



SÍNTESE E ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA DE DERIVADOS 1,3,5-TRIAZINO-SUBSTITUÍDO E 1,3,4-TIADIAZOL-B-CARBOLÍNICOS.

Safira Miyuki Ito (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Débora Cristina Baldoqui (Co-orientadora), Maria Helena Sarragiotto (Orientador), e-mail: mhsarragiotto@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR.

Ciências Exatas e da Terra - Química.

Palavras-chave: β -carbolina, 1,3,5-triazina, atividade anticolinesterárica.

Resumo:

Alcalóides β -carbolínicos possuem amplo espectro de propriedades bioquímicas e farmacológicas e, assim, várias trabalhos têm sido desenvolvidos por nosso grupo, tendo como enfoque a síntese e avaliação das atividades antiviral, anprotozoaria e antitumoral de novos derivados pertencentes a esta classe. Recentemente, a literatura tem reportado a ação de derivados β -carbolínicos como inibidores das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE), estas associadas à Doença de Alzheimer (DA). Dentro deste enfoque, neste trabalho sintetizou-se uma série de derivados β -carbolínicos contendo o grupo 1,3,5-triazino-substituído na posição-3, os quais foram avaliados frente às enzimas AChE e BuChE. Os derivados avaliados foram seletivos para a enzima BuChE e apresentaram valores de porcentagem de inibição na faixa de 43 a 80 % na concentração de 100 μ M.

Introdução

Alcalóides tetraidro- β -carbolínicos e β -carbolínicos possuem amplo espectro de propriedades bioquímicas e farmacológicas (CAO et. al., 2007) e, em função disto, várias pesquisas têm sido desenvolvidas para a sua obtenção, seja pela síntese ou pelo isolamento a partir de produtos naturais. Recentemente, a literatura tem relatado a ação de derivados β -carbolínicos como inibidores das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase, estas associadas à DA (ROOK et. al., 2010). A DA é uma doença neurodegenerativa caracterizada por distúrbio progressivo da memória e de





outras funções cognitivas. Atualmente existe uma série de fármacos comerciais focados na inibição das colinesterases (anticolinesteráricos) que são usados por pacientes com DA que não levam à cura, mas diminuem os sintomas da doença. No entanto, os efeitos colaterais causados levam a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos com baixa toxicidade. Com base nisso, neste trabalho foi proposta a síntese e avaliação da atividade anticolinesterásica de uma série de derivados β -carbolínicos contendo os grupos 1,3,5-triazino-substituído e 1,3,4-tiadiazol- β -carbolínicos na posição-3 com intuito de obter novos inibidores colinesterásicos.

Materiais e Métodos

Síntese da série de derivados β -carbolínicos

Os intermediários β -carbolínicos **5** e **6** (**Esquema 1**) foram sintetizados conforme procedimento descrito por nosso grupo de pesquisa (FORMAGIO et. al., 2008). Para a síntese dos híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina **7a-b** e **8a-b**, os intermediários **5a-b** e **6a-b**, respectivamente, foram submetidos à reação com cloreto cianúrico, seguido da adição de 10 equivalentes de isopropilamina e aquecimento da mistura reacional a 70°C, por 48 h. A mistura reacional foi resfriada e tratada com 2 mL de água destilada. Os precipitados formados foram filtrados e recristalizados em etanol o que forneceu os compostos **7a-b** e **8a-b**.

Metodologia para estudo in vitro da atividade anticolinesterásica

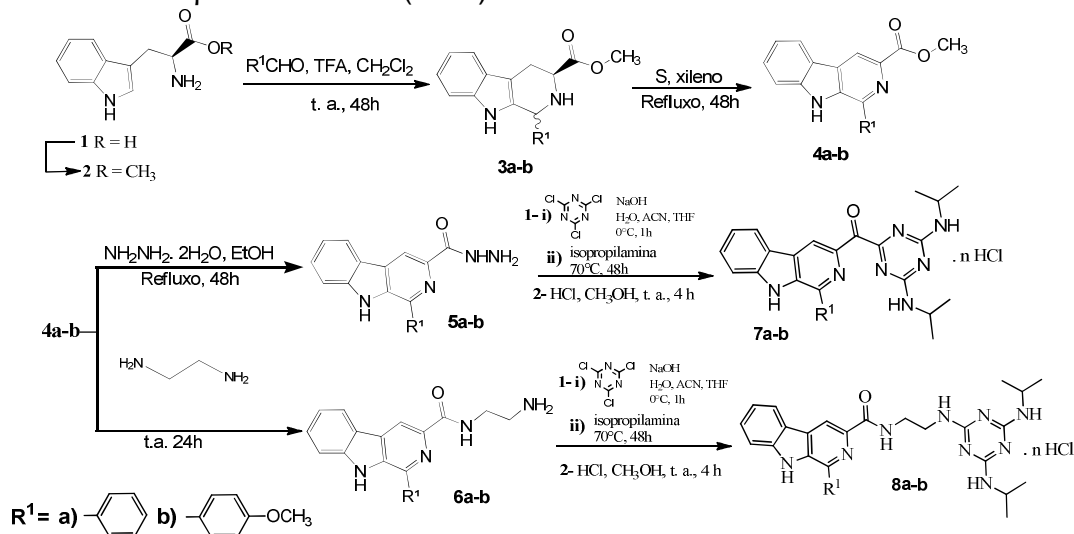
Os cloridratos dos compostos **7a-b** e **8a** foram preparados em água milli-Q e avaliados quanto à atividade inibitória da AChE e BuChE nas concentrações de 100 μ M e 10 μ M. O teste foi realizado em uma microplaca de 96 poços, adicionando-se 125 μ L de DTNB, 50 μ L de tampão fosfato pH 8, 25 μ L de amostra (compostos ou donepezila e para o controle 25 μ L de tampão) e a enzima (AChE ou BuChE). A placa foi incubada por 15 minutos, a 30°C, e a absorbância foi medida a cada 1 minuto no comprimento de onda de 412 nm. Após incubação, o substrato (iodeto de acetiltiocolina ou de butiriltiocolina) foi adicionado nos poços e a absorbância foi novamente medida a cada 1 minuto por 15 minutos. Os ensaios foram realizados em triplicata. O fármaco comercial donepezila foi usado como controle positivo.





Resultados e Discussão

A rota sintética para preparação dos derivados β -carbolínicos contendo o grupo 1,3,5-triazino-substituído na posição-3 está apresentada no **Esquema 1**. Os derivados β -carbolínicos foram sintetizados a partir do *L*-triptofano comercial (**1**). Este substrato foi esterificado com metanol, em meio ácido, obtendo-se o *L*-triptofano metil éster (**2**) em 91% de rendimento. As 1-(fenilssubstituído)-3-carbometóxi-1,2,3,4-tetraidro- β -carbolinas (**3a-b**) foram obtidas pela condensação de Pictet-Spengler de **2** com benzaldeído (**a**) e 4-metóxi-benzaldeído (**b**), utilizando-se catálise ácida, conforme procedimento descrito pelo nosso grupo de pesquisa (FORMAGIO et. al. 2008). Os produtos da condensação **3a-b** foram oxidados na presença de enxofre, sob refluxo em xileno, o que forneceu os derivados 1-(fenilssubstituído)-3-carbometóxi- β -carbolínicos (**4a-b**).



Esquema 1: Rota sintética para os derivados 1,3,5-triazino- β -carbolínicos.

As β -carbolina-3-carboidrazidas (**5a-b**) e as *N*-(aminoetil)- β -carbolina-3-carboxamidas (**6a-b**) foram obtidas por meio da reação de substituição nucleofílica de **4a** e **4b** com hidrazina hidratada e etilenodiamina, respectivamente. Os derivados β -carbolina-4,6-dissubstituído-1,3,5-triazínicos (**7a-b** e **8a-b**) foram preparados por meio da reação dos intermediários **5a-b** e **6a-b** com cloreto cianúrico, na presença de isopropilamina. As sínteses de **7a-b** e **8a-b** foram confirmadas pelos dados





de RMN de ^1H e de ^{13}C . A presença de sinais em δ_{H} 1,12 (s, 4CH_3) e δ_{H} 4,05 (s, 2CH), correlacionados com sinais em δ_{C} 22,5 (CH_3) e δ_{C} 40,7 (CH) respectivamente, são referentes ao grupo isopropil e confirmam a formação de **7a**. Os espectros de RMN dos demais derivados apresentaram comportamentos semelhantes ao de **8a**, confirmando as sínteses. Neste trabalho também foram preparados derivados β -carbolínicos contendo o grupo 1,3,4-tiadiazol na posição-3, os quais encontram-se em fase de caracterização. Os resultados dos ensaios de atividade anticolinesterásica mostraram que **7a-b** e **8a** foram inativos para AChE e apresentaram percentagem de inibição para BuChE de 69% para **7a**, 43% para **7b** e 80% para **8a**, na concentração de 100 μM . Para fins de comparação

Conclusões

Uma série de derivados β -carbolínicos contendo o grupo 1,3,5-triazino-substituído na posição-3 foram sintetizados e avaliados frente às enzimas AChE e BuChE. Os derivados foram seletivos para a BuChE apresentando valores de porcentagem de inibição na faixa de 43 – 80% na concentração de 100 μM . Os resultados mostraram que os compostos **7a** e **8a** são potenciais candidatos a agentes anticolinesterásicos.

Agradecimentos

À Fundação Araucária, ao CNPQ, à CAPES e ao DQI-UEM.

Referências

- CAO, R.; GUAN, X.; SHI, B.; CHEN, Z.; REN, Z.; PENG, W.; SONG, H. Design, synthesis and 3DQSAR of β -carboline derivatives as potent antitumor agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 45, p. 2503-2515, 2010.
- FORMAGIO, A.S.; TONIN, L. T. D.; FOGLIO M.A.; MADJAROF, C.; CARVALHO, J.E.; COSTA, W.F.; CARDOSO, F.P.; SARRAGIOTTO, M.H. Synthesis and antitumoral activity of novel 3-(2-substituted-1,3,4-oxadiazol-5-yl) and 3-(5-substituted-1,2,4-triazol-3-yl) β -carboline. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 16, p. 9660-9667, 2008.
- ROOK, Y.; SCHMIDTKE, K. U.; GAUBE, F.; SCHEPMANN, D.; WÜNSCH, B.; HEILMANN, J.; LEHMANN, J.; WINCKLER, T. Bivalent β -Carbolines as Potential Multitarget Anti-Alzheimer Agents. **J. Med. Chem.**, v. 53, p. 3611-3617, 2010.

