

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA DE HÍBRIDOS β -CARBOLINA-(PIPERAZINIL)-1,3,5-TRIAZINA

Débora Laís Gonçalves (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Caroline Fortuna (PG), Maria Helena Sarragiotto (Orientador), e-mail: ra107500@uem.br.

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

Química/Química Orgânica

Palavras-chave: β -carbolina, síntese, atividade anticolinesterásica.

Resumo:

A doença de Alzheimer (DA) trata-se de uma desordem multifatorial neurodegenerativa que afeta a memória, a capacidade cognitiva e a qualidade de vida das pessoas. Até o momento não existe cura para a DA, mas há tratamentos que podem auxiliar na melhora dos sintomas, os quais utilizam inibidores colinesterásicos, tendo como alvo as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE). Na pesquisa por novos inibidores colinesterásicos, várias classes de compostos têm sido exploradas, dentre elas, os compostos β -carbolínicos. Em trabalhos anteriores demonstramos que híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina apresentam potente atividade anticolinesterásica frente a BuChE. Em continuidade aos estudos, neste projeto realizamos a síntese e avaliação da atividade anticolinesterásica de novos híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina, contendo o grupo piperazinil como espaçador entre o núcleo β -carbolina e 1,3,5-triazina, com diferentes substituintes na posição-1 do anel β -carbolínico.

Introdução

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem multifatorial neurodegenerativa que leva a perda progressiva da memória e compromete a capacidade cognitiva, o que influencia significativamente na qualidade de vida das pessoas (LARSON, KUKULL, KATZMAN, 1992). Diferentes hipóteses foram propostas para a DA, dentre elas, a hipótese colinérgica, a qual está relacionada com os níveis do neurotransmissor acetilcolina (ACh), sendo a diminuição destes devido a hidrólise acetilcolina, catalisada pelas colinesterases AChE e BuChE (COLOVIC et al., 2013). Uma estratégia para minimizar o progresso da DA são os inibidores colinesterásicos, capazes de restaurar a função colinérgica, inibindo as enzimas AChE e BuChE e, consequentemente, aumentando os níveis sinápticos da ACh no cérebro. Estudos mostram que derivados β -carbolínicos são inibidores da AChE e BuChE, bem como, da fosforilação da proteína tau, alvos estes associados a doença de Alzheimer. Além de derivados β -carbolínicos, compostos contendo o núcleo 1,3,5-triazínico apresentam também uma vasta gama de atividades biológicas, incluindo atividade anticolinesterásica (LOLAK et al., 2020). Híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina, sintetizados e avaliados por nosso grupo de pesquisa (BARÉA et al., 2018)

apresentaram inibição seletiva da BuChE, exibindo valores de concentração necessária para inibição de 50% da atividade enzimática (IC_{50}) na faixa de 0.98 a 18.82 μ M. Os resultados promissores obtidos nos motivaram a dar continuidade aos estudos, com foco na síntese de novos híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina, contendo o grupo piperazinil como espaçador entre o núcleo β -carbolina e 1,3,5-triazina, bem como a avaliação da atividade anticolinesterásica dos compostos sintetizados.

Materiais e Métodos

Equipamentos

Os compostos sintetizados foram caracterizados pelos dados de RMN 1H e ^{13}C e ponto de fusão. Os espectros de RMN 1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro de RMN Bruker, modelo AVANCE III HD 300 MHz utilizando-se DMSO- d_6 ou $CDCl_3$ como solventes. Os pontos de fusão dos compostos sintetizados foram determinados em um aparelho Microquímica modelo MQAPF-301. As cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em placas de sílica gel, eluídas com mistura de solventes e reveladas sob radiação ultravioleta (256/366 nm). As purificações dos produtos foram realizadas em coluna de sílica gel 60 (0,063-0,2mm / 70-230 mesh ASTM) eluídas com misturas de solventes.

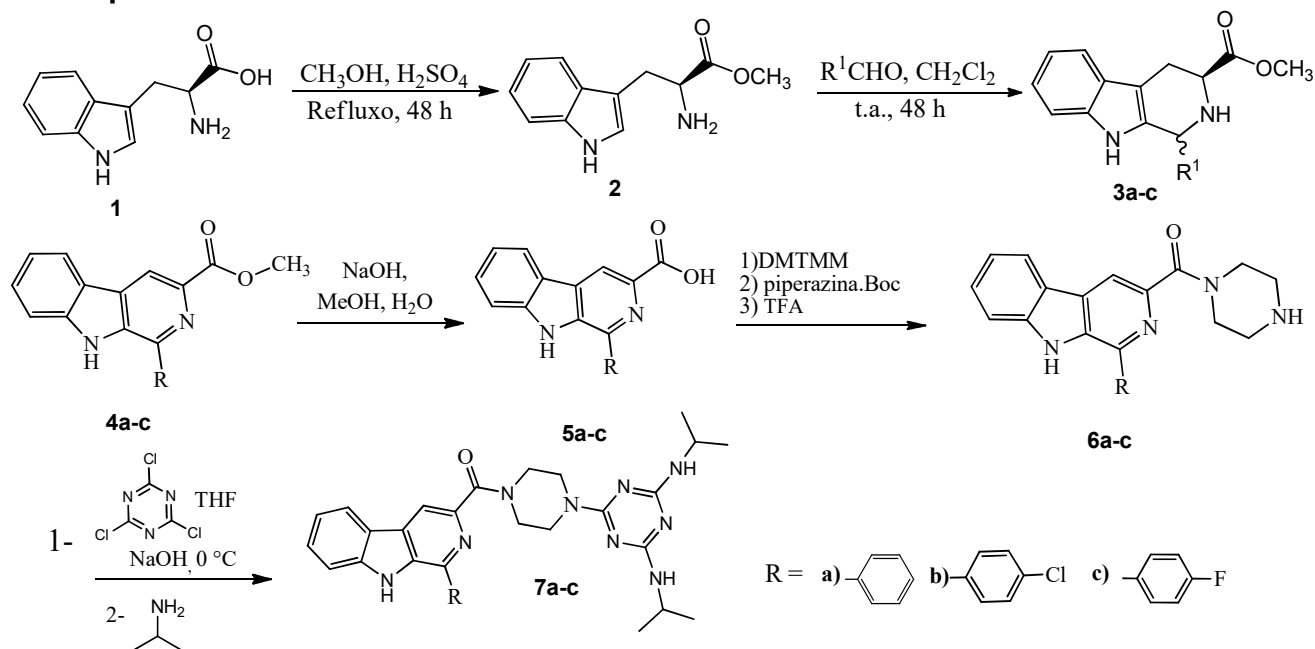
Síntese dos compostos 6a-c e 7a-c

Preparação dos derivados (**6a-c**): A uma suspensão de 0,5 g de **5a-c** em 30 mL de THF, adicionou-se 2 equivalentes de DMTMM, mantendo-se a mistura em agitação por 30 minutos a 100°C. Logo após, adicionou-se 1,5 equivalentes de Boc-piperazina, a agitação e o aquecimento foram mantidos por 48 horas. O resíduo obtido foi solubilizado em 15 mL de diclorometano e lavado com água destilada (2x10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada. Em seguida, foi solubilizada em $CHCl_3$ (2mL) e adicionado 1,5 mL de ácido trifluoroacético. A mistura reacional foi agitada à temperatura ambiente por 24 horas e tratada com uma solução 5% de Na_2CO_3 . A solução aquosa foi extraída com acetato de etila (3x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada, obtendo os produtos **6a-c** em 63-71% de rendimento.

Preparação dos híbridos β -carbolina-piperazinil-1,3,5-triazina (**7a-c**): A uma suspensão de cloreto cianúrico (0,2 mmol) em água-acetonitrila (1:1), a 0°C, adicionou-se um equivalente de **6a-c** suspenso em THF. Logo após, o pH foi ajustado na faixa entre 9-10 com uma solução de hidróxido de sódio 1mol L^{-1} e a reação foi mantida em agitação por uma hora. Em seguida, adicionou-se 10 equivalentes da isopropilamina e a mistura reacional foi mantida em agitação, a 70°C, por 48 horas. Após o período reacional, o solvente foi evaporado e em seguida, a fase orgânica foi extraída com diclorometano e lavada com água destilada (2 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporada, obtendo-se os compostos **7a-c** com rendimento na faixa de 46-60%.

Resultados e Discussão

Os híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina foram obtidos conforme mostrado no **Esquema 1**.



Esquema 1: Rota para a síntese de híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina Piperazinil.

Para obter os derivados β -carbólicos **6a-c**, partiu-se da reação de esterificação do L-triptofano (**1**) com metanol, em meio ácido, obtendo-se o L-triptofano metil éster **2** em 88% de rendimento. O L-triptofano metil éster foi submetido a reação de condensação de Pictet-Spengler com os respectivos aldeídos **a-c** sob catálise ácida, fornecendo os derivados **3a-c** com rendimentos na faixa de 84-87% (FORMAGIO, et al. 2008). Os derivados **3a-c** foram oxidados, sem purificação prévia, na presença de enxofre, sob refluxo em xileno, resultando em 1-fenilsubstituídos-3-carbometóxi- β -carbóli-**4a-c** em rendimentos na faixa de 81-86%. A reação dos intermediários **4a-c** com 1 equivalente de hidróxido de sódio forneceu as 1-fenilsubstituídos-3-carbóxi- β -carbóli-**5a-c** na faixa de 89-93% de rendimento. A introdução da unidade piperazina em **5a-c** foi realizada a partir da reação com piperazina-Boc e 4-(4,6-dimetóxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (DMTMM). A remoção do grupo Boc com ácido trifluoracético, forneceu **6a-c** em rendimentos de 63-71%. Os derivados **7a-c** foram preparados adicionando-se à uma suspensão de cloreto cianúrico em água-acetonitrila, a 0°C , 10 equivalentes de isopropilamina suspenso em THF, seguido da alcalinização do meio (BARÉA et al. 2018), obtendo rendimentos na faixa de 46% -60%.

A caracterização dos produtos formados foi realizada com base na análise de seus espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13 (RMN ^1H e ^{13}C). Os espectros do composto **7c**, por exemplo, apresentaram sinais em δ_{H} 6,49 (NH), 4,02 (CH), δ_{H} 1,08 (CH_3) e em δ_{C} 43,9 (CH) e δ_{C} 23,2 (CH_3) referentes ao

grupos isopropilamina, além dos sinais em δ_H 3,80 e δ_C 54,8 (CH_2), referentes ao grupo piperazinil. Os sinais na região δ_H 7,27 - 8,48, como também em δ_C 113,2 e δ_C 143,4 evidenciam a presença do núcleo β -carbonílico.

Os compostos foram avaliados *in vitro* frente as enzimas AChE e BuChE, pelo método espectrofotométrico de Ellman (RIDDLES, et al, 1979). Foram determinadas as porcentagens para a concentração de 100 μM . Os compostos **7a** e **7c** apresentaram inibição acima de 50% e, para estes, foram determinados os valores de IC_{50} , a partir de diluições em diferentes concentrações. O composto **7a**, foi o mais ativo para a enzima BuChE, com IC_{50} igual a 9,33 μM , considerado moderado em relação com o medicamento donepezila.

Conclusões

O presente trabalho resultou na síntese dos derivados híbridos β -carbolina-1,3,5-triazina **7a-c**, contendo grupo piperazinil como espaçador entre o núcleo β -carbolina e 1,3,5-triazina, com os substituintes benzaldeído, 4-clorobenzaldeído e 4-flúorbenzalaldeído, na posição-1 do anel β -carbólico. Os compostos sintetizados **7a** e **7c** avaliados, mostraram inibição acima de 50% referente as enzimas AChE e BuChE. O composto **7a** foi o que apresentou maior atividade frente a enzima BuChE com IC_{50} igual a 9,33 μM , sendo um resultado moderado em comparação com o medicamento donepezila.

Agradecimentos

CNPq, Fundação Araucária e UEM.

Referências

- BARÉA, P.; BARBOSA, V. A.; BIDÓIA, D. L.; PAULA, J. C.; STEFANELLO, T. F.; COSTA, W. F.; NAKAMURA, C. V.; SARRAGIOTTO, M. H. Synthesis, antileishmanial activity and mechanism of action studies of novel β -carboline-1,3,5-triazine hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2018, 150, 579–590.
- COLOVIC, M. B.; KRSTIC, D. Z.; LAZAREVIC-PASTI, T. D.; BONDZIC, A. M.; VASIC, V. M. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. **Current Neuropharmacology**, 2013, 11, 315–335.
- 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.**, 2008, 16, 9660–9667.
- LARSON, E. B.; KUKULL, W. A.; KATZMAN, R. L. Cognitive Impairment: Dementia and Alzheimer's Disease. **Annu. Rev. Publ. Health**. 1992, 13, 431–449.
- LOLAK, N.; AKOČAKA, S.; TÜRKEŞB, C. TASLIMIC, P.; IŞIKD, M; BEYDEMIRE, S.; **Medicinal Chemistry**, 2017, 136, 36–51.
- RIDDLES, P. W., BLAKELEY, R. L., ZERNER, B. Ellman's reagent: 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)—areexamination. **Anal. Biochem.**, 94, 75-81, 1979.