SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTICOLINESTERÁSICA DE HÍBRIDOS β-CARBOLINA-PIRIMIDINA

João Otavio Rodrigues Pereira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Débora Laís Gonçalves (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Caroline Fortuna (PG), Débora Cristina Baldoqui (Coorientador), Maria Helena Sarragiotto (Orientador). E-mail: ra112682@uem.br.

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

Química/Química Orgânica

Palavras-chave: β-carbolina; pirimidina; síntese orgânica.

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem multifatorial neurodegenerativa que afeta as capacidades cognitivas como, memória, concentração, atenção e linguagem. A DA ainda não tem cura, o que existe atualmente são tratamentos que auxiliam na melhora dos sintomas. Os inibidores colinesterásicos estão entre os medicamentos usados atualmente, tendo como alvo as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE), que causam hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh). A busca por novos e mais eficazes inibidores colinesterásicos tem levado à investigação de várias classes de compostos, dentre elas, os compostos β-carbolínicos e pirimidínicos, os quais apresentam uma ampla variedade de atividades biológicas, incluindo atividade anticolinesterásica. Trabalhos anteriores realizados por nosso grupo de pesquisa demonstraram que a introdução da unidade 1,3,5-triazina no núcleo β-carbolínico levou a novos compostos com potente atividade anticolinesterásica. Em continuidade às pesquisas nesta área, neste trabalho propusemos a síntese e avaliação da atividade anticolinesterásica de uma série de híbridos β-carbolina-pirimidina, contendo diferentes grupos amino nas posições-4 e -6 do anel pirimidínico.

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 são propostas para a patologia DA, mas a mais amplamente aceita é a hipótese colinérgica, a qual está relacionada com a diminuição dos níveis do neurotransmissor acetilcolina (ACh), sendo que esta ocorre pela hidrólise da ACh, catalisada pelas enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE). Uma estratégia desenvolvida para minimizar a progressão da DA são os inibidores da AChE e BuChE, os quais restauram a função colinérgica, resultando assim em um aumento dos níveis sinápticos de ACh no cérebro. A atividade anticolinesterásica de compostos β-carbolínicos é bem descrita

na literatura, e já foi demonstrada em trabalhos de nosso grupo de pesquisa (BARÉA et al., 2022), onde alguns híbridos β-carbolina-1,3,5-triazina sintetizados apresentaram inibição seletiva da enzima BuChE, exibindo valores de IC_{50} na faixa de 0.98 a 18.82 μM. Outros compostos que apresentam significante atividade anticolinesterásica são aqueles contendo o núcleo pirimidínico. Os resultados obtidos por nosso grupo de pesquisa motivaram a continuidade dos estudos na busca por novos compostos β-carbolínicos com atividade anticolinesterásica. Este trabalho teve como objetivo a síntese e avaliação da atividade anticolinesterásica de novos híbridos β-carbolina-pirimidina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Instrumentação

Os espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C foram obtidos no espectrômetro de RMN Bruker, modelo AVANCE III HD 300 MHz, frequência do núcleo ^{1}H a 300 MHz, utilizando-se DMSO-d6 ou $CDCl_3$, como solventes, e o TMS como referência interna. As cromatografias em camada delgada analítica (CCDA) foram realizadas em placas de sílica gel, eluidas com mistura de solventes e reveladas sob radiação ultravioleta (256/366 nm).

*Síntese dos compostos **6a-b**, **7a-d** e **8a-d***

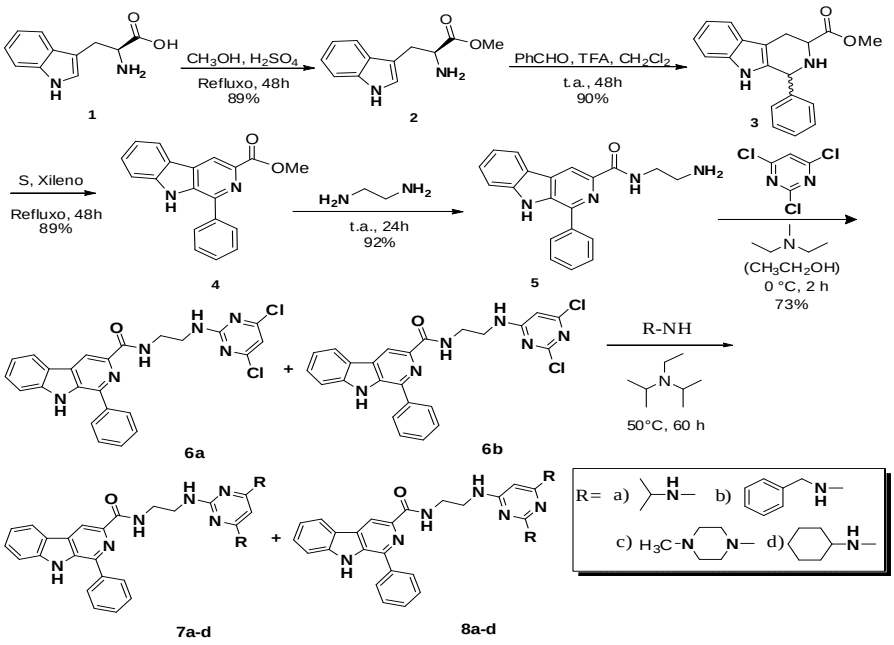
Preparação dos derivados (**6a-b**): A uma solução do composto N-(2-aminoetil)-1-(fenil)-β-carbolina-3-carboxamida (**5**) (1,5 mmol) em etanol (10 mL) foi adicionado 2,4,6-tricloropirimidina (1,5 mmol) e trietilamina (1,7 mmol), a 0 °C. A mistura reacional foi mantida sob agitação, a 0 °C, por 2 horas e, a seguir, resfriada em banho de gelo e tratada com água destilada. O precipitado formado foi lavado com água e filtrado a vácuo, fornecendo a mistura de isômeros **6a** e **6b** em rendimento de 73%.

Preparação dos híbridos β-carbolina-pirimidina (**7a-d e 8a-d**): A uma solução da mistura de **6a** e **6b** (0,21 mmol), em butanol ou acetonitrila (10 mL), foi adicionada a respectiva amina (2,1 mmol) e *N*,*N*-diisopropiletilamina (2,73 mmol). A mistura reacional foi mantida sob agitação, a 50°C, por 60 horas e, a seguir, tratada com água destilada. O precipitado formado foi filtrado a vácuo, fornecendo os híbridos β-carbolina-pirimidina **7b-d** e **8b-d**.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os híbridos β-carbolina-pirimidina foram sintetizados conforme rota sintética mostrada no **Esquema 1**. Para síntese do intermediário **5**, foi utilizado o método descrito por Formagio, et al. (2008), partindo da reação de esterificação do reagente comercial L-triptofano. A síntese das séries de híbridos β-carbolina-pirimidina

propostos em nosso trabalho foi baseada na metodologia descrita por Sagi et al. (2011).



Esquema 1. Rota sintética para preparação dos híbridos β-carbolina-pirimidina **7a-d** e **8a-d**.

A reação de substituição nucleofílica aromática entre o intermediário **5** com 2,4,6-tricloro-1,3-pirimidina comercial, em meio básico, resultou em uma mistura dos regioisômeros **6a** e **6b** em 73%. O espectro de RMN de ^{1}H da mistura dos regioisômeros **6a** e **6b** exibiu sinais em δ_H 7,32-8,93 (H aromáticos), δ_H 11,86 (NH indólico) e δ_H 3,07-3,64 (H metilênicos). Os sinais relacionados ao hidrogênio do núcleo pirimidínico aparecem em δ_H 6,83 e δ_H 6,52 para os isômeros **6a** e **6b**, respectivamente. Na sequência, para a síntese dos híbridos β-carbolina-pirimidina, a mistura de **6a** e **6b** foi submetida à reação de substituição nucleofílica aromática, em meio básico, com diferentes aminas (isopropilamina, benzilamina, N-metilpiperazina e cicloexilamina), utilizando-se *N*,*N*-diisopropiletilamina (DIPEA) como base. Os produtos obtidos foram caracterizados com base em seus dados espectroscópicos de RMN de ^{1}H e de ^{13}C. A reação com a isopropilamina não levou à formação dos produtos esperados **7a** e **8a**, observando-se apenas a recuperação dos materiais de partida, mesmo com o emprego de diferentes condições reacionais. A reação da mistura de **6a** e **6b** com as demais aminas, benzilamina, N-metilpiperazina e cicloexilamina, forneceu os respectivos híbridos **7b-d** e **8b-d**, conforme o proposto. Os espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C destes produtos apresentaram sinais compatíveis com a presença da unidade β-carbolina-N-etilcarboxamida e, do grupo pirimidínico, contendo as aminas especificadas como substituintes. Como exemplo, destacamos os dados espectroscópicos que confirmam a formação dos produtos **7b** e **8b**, com o grupo benzilamina ligado ao anel pirimidínico. Os espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C da mistura apresentam sinais em δ_H7,27-8,93 e δ_c113,1-142,0, relacionados aos hidrogênios e carbonos aromáticos do núcleo β-carbolínico e da benzilamina. Os

sinais referentes ao núcleo pirimídico aparecem em em δ_H 6,83 e δ_c103,3 para o **7b** e, em δ_H 6,52 e δ_c 99,4, para o isômero **8b**. Os compostos obtidos serão avaliados, na forma de mistura, frente às enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE).

CONCLUSÕES:

O presente trabalho resultou na síntese dos híbridos β-carbolina-pirimidina 7**b-d** e **8b-d,** a partir da partir da reação de substituição nucleofilica aromática (SN_{Ar}) da mistura dos regioisômeros **6a** e **6b** com as aminas benzilamina, N-metilpiperazina e cicloexilamina. Os regioisômeros **6a** e **6b** foram obtidos através da reação do intermediário β-carbolina-N-etilcarboxamida (**5**) com 2,4,6-tricloro-1,3-pirimidina comercial. Os derivados obtidos foram caracterizados com base em seus dados espectroscópicos de RMN de ^{1}H e de ^{13}C.

AGRADECIMENTOS:

CNPq, Fundação Araucária e UEM

REFERÊNCIAS:

AHMAD, S.; IFTIKHARAR, F.; ULLAH, F.; SADIQ, A.; RASHID, U. Rational design and synthesis of dihydropyrimidine based dual binding site acetylcholinesterase inhibitors. **Bioorganic Chemistry**, v. 69, p. 91–101, 2016.

BARÉA, P.; BARBOSA, V. A.; COSTA, W. F.; GAUZE, G. F.; GOMES, M. B.; NOVELLO, C. R.; SARRAGIOTTO, M. H. YAMAZAKI D. A. S.; Anticholinesterase activity of β-carboline-1,3,5-triazine hybrids**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**., v. 58, p. e19958-67, 2022.

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. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 9660-9667, 2008.

LARSON, E. B.; KUKULL, W. A.; KATZMAN, R. L. Cognitive impairment: Dementia and Alzheimer's Disease. **Annual Review of Public Health**, v. 13, p. 431–449, 1992.

SAGI, V. N.; LIU, T.; LU, X.; BARTFAI, T.; ROBERTS, E. Synthesis and biological evaluation of novel pyrimidine derivatives as sub-micromolar affinity ligands of GaLR2. **Bioorganic Chemistry Letters**, v. 21, p. 7210-7215, 2011.