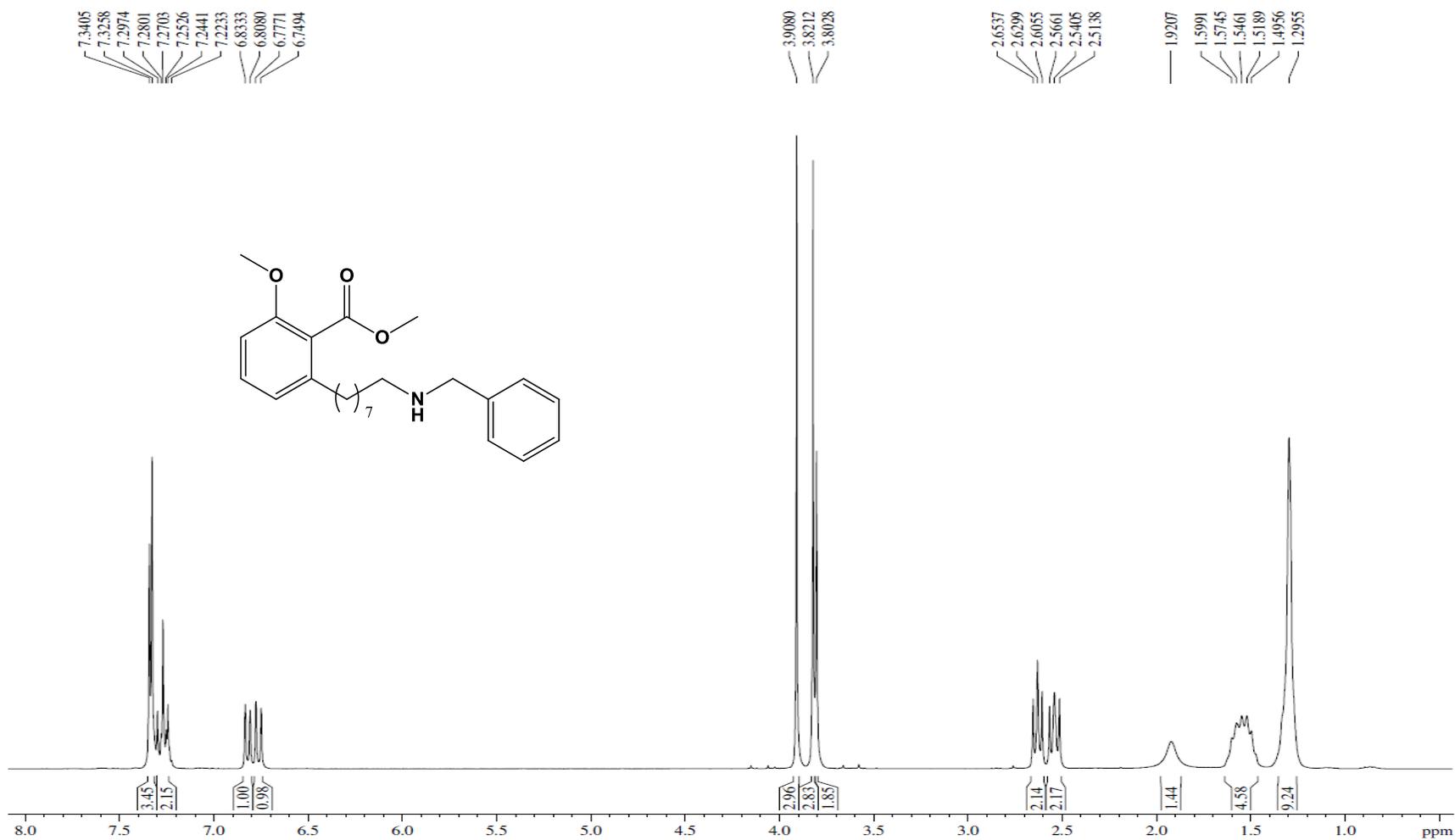
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT441 (46)

ANEXO 61



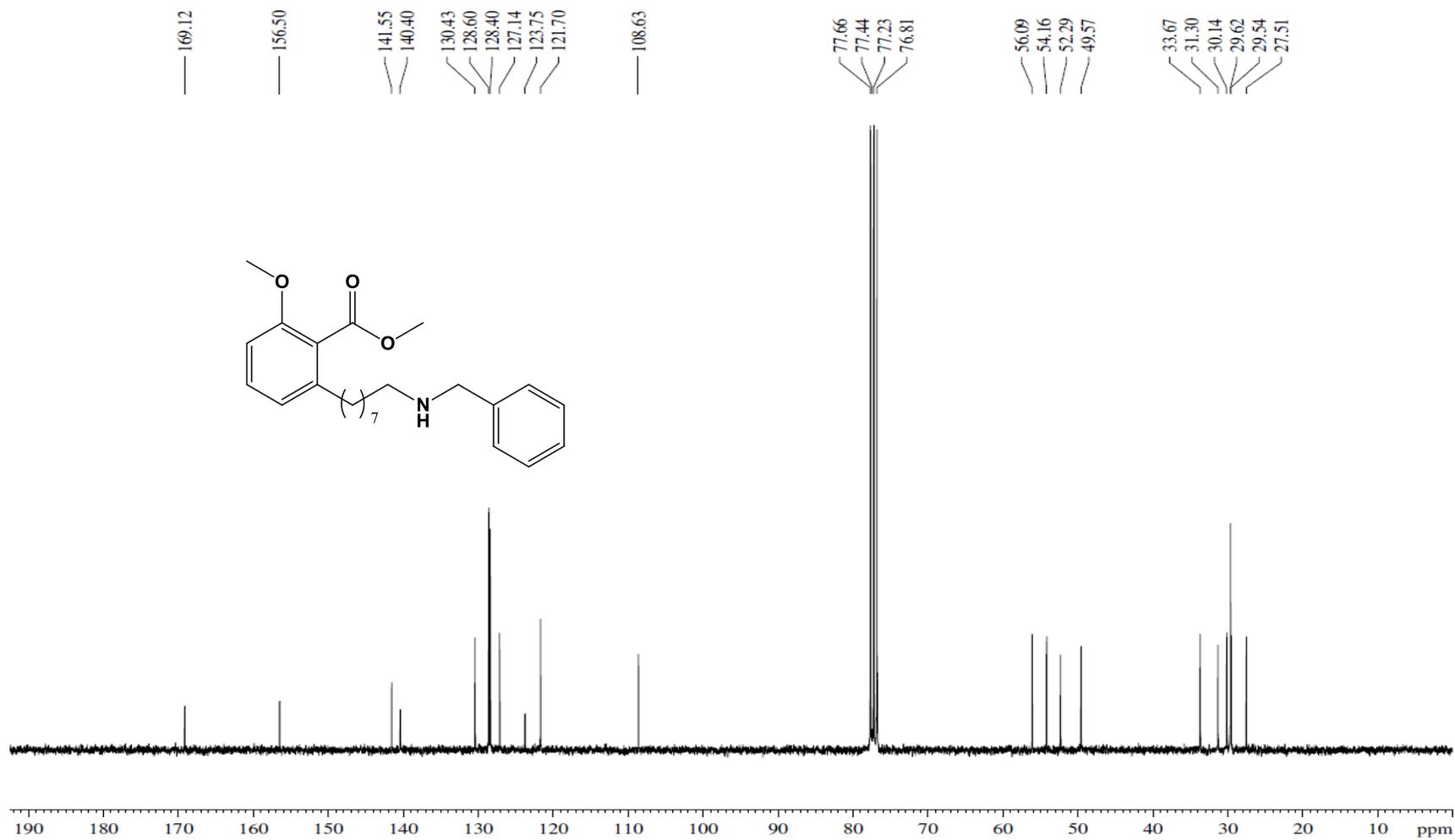
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT488 (47)

ANEXO 62



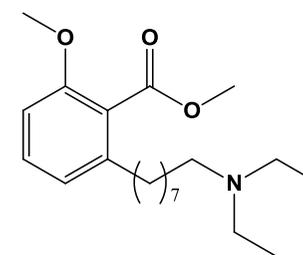
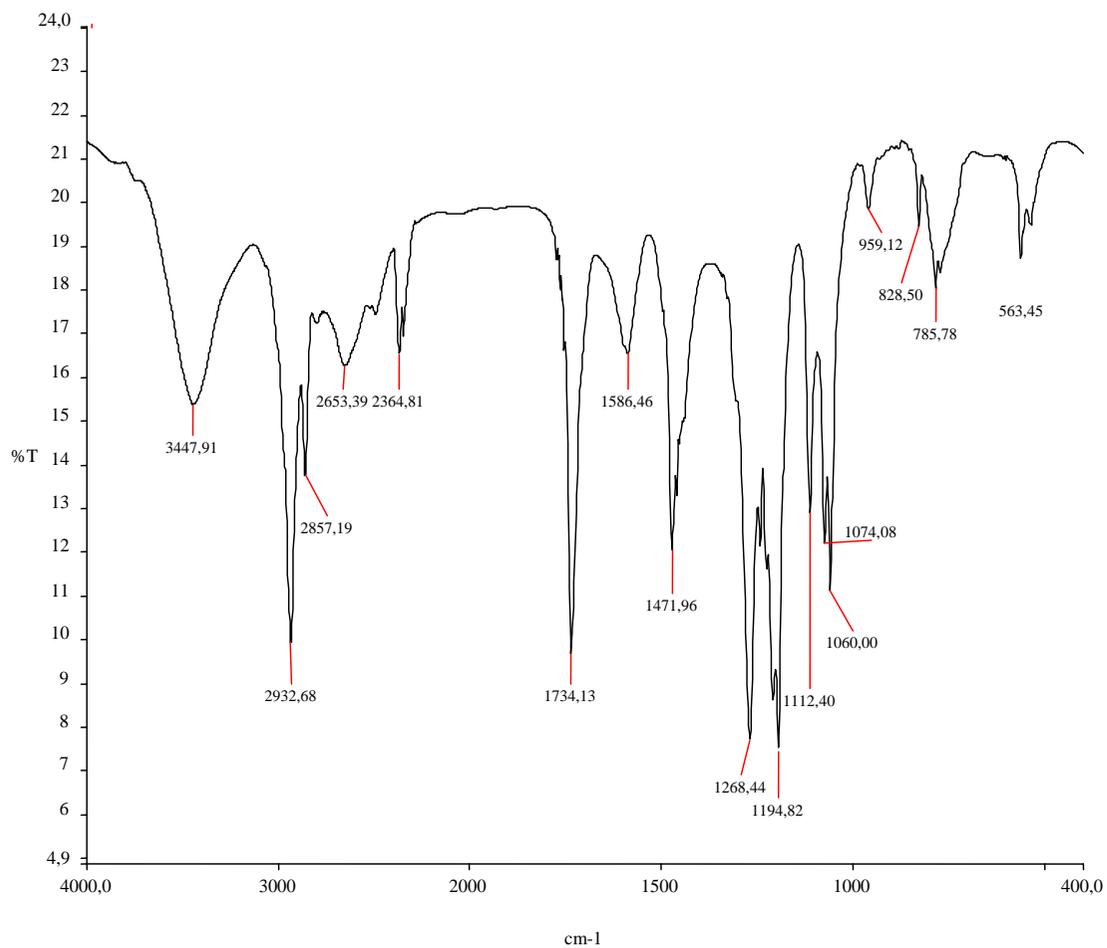
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT488 (47)

ANEXO 63



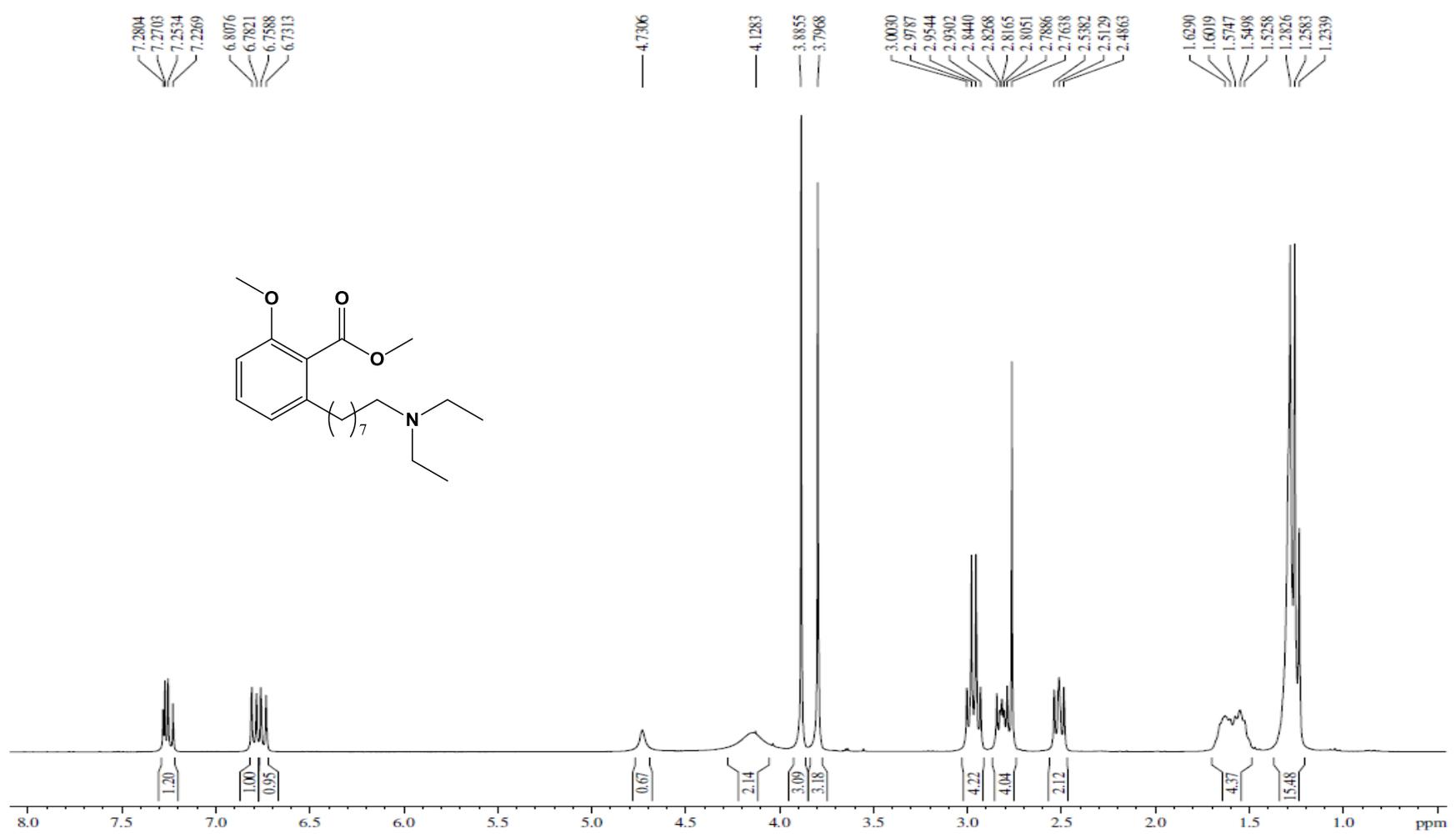
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT488 (47)

ANEXO 64



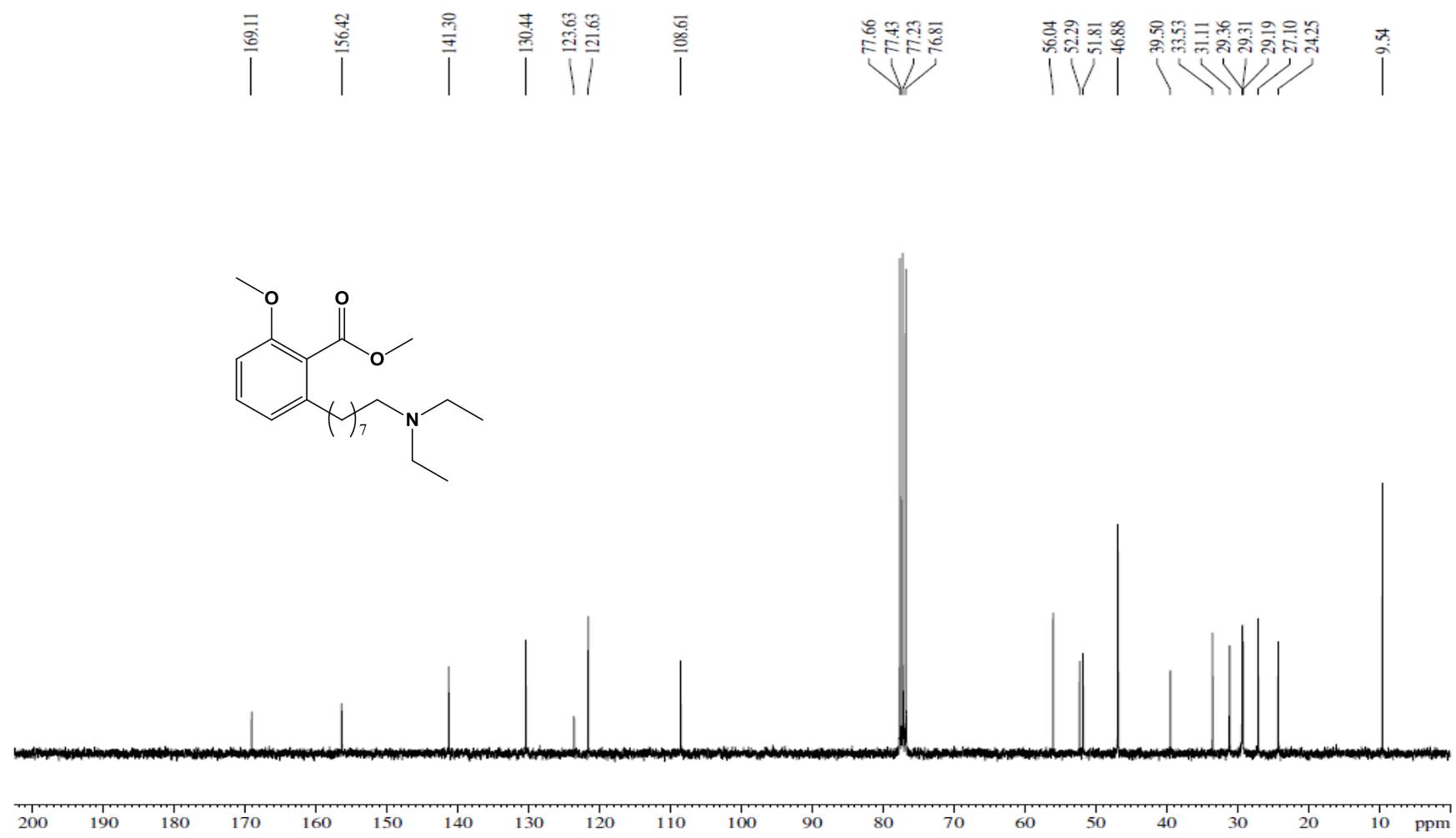
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT532 (48)

ANEXO 65



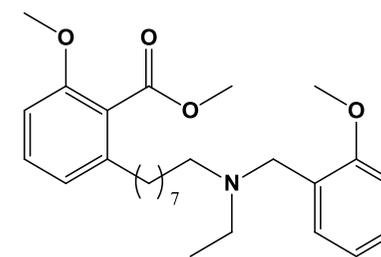
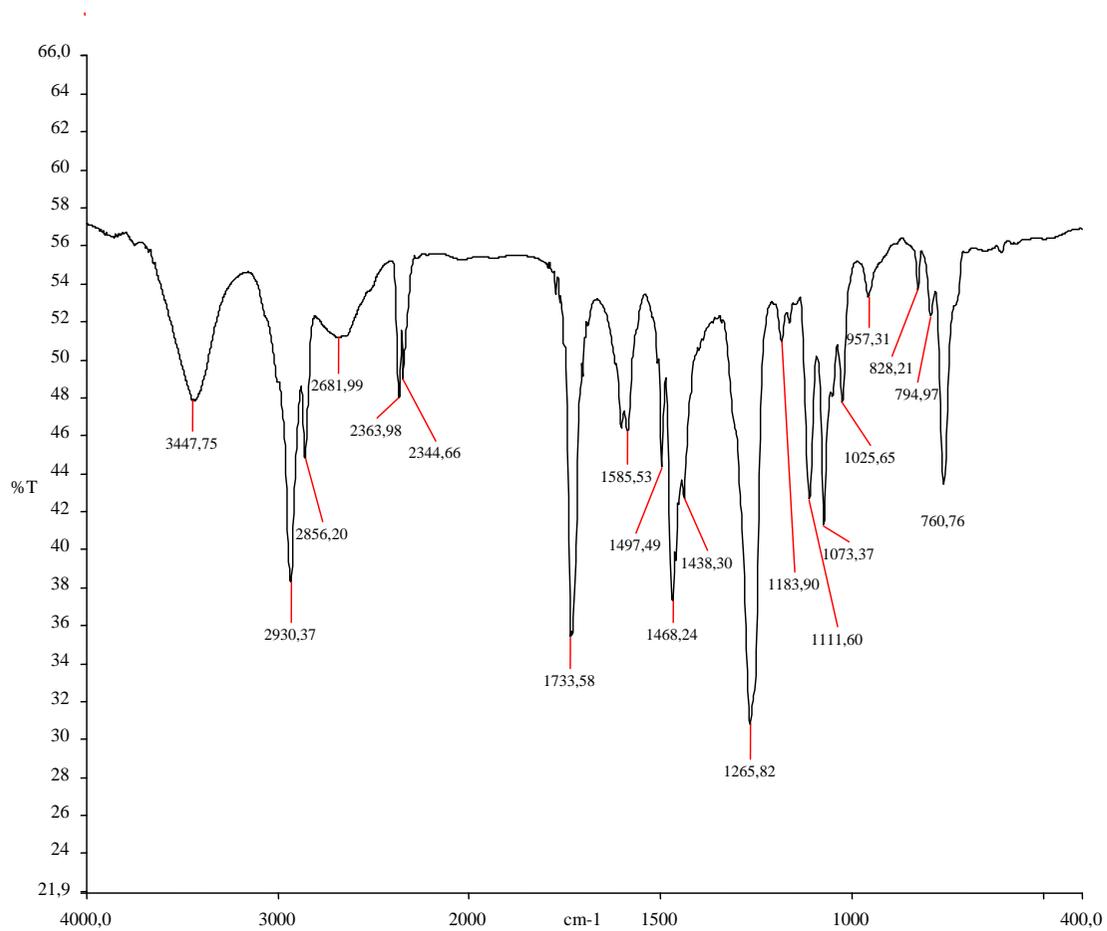
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT532 (48)

ANEXO 66



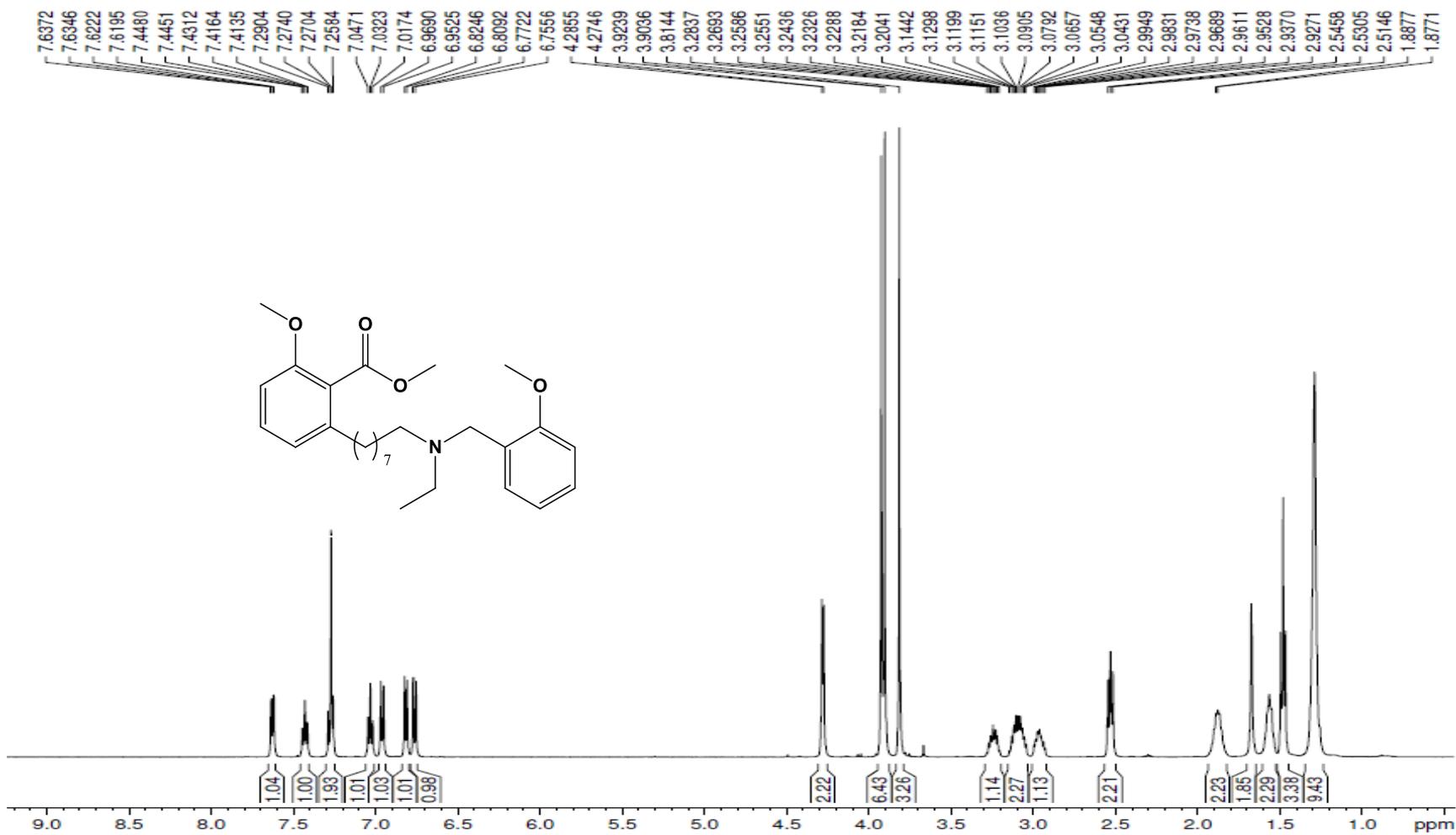
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT532 (48)

ANEXO 67



Espectro de Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – LDT438 (51)

ANEXO 68



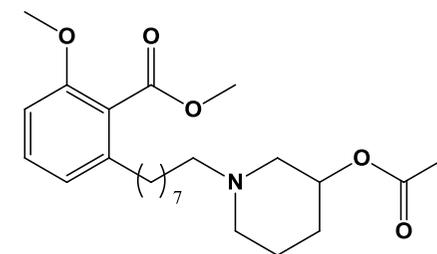
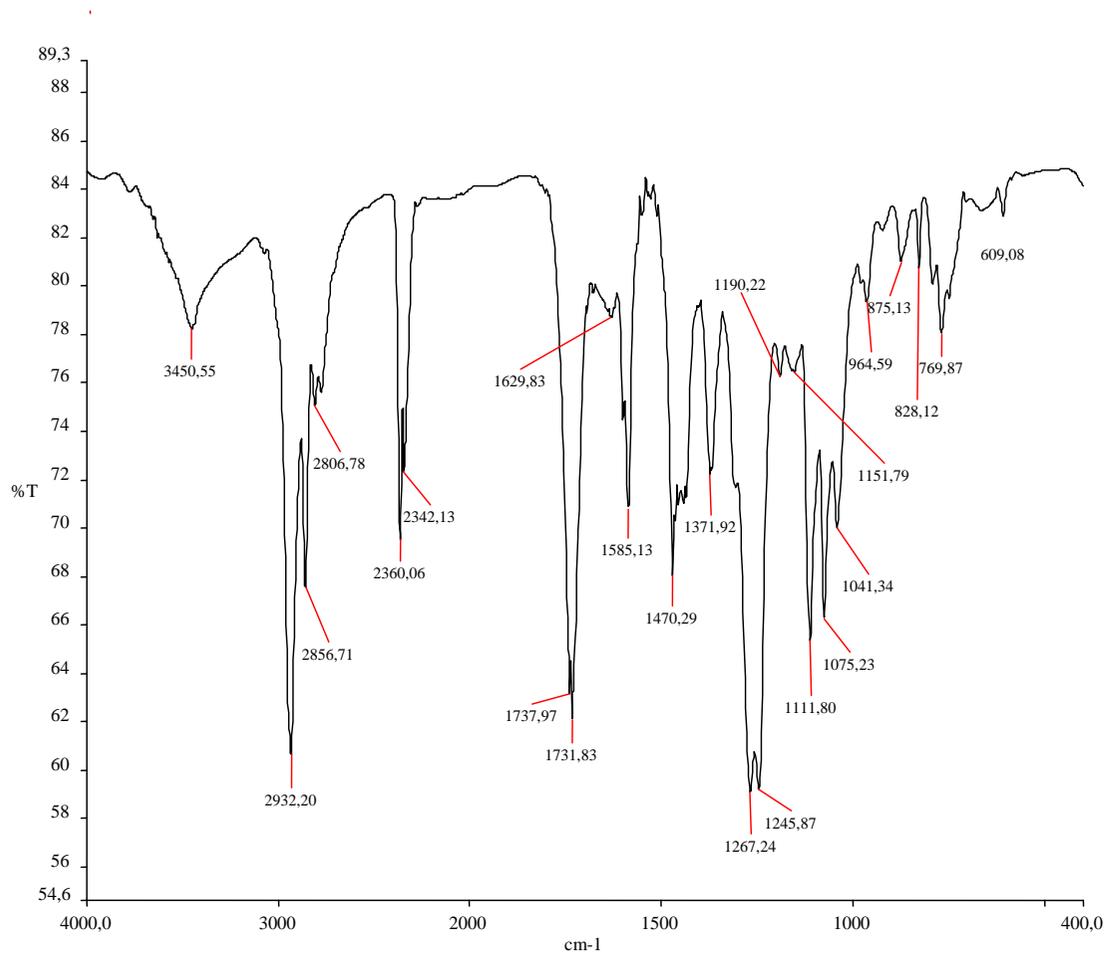
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – LDT438 (51)

ANEXO 69



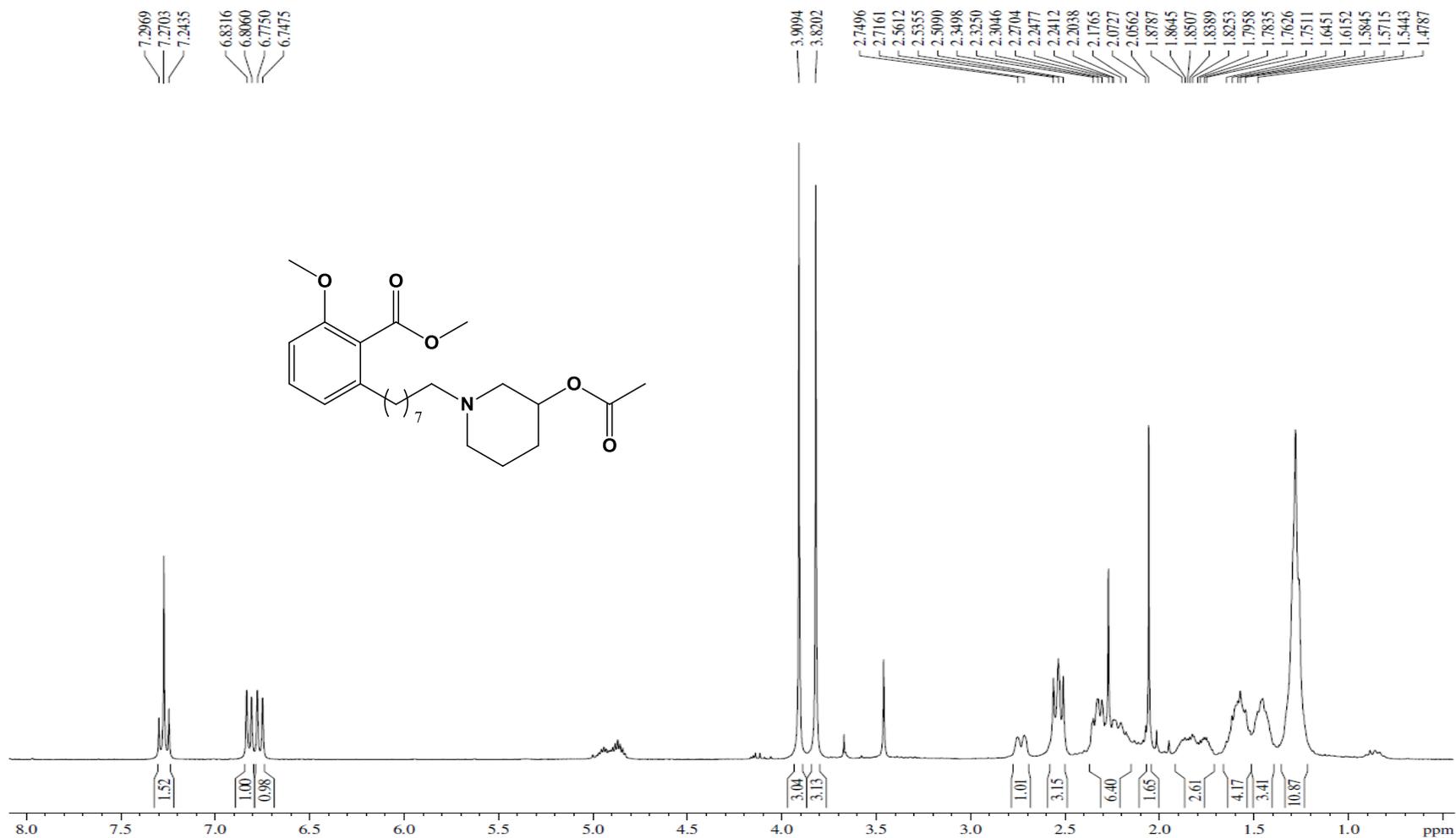
Espectro de RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) – LDT438 (51)

ANEXO 70



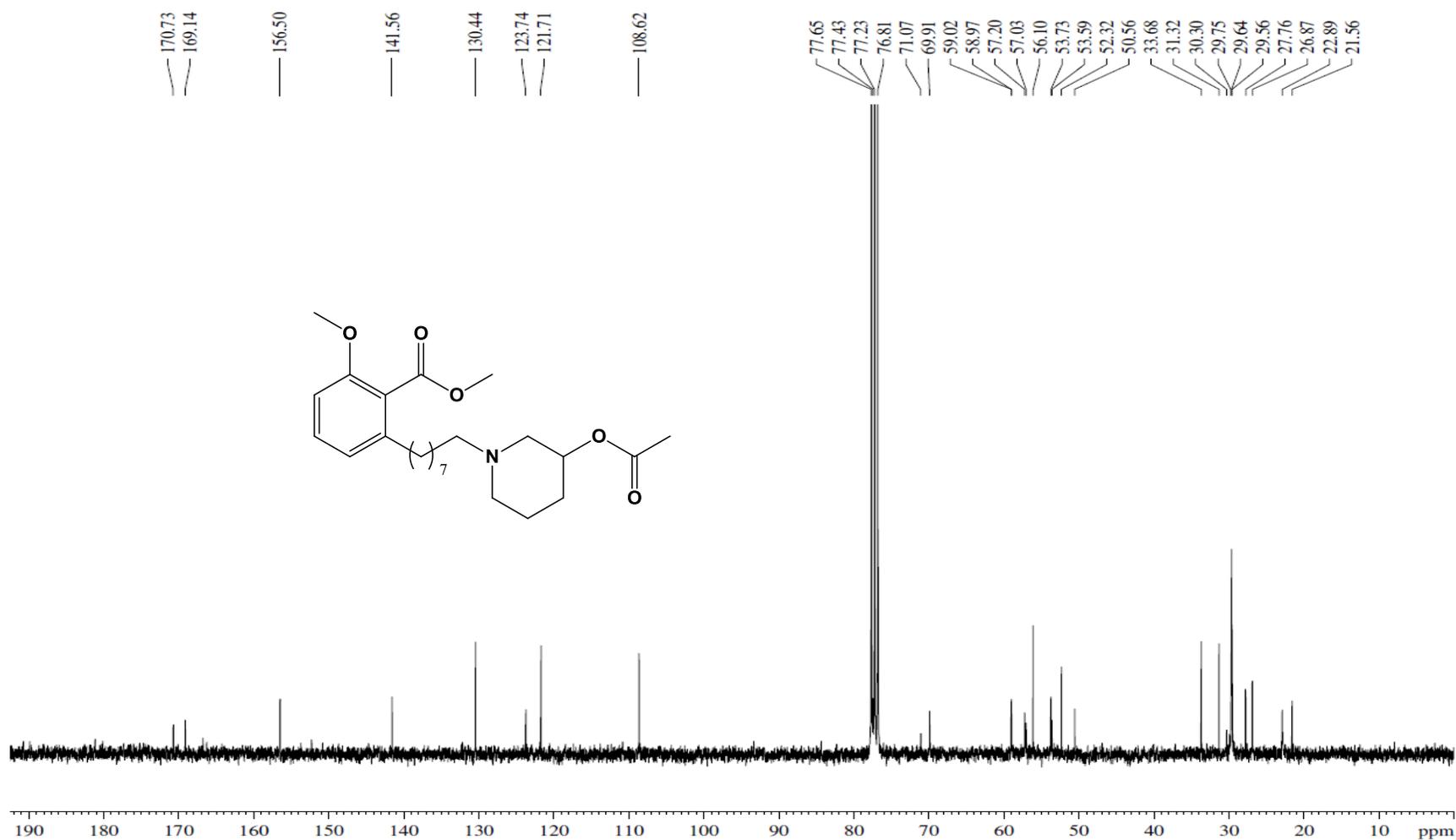
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT424 (49)

ANEXO 71



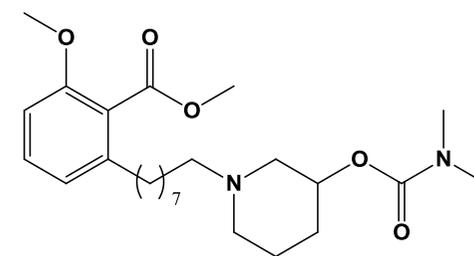
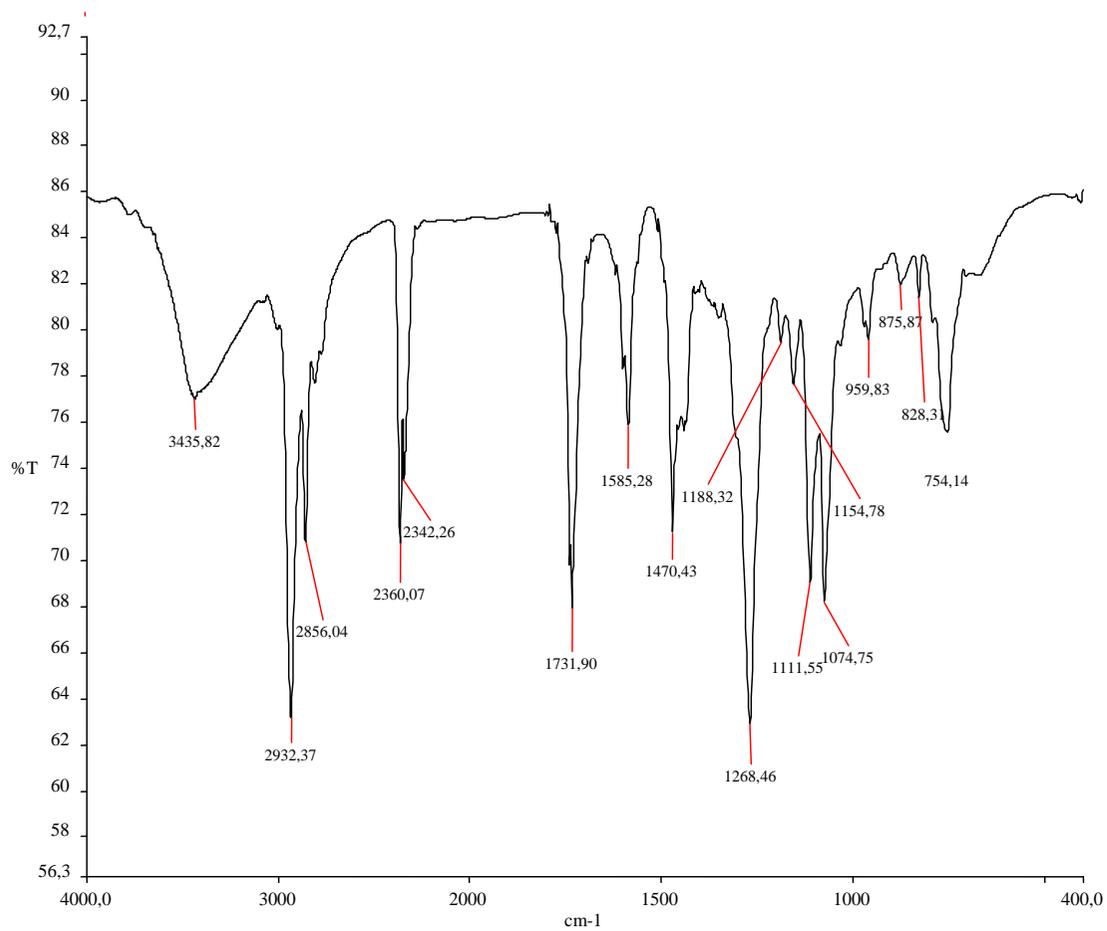
Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT424 (49)

ANEXO 72



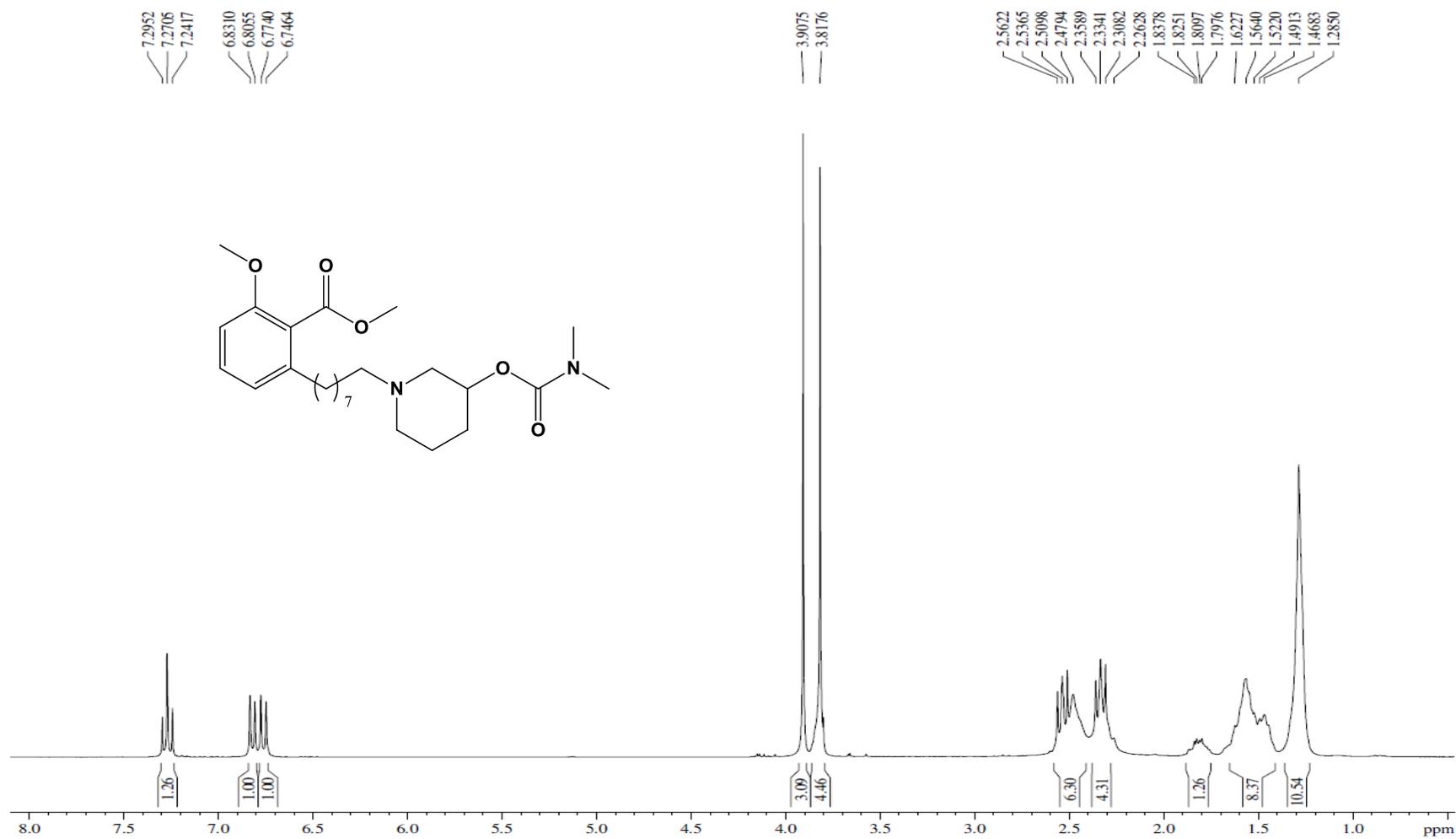
Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT424 (49)

ANEXO 73



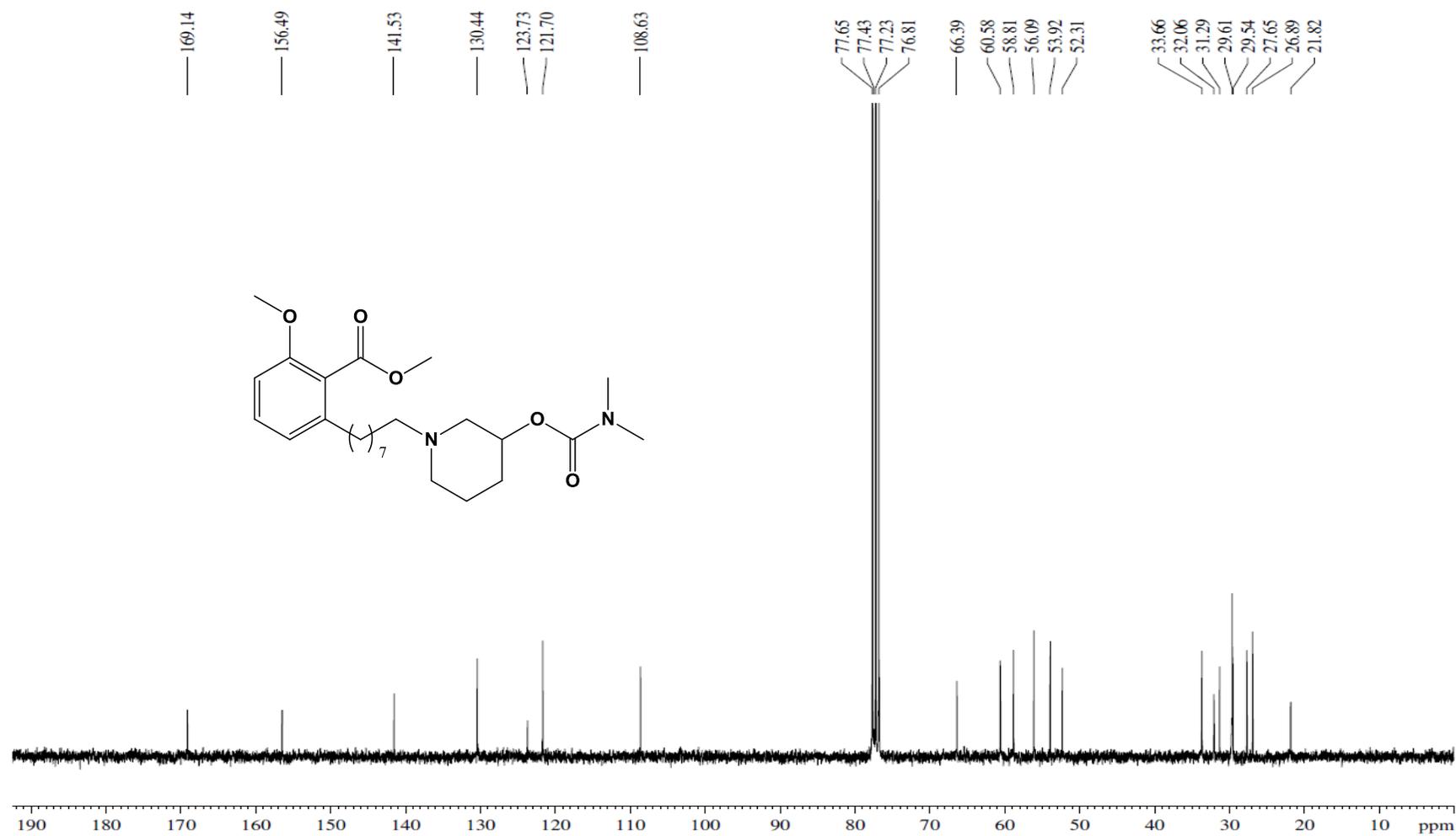
Espectro de Infravermelho (ν cm¹, KBr) – LDT425 (50)

ANEXO 74



Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) – LDT425 (50)

ANEXO 75



Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) – LDT425 (50)