

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

ISABELA WILL DE ANDRADE

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ARIL-ALQUILAMIDO-PIPERAZINAS
COMO LIGANTES DUAIS DE RECEPTORES H₃ E COLINESTERASES**

DIADEMA

2024

ISABELA WILL DE ANDRADE

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ARIL-ALQUILAMIDO-PIPERAZINAS
COMO LIGANTES DUAIS DE RECEPTORES H₃ E COLINESTERASES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo como exigência para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo dos Santos Fernandes

Co-orientadora: Dra. Marina Themoteo Varela

DIADEMA

2024

Dados Internacionais da Catalogação na Publicação (CIP)

Andrade, Isabela Will de

Síntese e avaliação da atividade de aril-alquilamido-piperazinas como ligantes duais de receptores H3 e colinesterases / Isabela Will de Andrade. – – Diadema, 2024.

210 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -
Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema, 2024.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo dos Santos Fernandes
Coorientadora: Dra. Marina Themoteo Varela

1. Declínio cognitivo. 2. Anticolinesterásicos. 3. Anti-histamínicos
H3. 4. Agentes multialvo. 5. Relação estrutura-atividade. I. Título.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Portanto, gostaria de agradecer à CAPES pelo auxílio financeiro concedido durante todo o período do meu mestrado.

Agradeço principalmente aos meus pais e à minha irmã pelo apoio e suporte que sempre me deram em todas as escolhas, inclusive a de realizar o mestrado. Obrigada pelo incentivo, paciência e compreensão durante toda essa jornada.

Agradeço aos meus amigos pelo suporte, companhia e paciência que tiveram comigo durante esse período. Vocês foram essenciais e me deram forças quando eu mais precisei.

Agradeço ao meu professor e orientador, Dr. João Paulo dos Santos Fernandes, pela confiança e auxílio para que eu pudesse realizar o mestrado. Sou imensamente grata pelos ensinamentos, conhecimentos e sugestões passadas que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e para a minha formação.

Agradeço à minha co-orientadora, Dra. Marina Themoteo Varela, pelos ensinamentos e conhecimentos passados, que também auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço aos meus colegas de bancada pelos ensinamentos, paciência e sugestões oferecidos, os quais certamente me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho. Sou grata também pela companhia, conversas e risadas que tivemos durante esse período.

Agradeço à Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) por conceder a infraestrutura e o local adequado para que eu realizasse a minha pesquisa de mestrado e participasse das disciplinas do programa.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por fornecer os subsídios e recursos necessários para que fosse possível o desenvolvimento do meu projeto (Processo 2019/24028-8).

Ao Prof. Dr. Holger Stark e seu grupo (Heinrich Heine University Dusseldorf) pelos resultados de ensaios de afinidade nos receptores H3 concedidos para compor este trabalho.

Agradeço à banca avaliadora por dedicar tempo na leitura desse trabalho e pelas sugestões concedidas.

Por fim, sou grata a todos que de alguma forma, direta ou indiretamente, auxiliaram na realização deste trabalho.

RESUMO

Grande parte das doenças neurológicas que acarretam declínio cognitivo, envolve um desbalanço de neurotransmissores no Sistema Nervoso Central (SNC). Desta forma, pelo fato dos sistemas colinérgico e histaminérgico estarem intimamente relacionados com os processos cognitivos, a interação entre alvos presentes nesses sistemas pode gerar considerável melhora na cognição. Em vista disso, o planejamento e desenvolvimento de um único fármaco capaz de agir em mais de um alvo de interesse seria uma estratégia viável para o tratamento do déficit cognitivo presente nessas doenças neurológicas. Portanto, na busca por novos agentes duais anti-colinesterásicos (ChE) e antagonistas/ agonistas inversos dos receptores H_3 (H_3R), um conjunto de aril-alquilamido-piperazinas foi planejado e sintetizado com variações dos substituintes da região aromática e do grupo básico. Estes compostos foram preparados a partir de fenóis, que foram alquilados com cloroalquilésteres, hidrolizados e então usados para preparar as amidas finais com substituintes piperazínicos. Onze compostos foram preparados, dos quais 9 foram testados quanto à capacidade de inibição nas colinesterases a 100 μM , sendo que os mais promissores tiveram o seu IC_{50} determinado. Como resultado, os compostos geraram porcentagens de inibição que variaram de 16-65% na butirilcolinesterase (BuChE) e 40-59% na acetilcolinesterase (AChE), sendo que o composto **6a** apresentou a melhor capacidade de inibição na BuChE (IC_{50} 57,75 μM), e alguma atividade na AChE (59% de inibição a 100 μM). Apenas os compostos **6a** e **6b** foram testados quanto à inibição do H_3R (1 μM), apresentando 58% e 50% de taxas de inibição, respectivamente. Em suma, os compostos precisam ser aprimorados futuramente para atingir melhores resultados como inibidores das ChEs e afinidade nos H_3Rs .

Palavras-chave: desordens neurológicas, declínio cognitivo, anti-colinesterásicos, anti-histamínicos H_3 , agentes multialvo, cognição, REA.

ABSTRACT

Most neurological diseases that lead to cognitive decline involve an imbalance of neurotransmitters in the Central Nervous System (CNS). Thus, since the cholinergic and histaminergic systems are closely related in cognitive processes, the interaction with these targets present in these systems can generate considerable improvement in cognition. In view of this, the design and development of a single drug, known as multitarget approach, capable of acting in more than one target of interest would be a viable strategy for the treatment of the cognitive deficit present in these neurological diseases. Therefore, in the search for novel dual anti-cholinesterase (ChE) and histamine H₃ receptor (H₃R) antagonist agents, a set of aryl-alkylamido-piperazines were designed and synthesized with variations on the substituents in the aromatic moiety and in the basic group. The compounds were prepared from phenols, which were alkylated with chloroalkyl esters, hydrolyzed and then, used to prepare the final amides with piperazines substituents. 11 compounds were prepared, in which 9 were tested for their capacity to inhibit cholinesterases at 100 μ M, with the most promising having their IC₅₀ determined. As a result, the compounds generated inhibition percentages that ranged from 16-65% on butyrylcholinesterase (BuChE) and 40-59% on acetylcholinesterase (AChE), in which compound **6a** showed the best inhibition capacity on BuChE (IC₅₀ 57.75 μ M) and some activity on AChE (59% of inhibition at 100 μ M). Only compounds **6a** and **6b** were tested for inhibition on H₃R (1 μ M), showing 58% and 50% of inhibition rates, respectively. In short, the compounds need to be improved in the future to achieve better results as ChEs inhibitors and affinity on H₃R.

Keywords: neurological disorders, cognitive decline, anticholinesterases, antihistamines H₃, multitarget agents, cognition, SAR.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Áreas do cérebro relacionadas com a cognição.....	24
Figura 2 - Esquema genérico de uma sinapse química.	25
Figura 3 - Componentes cerebrais presentes na via histaminérgica.	27
Figura 4 - Descarboxilação da L-histidina em histamina pela HDC e inativação da histamina em <i>te/e</i> -metil-histamina (tmHA) pela HA N-metiltransferase (HNMT).	28
Figura 5 - Estrutura de antagonistas H ₃ R imidazólicos. Amarelo: grupo lipofílico terminal; roxo: anel imidazólico (grupo básico).....	31
Figura 6 - Estrutura do pitolisanto. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: substituinte lipofílico ligado ao grupo básico.	32
Figura 7 - Estrutura de antagonistas H ₃ R não-imidazólicos. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: substituinte lipofílico ligado ao grupo básico. .	33
Figura 8 - Antagonistas do H ₃ R em investigação em vários estágios de desenvolvimento clínico. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: substituinte lipofílico ligado ao grupo básico.....	34
Figura 9 - Estrutura geral de ligantes de H ₃ R.	34
Figura 10 - Compostos bifeniloxialquílicos com piperidina com afinidade por H ₃ R. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.	36
Figura 11 - Moléculas derivadas de piperidinas e homopiperidinas com a região aromática substituída com afinidade por H ₃ R. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.	36
Figura 12 - Moléculas com afinidade por H ₃ R com variação no espaçante. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.	37
Figura 13 - Compostos LINS01 com melhor afinidade por H ₃ R. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.....	38
Figura 14 - Compostos FUB 181 e LINS01003 . Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.	39
Figura 15 - Vias colinérgicas no cérebro humano.....	40

Figura 16 - Principal mecanismo de terminação da transmissão colinérgica (rápida hidrólise pela AChE).....	42
Figura 17 - Esquema de reação da hidrólise da ACh catalisada pela AChE.	43
Figura 18 - Representação esquemática dos locais de ligação da AChE.	44
Figura 19 - Estrutura de fármacos iAChE que já foram ou são utilizados no tratamento da DA.	46
Figura 20 - Padrão de interação da donepezila com o sítio ativo da AChE.	48
Figura 21 - Representação da estrutura da donepezila com destaque para os grupos responsáveis pela interação com a AChE. Amarelo: região aromática lipofílica (indano) = interação com o PAS; roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica (benzilamina) em verde = interação com o CAS.	48
Figura 22 - Compostos baseados na estrutura da donepezila com potente atividade inibitória pelas colinesterases. Amarelo: região aromática lipofílica (indano); roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica.....	50
Figura 23 - Compostos baseados na estrutura da donepezila com potente atividade inibitória pelas colinesterases Amarelo: região aromática lipofílica; roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica (benzilpiperidina).	50
Figura 24 - Compostos LINS01 com melhores afinidades pelas colinesterases. Amarelo: região aromática lipofílica; roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica (benzilamina).	51
Figura 25 - Representação esquemática da interação entre HA e ACh no SNC.....	52
Figura 26 - Estratégias para a obtenção de fármacos multialvo.	54
Figura 27 - Compostos FUB e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico (fragmento da tacrina); roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.	55
Figura 28 - Compostos híbridos com fragmentos tri- e tetracíclicos ligados a aminas cíclicas e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico (fragmento similar à tacrina); roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.....	56
Figura 29 - Compostos híbridos com farmacóforos de isoflavonóides e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico	

(fragmento similar à tacrina); roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.	57
Figura 30 - Composto XXVIII e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.....	58
Figura 31 - Compostos LINS01 e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.....	59
Figura 32 - Compostos derivados de propionil-fenoxi-pentil(-hexil) e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.	60
Figura 33 - Compostos derivados de benzofenonas e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.....	60
Figura 34 - Compostos LINS05 e seus resultados de afinidade por H ₃ R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.....	61
Figura 35 - Compostos aril-alquilamido piperazinas planejados com afinidade por H ₃ R/ChEs.	64
Figura 36 - Esquema representativo de uma S _N 1 e S _N 2.....	72
Figura 37 - Provável mecanismo geral da alquilação de fenóis por substituição nucleofílica S _N 2.	73
Figura 38 - Esquema representativo de uma S _N 2 e E2 em competição.	76
Figura 39 - Mecanismo de reação de possível eliminação bimolecular (E2) na alquilação do fenil-fenol com as amidas correspondentes.	77
Figura 40 - Espectro de possível produto de eliminação do composto 1c	77
Figura 41 - Espectro de possível produto de eliminação do composto 1a	78
Figura 42 - Mecanismo de hidrólise dos ésteres em meio básico.	79
Figura 43 - Mecanismo geral da síntese das amidas com o uso do EDC como agente de acoplamento e o HOBt como catalisador.	81
Figura 44 - Mecanismo de desproteção da Boc-piperazina.....	83

Figura 45 - Representação dos mecanismos envolvidos em reações de substituição nucleofílica a partir de brometo de alila. 84

Figura 46 - Estimativa da permeação dos compostos finais pela BHE, pelo intestino e potencial de interação com a Pgp pelo modelo “BOILED-Egg”. Os compostos representados na área amarela são estimados com boa permeação intestinal e pela BHE, enquanto a área branca indica apenas potencial de adequada biodisponibilidade oral. Os pontos azuis indicam compostos com potencial de serem substratos da Pgp..... 93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimentos referentes à síntese de alquilação dos fenóis.	75
Tabela 2 - Rendimentos referentes à hidrólise dos ésteres em meio básico.	79
Tabela 3 - Rendimentos referentes à amidação do fenoxialquil ácidos.	82
Tabela 4 - Rendimentos referentes à amidação do haloalquil ácidos.	82
Tabela 5 - Atividade inibitória dos compostos sintetizados medida após incubação com AChE ou BuChE. Os dados são expressos em porcentagem de atividade inibitória (I%) $\pm$ erro padrão da média (EPM).	85
Tabela 6 - Estimativa das propriedades farmacocinéticas de solubilidade logS (ESOL), de lipofilicidade (wlogP) e de transporte (TPSA) dos compostos finais.	91
Tabela 7 - Rendimento das alquilamidopiperazinas com espaçante de 3 carbonos.	96
Tabela 8 - Rendimento das alquilamidopiperazinas com espaçante de 5 carbonos.	98
Tabela 9 - Rendimento dos ésteres sintetizados.	99
Tabela 10 - Rendimento dos ácidos sintetizados.	102
Tabela 11 - Rendimento das aril-alquipiperazinas sintetizadas.	104
Tabela 12 - Rendimento das aril-alquipiperazinas sintetizadas.	107
Tabela 13 - Rendimento das aril-alquipiperazinas sintetizadas.	112
Tabela 14 – Dados de RMN ^1H do 3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1a).	151
Tabela 15 – Dada de RMN ^{13}C do ácido 3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1a).	152
Tabela 16 – Dados de RMN ^1H do 3-cloro-1-4-(etilpiperazin-1-il) propan-1-ona ...	153
Tabela 17 – Dados de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (1b).	154
Tabela 18 – Dados de RMN ^1H do t-butil 4-(3-cloropropanoil) piperazina-1-carboxilato (1c).	155
Tabela 19 – Dada de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (1c).	156
Tabela 20 – Dados de RMN ^1H do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -5-bromo-pentan-1-ona (2a).	157
Tabela 21 – Dados de RMN ^{13}C do 4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (2a).	158

Tabela 22 – Dados de RMN ¹ H do Tert-butil 4-(5-bromopentanoil) piperazina-1-carboxilato (2b).....	159
Tabela 23 – Dados de RMN ¹ H do 4-fenilfenoxi 4-butanoato de etila (3a).....	160
Tabela 24 – Dados de RMN ¹³ C do 4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (3a).	161
Tabela 25 – Dados de Cromatografia a gás acoplado à Espectrometria de massas (CG/MS) (3a).	162
Tabela 26 – Dados de RMN ¹ H do 4-clorofenoxi 4-butanoato de etila (3b).	163
Tabela 27 – Dados de Cromatografia a gás acoplado à Espectrometria de massas (CG/MS) (3b).....	164
Tabela 28 – Dados de RMN ¹ H 4-metoxifenoxi 4-butanoato de etila (3c).....	165
Tabela 29 – Dados de Cromatografia a gás acoplado à Espectrometria de massas (CG/MS) (3c).	166
Tabela 30 – Dados de RMN ¹ H do t-Butil 4-[5-(4-fenilfenoxi)pentanoil]piperazina-1-carboxilato (4a):.....	167
Tabela 31 – Dados de RMN ¹³ C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il)-4-(4-metoxifenoxi)butan-1-ona (4a).....	168
Tabela 32 – Dados de RMN ¹ H do ácido 4-(4-fenilfenoxi) butanóico (5a).....	169
Tabela 33 – Dados de RMN ¹³ C do ácido 4- (4-fenilfenóxi) butanóico (5a).	170
Tabela 34 – Dados de RMN ¹ H do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (5b).	171
Tabela 35 – Dada de RMN ¹³ C do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (5b).....	172
Tabela 36 – Dados de RMN ¹ H 1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6a).	173
Tabela 37 – Dados de RMN ¹³ C do 1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6a).	174
Tabela 38 – Dados de RMN ¹ H do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6b).....	176
Tabela 39 – Dados de RMN ¹³ C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6b).....	177
Tabela 40 – Dados de RMN ¹ H do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c).	179

Tabela 41 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c).	180
Tabela 42 – Dados de RMN ^1H 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a).	182
Tabela 43 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7a).	183
Tabela 44 – Dados de RMN ^1H 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (11b).	185
Tabela 45 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7b).	186
Tabela 46 – Dados de RMN ^1H 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7c).	188
Tabela 47 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7c).	189
Tabela 48 – Dados de RMN ^1H 1-(4-propilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7e).	191
Tabela 49 – Dados de RMN ^{13}C do 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7e).	192
Tabela 50 – Dados de RMN ^1H 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7f).	194
Tabela 51 – Dados de RMN ^{13}C do 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7f).	195
Tabela 52 – Dados de RMN ^1H 1-(4-alilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7g).	196
Tabela 53 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-alilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7g).	197
Tabela 54 – Dados de RMN ^1H 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-metóxi-fenóxi) butan-1-ona (8a).	199
Tabela 55 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8a).	200

Tabela 56 – Dados de RMN ^1H do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-metóxfenóxi) butan-1-ona (8b).....	202
Tabela 57 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8b).....	203
Tabela 58 – Dados de RMN ^1H do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c).	205
Tabela 59 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c).....	206

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Procedimento sintético geral para a obtenção dos compostos 6a - 6c, 7a - 7e, 8a - 8c .	66
Esquema 2 - Procedimento sintético geral para a obtenção dos compostos 7f e 7g .	66
Esquema 3 - Procedimento sintético geral para a obtenção dos compostos com variações no tamanho do espaçante.	66
Esquema 4 - Procedimento sintético para os compostos aril-alquilamidopiperazinas finais. R ² -piperazina (1,2 eq.), EDC (1 eq.), HOBt (1 eq.), DCM, t.a., 24 h.	67
Esquema 5 - Procedimento sintético da alquilação de fenóis. 4-cloro-butanoato de etila (1,2 eq.), K ₂ CO ₃ (2 eq.), KI (2 eq.), acetonitrila, refluxo, 80°C, 24 h.	67
Esquema 6 - Procedimento sintético de hidrólise dos ésteres. LiOH monoidratado (4 eq.), metanol (2 eq.), THF, refluxo, 60°C, 24 h.	68
Esquema 7 - Procedimento sintético para os compostos aril-alquilamidopiperazinas finais. R ² -piperazina (1,2 eq.), EDC (1 eq.), HOBt (1 eq.), DCM, t.a., 24 h.	68
Esquema 8 - Procedimento sintético para a preparação dos compostos finais com substituinte alila. Ácido trifluoroacético (TFA) (4 eq.), H ₂ O (1 eq.), DCM, t.a., 18-24 h.	69
Esquema 9 - Brometo de alila (1 eq.), K ₂ CO ₃ (1 eq.), tetrahidrofurano (THF), t.a., 12-24 h.	69
Esquema 10 - Procedimento sintético para a obtenção das alquilamidopiperazinas com espaçante de 3 carbonos.	96
Esquema 11 - Procedimento sintético para a obtenção das alquilamidopiperazinas com espaçante de 5 carbonos.	98
Esquema 12 - Procedimento sintético para a alquilação dos fenóis.	99
Esquema 13 - Procedimento sintético para a alquilação dos fenóis com espaçante de 5 carbonos.	101
Esquema 14 - Procedimento sintético de hidrólise dos ésteres obtidos.	102
Esquema 15 - Procedimento sintético para obtenção dos compostos 6a-c.	104
Esquema 16 - Procedimento sintético para obtenção dos compostos 7a-d .	106
Esquema 17 - Procedimento sintético para obtenção do composto 7e .	109

Esquema 18 - Procedimento sintético para a desproteção da Boc-piperazina.....	110
Esquema 19 - Procedimento sintético para a alilação da aril- alquilamidopiperazina.....	111
Esquema 20 - Procedimento sintético para a obtenção dos produtos 8a-c	112

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
2.1. Cognição e comprometimento cognitivo	23
2.2. Sistema histaminérgico	27
2.3. Sistema colinérgico	39
2.3.2. Inibidores da acetilcolinesterase	45
2.3.3. Inibidores duais AChE / BuChE	49
2.4. Correlação entre o sistema histaminérgico e o sistema colinérgico	51
2.5. Abordagem multialvo: ligantes duais H₃R/ChEs	53
3. OBJETIVOS	63
4. METODOLOGIA	64
4.1. Planejamento dos compostos	64
4.2. Materiais	64
4.3. Estratégia sintética	65
4.3.1. Obtenção das amidas intermediárias	67
4.3.2. Obtenção dos éteres	67
4.3.3. Obtenção dos ácidos	67
4.3.4. Obtenção das amidas	68
4.3.5. Obtenção da piperazina (desproteção da 1-Boc-piperazina)	68
4.3.6. Obtenção do composto 7g	69
4.3.7. Obtenção dos maleatos	69
4.4. Avaliação da atividade anticolinesterásica	69
4.5. Avaliação da afinidade por H₃R	70
4.6. Avaliação in silico das propriedades físico-químicas	70
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
5.1. Síntese dos compostos	72
5.1.1. Alquilação dos fenóis por substituição nucleofílica	72

5.1.2. Hidrólise	78
5.1.3. Síntese das amidas com o uso de agentes de acoplamento	80
5.1.4. Síntese de desproteção da Boc	83
5.1.5. Síntese de alilação das piperazinas.....	83
5.2. Avaliação da atividade farmacológica.....	84
5.3. Avaliação in silico das propriedades físico-químicas	89
6. CONCLUSÕES.....	95
7. EXPERIMENTAL	96
7.1. Síntese das aril-alkilamidopiperazinas	96
7.1.1. Síntese das acilpiperazinas	96
7.1.1.1. Ácido 3-cloro-propanóico	96
7.1.1.2. Ácido 5-bromo-pentanóico.....	98
7.1.2. Alquilação dos fenóis	99
7.1.2.1. Ésteres como reagentes	99
7.1.3. Síntese dos ácidos.....	102
7.1.4. Acilação das piperazinas com o ácido 4-(4-fenilfenóxi) butanóico.....	104
7.1.5. Acilação das piperazinas com o ácido 4-(4-clorofenoxi) butanóico.....	106
7.1.5.1. Preparação dos produtos 7a-d	106
7.1.5.2. Preparação do produto propilpiperazínico 7e	109
7.1.6. Desproteção do composto 7d	110
7.1.7. Alilação do composto 7f	111
7.1.8. Acilação das piperazinas com o ácido 4-(4-metoxifenoxi) butanóico.....	112
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
APÊNDICE	151
ANEXOS	208
Anexo 1	209
Anexo 2	210
Anexo 3	212

1. INTRODUÇÃO

Em termos gerais, a cognição é definida como a capacidade do cérebro de adquirir, processar, armazenar e recuperar informações (Khera; Rangasamy, 2021). Possui sua base biológica principalmente no cérebro, mais especificamente no SNC, na qual depende da interação entre neurônios através de sinapses e potenciais de ação (Berger et al, 2010) que são responsáveis por auxiliar e/ou promover diversas funções cognitivas tais como a memória, atenção, linguagem, raciocínio abstrato e funções executivas (Harvey, 2019).

Entretanto, certas desordens neurológicas podem gerar distúrbios no circuito de neurotransmissão, havendo a possibilidade do surgimento de disfunções cognitivas. A disfunção cognitiva é uma das características mais típicas em diversas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (DA), demência vascular (DV) e a doença de Parkinson (DP) em seu estágio avançado, (Engelhardt et al., 2011; Wang et al., 2022; Teleanu et al., 2022).

A DA, por exemplo, é uma demência que possui como característica a perda progressiva de neurônios colinérgicos no córtex e no hipocampo, ocasionando a diminuição de acetilcolina (ACh) disponível na fenda sináptica para interagir com seus respectivos receptores, e, portanto, gerando prejuízos cognitivos nesses pacientes. Isso porque a ACh é um neurotransmissor responsável por participar dos processos de aprendizagem, formação e consolidação da memória, atenção, motivação e promoção do controle de sono e vigília (Graef, 2011; Hasselmo; Sarter, 2011; Haam; Yakel, 2017). Desta forma, os inibidores da acetilcolinesterase (iAChE) podem aumentar os níveis de ACh na fenda sináptica e melhorar parcialmente os sintomas cognitivos e a qualidade de vida de pacientes com DA leve a grave (Ferreira-Vieira et al., 2016).

Além da ACh, a histamina (HA) possui papel importante na cognição, já que esse neurotransmissor participa dos processos de formação e consolidação de memória, aprendizagem, controle do ciclo de sono e vigília e ingestão de alimentos, regulação comportamental e controle motor. Ademais, um de seus receptores, o H₃, é expresso tanto como auto-receptor inibitório, controlando a produção e liberação de HA pelos neurônios histaminérgicos, quanto um hetero-receptor em uma variedade de neurônios, incluindo neurônios colinérgicos (Nikolic et al., 2014). Desta

forma, fármacos que inibem a sinalização pelo receptor H₃ (H₃R) podem bloquear seus efeitos inibitórios, aumentando os níveis cerebrais de HA, bem como os níveis de ACh, podendo gerar efeitos pró-cognitivos (Scammell et al., 2019).

Evidências recentes e crescentes indicam que a modulação simultânea de alvos colinérgicos e histaminérgicos pode trazer melhoria nos processos cognitivos. Tendo em vista que os sistemas histaminérgicos e colinérgicos exercem um papel essencial e reconhecido nos processos cognitivos, uma combinação e sinergismo desses efeitos podem gerar resultados positivos no tratamento de doenças relacionadas ao declínio cognitivo que envolvam esses sistemas, como na DA (Aquino-Miranda; Arias-Montaña, 2012; Lopes et al., 2021).

Com base nisso, o planejamento de um único fármaco capaz de atuar como antagonista/ agonista inverso dos H₃R e inibidor das colinesterases numa estratégia conhecida como planejamento de ligantes multialvos, pode ser uma solução viável, já que devido à complexidade das doenças multifatoriais mentais, os fármacos seletivos, de alvo único, nem sempre apresentam eficácia satisfatória (Jończyk et al., 2019; Féger; Hirsch, 2015). Além disso, os fármacos multialvo podem também proporcionar outros benefícios, tais como a redução de interações fármaco-fármaco e simplificação do esquema terapêutico (Talevi, 2015).

Para a obtenção de fármacos multialvo, existem algumas estratégias utilizadas tais como *linking*, *fusing* ou *merging* (Prati et al., 2016). Entretanto, a estratégia de *merging* proporciona diversas vantagens comparados às outras estratégias de hibridização, sendo elas, a geração de moléculas com menor peso molecular, menor lipofilicidade e melhores parâmetros de eficiência de ligante (Lopes et al., 2021). Tal estratégia consiste na sobreposição de duas moléculas diferentes, geralmente com um farmacóforo comum (Prati et al., 2016). Esse é o caso dos antagonistas/ agonistas inversos dos H₃R e a donepezila, um fármaco inibidor da acetilcolinesterase, que possuem uma estrutura semelhante entre si, portanto, possibilitando a utilização da estratégia *merging* (Lopes et al., 2021).

Existem alguns exemplos da literatura que mostram o *merging* como estratégia de hibridização para a obtenção de compostos com afinidade dual em H₃R e ChEs. Entretanto, como é uma linha de pesquisa recente, ainda há a necessidade de exploração, otimização e desenvolvimento de novas moléculas com

potencial pró-cognitivo que podem vir a ser utilizados para o tratamento de certas doenças com prejuízo cognitivo como na DA (Bajda et al., 2012; Corrêa; Fernandes, 2018; Aranha et al., 2023; Godyń et al., 2022).

Considerando isso, neste trabalho pretende-se explorar o potencial de compostos capazes de modular os sistemas de neurotransmissão histaminérgica e colinérgica nos processos cognitivos, especificamente utilizando como alvos farmacológicos os receptores H₃ de histamina e as colinesterases, através de estratégias de planejamento multialvo.

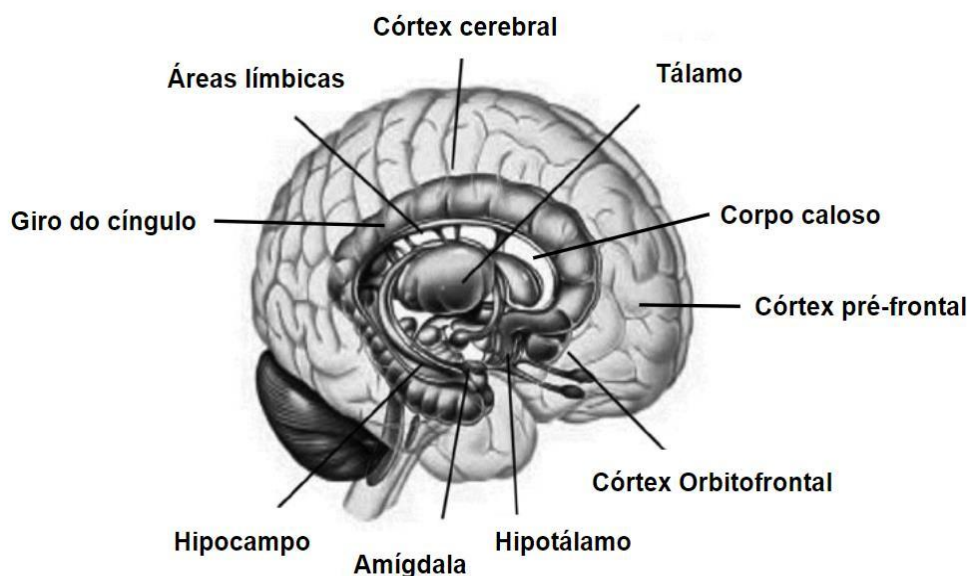
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cognição e comprometimento cognitivo

A cognição pode ser definida como a capacidade do cérebro de adquirir, processar, armazenar e recuperar informações. É um processo na qual adquire-se conhecimento e entendimento através dos sentidos, pensamentos e experiências, permitindo uma compreensão das informações sobre o mundo a nossa volta e uma interação de forma segura com o meio-ambiente (Robbins, 2011; Khera; Rangasamy, 2021; Dhakal; Bobrin, 2023).

Os processos cognitivos são controlados por diversas áreas do cérebro através de mecanismos também complexos (**Figura 1**). Dentre esses domínios cognitivos, há o sistema límbico que possui um papel crucial na cognição. O sistema límbico é caracterizado por apresentar relações diretas com o aprendizado e a memória, contendo conexões neurais com o córtex cerebral (Pessoa; Hof, 2015). Dentre as estruturas pertencentes ao sistema límbico, estão o hipocampo e a amígdala. A amígdala possui um papel importante em várias funções cerebrais envolvendo memória, emoção, percepção, cognição social e até consciência. É responsável por desencadear e controlar sinais modulatórios em diversas áreas do cérebro, com grande impacto em vários aspectos do comportamento adaptativo (Domínguez-Borràs; Vuilleumier, 2022). O hipocampo, por sua vez, é uma estrutura importante que atua em interação com a amígdala. Possui papel essencial no armazenamento e consolidação da memória de curto e longo prazo, bem como na sua evocação. Além disso, processa informações espaciais e de navegação espacial (Zhong et al., 2020).

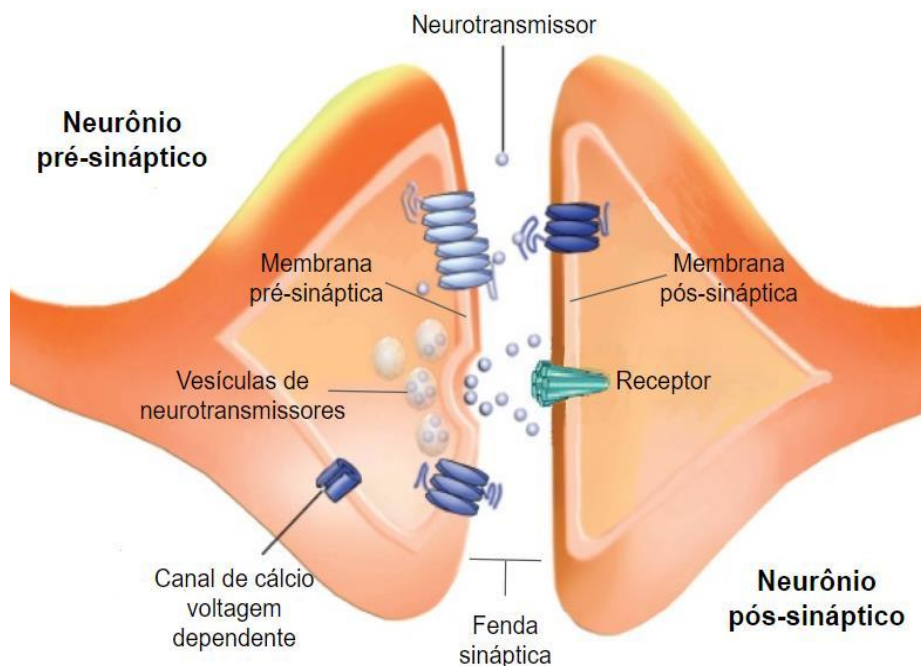
Figura 1 - Áreas do cérebro relacionadas com a cognição.



Fonte: Adaptado de Lotfi; Akbarzadeh-T (2013).

Evidentemente, os processos cognitivos descritos dependem da interação entre os neurônios, que ocorrem através de sinapses, que podem ser de dois tipos: elétrica e química. A sinapse química envolve a liberação de mensageiros químicos conhecidos como neurotransmissores, de forma unidirecional, ou seja, de um neurônio pré-sináptico para um pós-sináptico. Desta forma, quando há uma breve despolarização do neurônio pré-sináptico, ocorre a abertura dos canais de cálcio voltagem dependentes, na qual o influxo resultante de cálcio no terminal pré-sináptico desencadeia a fusão de vesículas de neurotransmissores na membrana, de modo que o neurotransmissor é liberado na fenda sináptica. Na fenda sináptica, o neurotransmissor se liga ao seu respectivo receptor na membrana do neurônio pós-sináptico como mostrado na **Figura 2**, tornando essa célula mais ou menos propensa para desencadear um potencial de ação (Strathern, 2021).

Figura 2 - Esquema genérico de uma sinapse química.



Fonte: Adaptado de Lovinger (2008).

No SNC, existem uma variedade de neurotransmissores com funções distintas que interferem nos processos cognitivos, dentre eles, a acetilcolina (ACh), glutamato, ácido gama-aminobutírico (GABA), glicina, dopamina, noradrenalina, serotonina (5-HT), histamina, entre outros (Sheffler et al., 2023). Após esses neurotransmissores serem liberados na fenda sináptica, podem ligar-se aos seus respectivos receptores os quais estão distribuídos de forma heterogênea pelo neocórtex. Desta forma, dependendo do receptor, a interação entre o neurotransmissor e o receptor pode causar excitação, inibição ou modulação do neurônio pós-sináptico. Ou seja, os receptores de neurotransmissores podem conduzir à plasticidade sináptica, modificar os estados neurais e, finalmente, moldar a comunicação em toda a rede neural (Hansen et al., 2022).

Diversas alterações do sistema nervoso central (SNC) podem levar a disfunções na produção, liberação, recaptação, quebra ou receptação de neurotransmissores, ou até mesmo modificações no número e afinidade pelos receptores, podendo gerar alterações nos processos cognitivos. Essas disfunções, muitas vezes, podem acarretar prejuízos cognitivos, situação esta muito presente em diversas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (DA) e a

doença de Parkinson (DP) em seu estágio avançado (Xuet al., 2012; Topolov; Getova, 2016; Akyuz et al., 2021). Além dessas doenças, diversas outras desordens neurológicas podem apresentar prejuízo cognitivo, como a esquizofrenia (ES), transtorno depressivo maior (TDM), epilepsia, transtornos de ansiedade e abuso de drogas, assim como processos patofisiológicos ou agentes farmacológicos utilizados em suas terapias (Markousis-Mavrogeniset al., 2022).

A DA, por exemplo, doença neurodegenerativa mais prevalente relacionada à idade, é caracterizada pela redução gradativa de neurônios colinérgicos no córtex e hipocampo, o que gera uma perda progressiva de memória e outras funções cognitivas nos pacientes, denotando, o papel crucial que a ACh possui nos processos cognitivos (Hampel et al., 2018). Além disso, estudos mostram um envolvimento crítico da ACh no aprendizado e na memória, principalmente em relação à aquisição de novas informações através dos efeitos provocados por lesões nas vias colinérgicas e pelos fármacos anticolinérgicos. Em um dos estudos, o uso de fármacos anticolinérgicos em idosos não dementes foi associado a tempos de reação significativamente mais lentos em uma medida de processamento rápido de informações e escores de testes cognitivos mais baixos (Hampel et al., 2018; Bazzari; Parri, 2019).

Outro neurotransmissor de extrema importância para a cognição é a histamina (HA). A HA é o principal neurotransmissor promotor da vigília no SNC, mas também foi determinada como sendo um importante modulador do aprendizado e da memória em diversos estudos clínicos em humanos (Köhler et al., 2011; Nomura; Shimizume, 2022). A HA atua em diferentes locais do cérebro através da ligação com os seus receptores, nomeados de receptores H₁ a H₄ (H₁R-H₄R), cujos papéis na memória foram extensivamente estudados usando ligantes específicos em animais transgênicos. Além disso, estudos sugerem fortemente um papel para os H₁R, H₂R e H₃R no hipocampo em modelos de reconhecimento de objeto novo (Provinsi et al., 2020; Nomura; Shimizume, 2022).

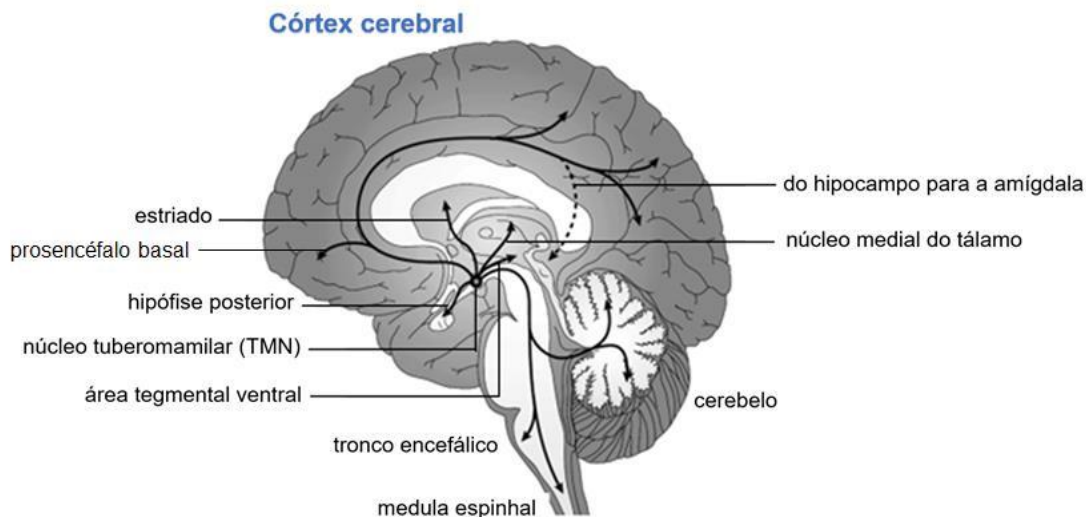
Visto que os neurotransmissores ACh e HA exercem um papel importante na cognição, uma combinação sinérgica de seus efeitos pode gerar resultados positivos no tratamento de doenças relacionadas ao declínio cognitivo que envolvam esses sistemas (Aquino-Miranda; Arias-Montaña, 2012; Lopes et al., 2021). Assim, nas próximas seções, a regulação da neurotransmissão histaminérgica e colinérgica será

revisada, evidenciando possíveis estratégias para potencializar os efeitos sobre a cognição.

2.2. Sistema histaminérgico

A histamina (HA) é um neurotransmissor que se encontra armazenada nos neurônios histaminérgicos. No SNC, os neurônios histaminérgicos originam-se no núcleo tuberomamilar (TMN) do hipotálamo, que se projeta para áreas específicas do cérebro através de duas vias ascendentes e uma via descendente. A primeira via ascendente se projeta para a superfície ventral do núcleo medial do tálamo, banda diagonal, bulbo olfatório, hipocampo e córtex. A segunda via ascendente, parte do TMN dorsal e percorre o terceiro ventrículo do tálamo, gânglios da base, hipocampo, amígdala e córtex. Por fim, a via descendente, atravessa o fascículo longitudinal medial até a medula espinhal e tronco encefálico (**Figura 3**) (Haas et al., 2008; Yoshikawa et al., 2021). Assim, os componentes cerebrais presentes na via histaminérgica possuem evidente relação com a cognição.

Figura 3 - Componentes cerebrais presentes na via histaminérgica.

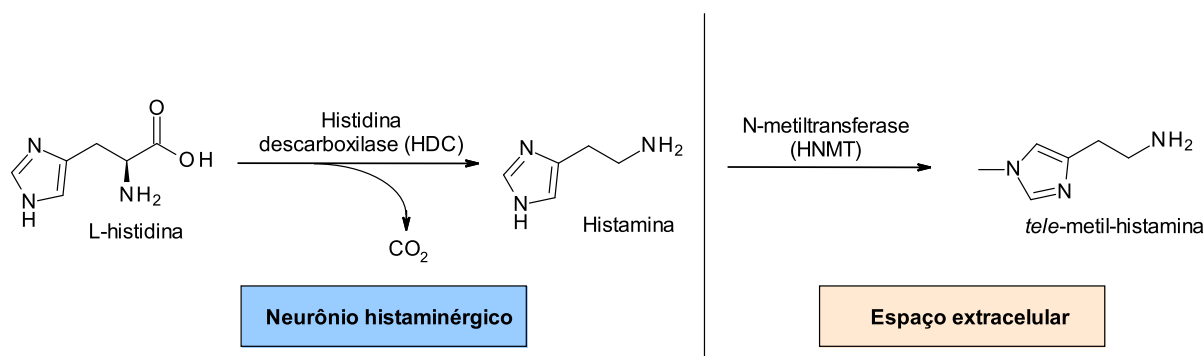


Fonte: Adaptado de Haas et al., 2008.

A HA é sintetizada a partir da catalização do aminoácido essencial L-histidina pela histidina descarboxilase (HDC) (**Figura 4**) em basófilos, mastócitos, células gástricas enterocromafins e neurônios histaminérgicos. Em consequência a determinados estímulos, essas células liberam a histamina armazenada, que produz atividade relacionada a alergias, inflamação, secreção de ácido gástrico e regulação da atividade neuronal através da ativação de seus respectivos receptores

localizados em tecidos e células específicas (Moriguchi; Takai, 2020). Diferentemente de outros neurotransmissores monoaminérgicos como a serotonina ou a dopamina, parece não haver um sistema de recaptação de alta afinidade para a HA. Assim, a maior parte da HA é eliminada da fenda sináptica por sua inativação em *tele*-metil-histamina (tmHA) pela HA N-metiltransferase (HNMT) (**Figura 4**) (Scammell et al., 2019). Dessa forma, o bloqueio dos H₃R constitui o principal mecanismo utilizado para aumentar a atividade histaminérgica no SNC, e consequentemente, promover ação pró-cognitiva.

Figura 4 - Descarboxilação da L-histidina em histamina pela HDC e inativação da histamina em *tele*-metil-histamina (tmHA) pela HA N-metiltransferase (HNMT).



Fonte: Autoria própria.

Os receptores de HA são todos acoplados à proteína-G (GPCR) e diferenciam-se principalmente nos mecanismos de sinalização celular (Corrêa; Fernandes, 2015). Desta maneira, quando os neurônios histaminérgicos são despolarizados, a HA é liberada na fenda sináptica, ativando os receptores pré (H₃R) e pós-sinápticos (H₁R, H₂R e possivelmente, H₃R). Vale salientar que os H₁R, H₂R e H₃R são expressos em neurônios, enquanto o H₄R é expresso principalmente nas células da glia (Panula, 2021).

Os H₁R estão distribuídos por todo o corpo, incluindo epitélio respiratório, células hepáticas, células musculares lisas vasculares, linfócitos e neurônios. São receptores acoplados à proteína G_q que ativam a fosfolipase C aumentando os níveis intracelulares de Ca²⁺, ocasionando um aumento na atividade da proteína quinase C. Como consequência, a HA induz a contração do músculo liso do trato respiratório, aumenta a permeabilidade vascular e induz a produção de prostaciclina e fator ativador de plaquetas pela ativação do H₁R causando reações fisiológicas

características das alergias como dor, aumento do prurido, rubor, hipotensão, taquicardia e broncoconstrição. Além disso, os receptores H_1R regulam o ciclo do sono e vigília, ingestão de alimentos, regulação térmica, emoções/comportamento agressivo, locomoção, memória e aprendizagem (Lieberman, 2011; Thangam et al., 2018).

Já os H_2R são encontrados principalmente nas células parietais da mucosa gástrica, nas células do músculo liso e no coração. São acoplados à proteína G_s e produzem efeitos através do aumento na concentração de AMPc e a ativação da proteína quinase A (Dy; Schneider, 2004). A ativação desses receptores estimula a secreção de ácido gástrico, permeabilidade vascular, hipotensão, rubor, cefaleia, taquicardia e broncoconstrição (Mazzoni et al., 2001). Além disso, as ações centrais do H_2R são, de modo geral, excitatórias, envolvendo mecanismos de plasticidade neural. Agonistas H_2R potencializam a transmissão sináptica no hipocampo, região relacionada à memória e emoções, ocasionando um aumento da potenciação de longa duração (Passani, Blandina, 2011).

Os H_4R , por sua vez, são expressos preferencialmente em diversas células do sistema imunológico, na qual os mastócitos induzem a quimiotaxia de, por exemplo, eosinófilos e mastócitos. Além disso, esses receptores foram identificados em células T de linfócitos, células dendríticas e basófilos. Dessa forma, o H_4R expresso em células do sistema imunológico tornou-se um alvo promissor para o tratamento da asma e doenças autoimunes (Gantner et al., 2002; Thangam et al., 2009). O H_4R demonstra uma considerável similaridade com o H_3R (58% de regiões transmembranares), na qual muitos dos agonistas e antagonistas de H_3R também se ligam ao H_4R (Parsons; Ganellin, 2006).

2.2.1. Receptores H_3

O H_3R é um auto-receptor inibitório, e assim sua principal função celular é controlar a produção e liberação de HA pelos neurônios histaminérgicos. Desta forma, quando uma grande quantidade de HA é liberada, estes são ativados nos neurônios do TMN, hiperpolarizando-os e reduzindo a atividade dessas células. O H_3R pode também ser expresso como um hetero-receptor em uma variedade de neurônios, incluindo células que produzem dopamina, 5-HT, noradrenalina, ACh, GABA e glutamato. Assim, os fármacos que inibem a sinalização pelo H_3R , como o

pitolisanto, podem bloquear seus efeitos inibitórios, aumentando os níveis cerebrais de HA, bem como os níveis de 5-HT, noredrenalina, dopamina e possivelmente outros neurotransmissores (Scammell et al., 2019). Como resultado de suas ações, o H₃R pode estar envolvido no controle de várias funções e alterações cerebrais, tais como disfunções do sono, convulsivas, cognitivas e do controle alimentar (Łażewska et al., 2016).

Não existem muitas evidências na literatura sobre o papel dos receptores H₃ pós-sináptico. Entretanto, verificou-se que a maior parte dos H₃R no estriado são pós-sinápticos, mas suas propriedades de sinalização são complexas e moduladas por interações com outros componentes celulares, como os receptores de dopamina do estriado. Desta forma, a sinalização pós-sináptica pode ser uma função primária do receptor H₃ no corpo estriado (Rapanelli et al., 2017). Já Zheng et al. (2023) mostraram que o H₃R pós-sináptico nos neurônios colinérgicos do prosencéfalo basal ventral (vBF) podem ser responsáveis pela alteração da memória contextual do medo.

O H₃R possui um total de 445 aminoácidos e uma estrutura tridimensional comparável aos H₁R e H₂R. Entretanto, vale ressaltar que essa similaridade é de apenas aproximadamente 20%, o que é relativamente baixo comparado com as similaridades observadas entre H₃R e H₄R, que é de 40 % em termos de identidade na sequência de aminoácidos e, aproximadamente, 58% nos domínios transmembranares. Durante o *splicing* alternativo do gene do H₃R são gerados pelo menos 20 possíveis isoformas de RNA mensageiro (mRNA) que foi identificado por transcrição reversa seguida de reação em cadeia polimerase (RT-PCR) do H₃R humano. Essas isoformas apresentam tamanhos variáveis do terminal amino e carboxila, encurtamento da terceira alça intracelular e deleções de domínios transmembranares. Atualmente, são conhecidas oito isoformas do H₃R recombinante humano com algum papel fisiológico baseado em ensaios de ligação ou sinalização celular, sendo eles H₃ (445), H₃ (453), H₃ (415), H₃ (413), H₃ (409), H₃ (373), H₃ (365) e H₃ (329) (Esbenshade et al., 2008; Abdulrazzaq et al., 2022).

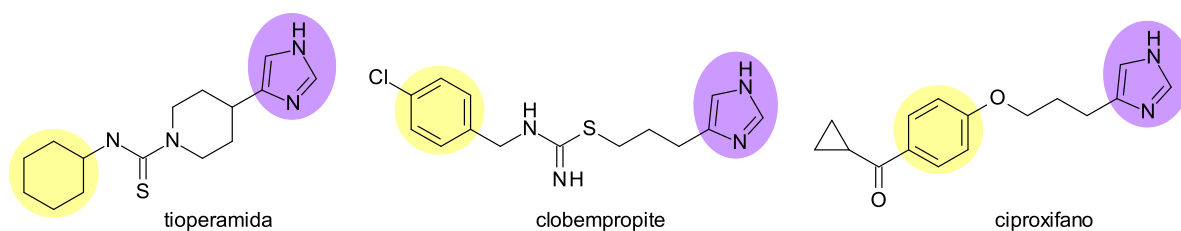
Desta forma, muitas áreas do cérebro humano que expressam isoformas do H₃R em abundância relativamente alta e que possuam algum papel fisiológico, estão envolvidas na cognição diretamente ou indiretamente dependendo da localização cerebral. Entretanto, o potencial impacto das diferentes isoformas do H₃R no cérebro

com relação aos antagonistas dos H₃R é difícil de ser determinada devido à ampla quantidade e diferentes tipos de isoformas encontradas. Portanto, existe uma necessidade de realização de mais estudos que promovam o real entendimento do papel das múltiplas isoformas na atividade neuronal, incluindo a modulação da liberação da HA e subseqüentes efeitos no comportamento (Esbenshade et al., 2008; Abdulrazzaq et al., 2022).

2.2.2. Antagonistas/ agonistas inversos dos H₃R

O primeiro antagonista potente de H₃R a ser descrito foi a tioperamida (K_i 63 nM), planejada por modificações na estrutura da histamina, e assim mantém o anel imidazólico. A partir disso, desenvolveram-se muitas moléculas baseadas na estrutura da tioperamida (como exemplos, o clobempropite e o ciproxifano), sendo caracterizadas pela presença de um anel imidazólico ligado a um grupo lipofílico por meio de um espaçante (**Figura 5**). Entretanto, apresentam baixa penetração pela barreira hematoencefálica (BHE) e potenciais interações com as enzimas do citocromo P450, o que pode prejudicar a metabolização de diversos fármacos (Lorenzi et al., 2005; Pinto, 2012).

Figura 5 - Estrutura de antagonistas H₃R imidazólicos. Amarelo: grupo lipofílico terminal; roxo: anel imidazólico (grupo básico).

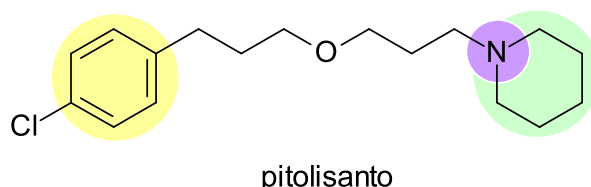


Fonte: Autoria própria.

Novas estruturas antagonistas dos H₃Rs passaram a ser planejadas sem o anel imidazólico, substituído por grupos básicos como piperidina, piperazina e pirimidina. Esses compostos têm melhor penetração no cérebro e menor potencial de interações com o citocromo P450, resultando em diversas moléculas com potencial para tratamento de algumas doenças. Dentre elas, destaca-se o pitolisanto (pK_i 8,6) (**Figura 6**), o primeiro fármaco antagonista/agonista inverso de H₃R que teve o seu uso aprovado na União Européia em 2016 para o tratamento de narcolepsia com ou sem cataplexia e em 2019 nos Estados Unidos, para o

tratamento de sonolência diurna excessiva em adultos com narcolepsia (Lamb, 2020).

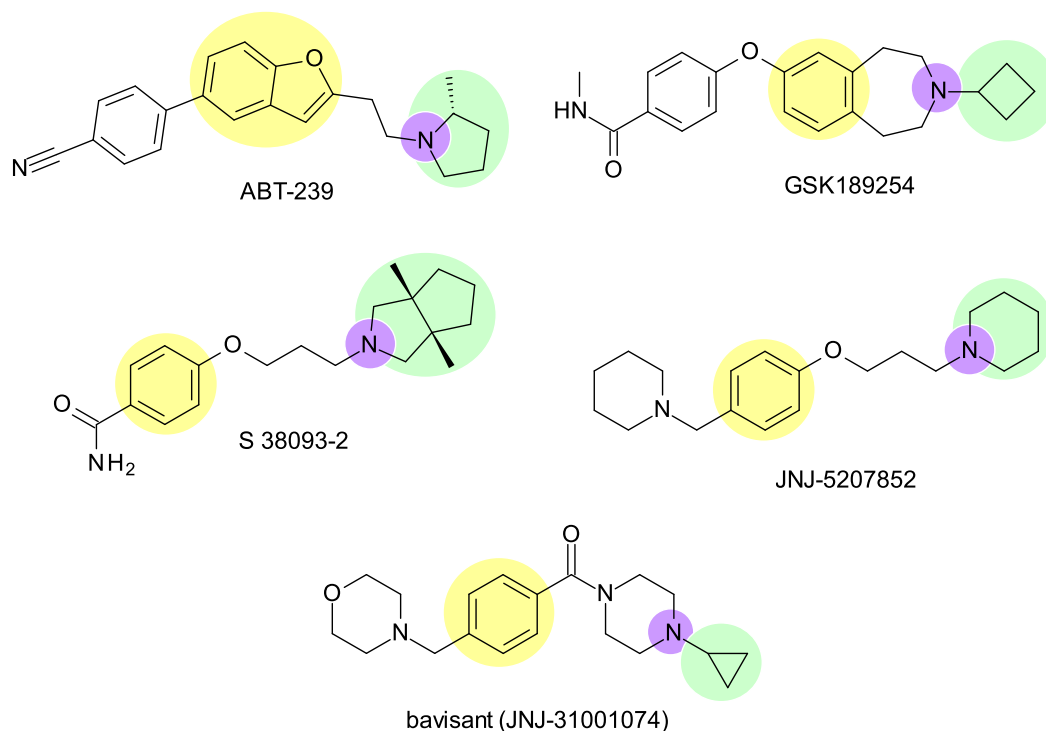
Figura 6 - Estrutura do pitolisanto. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: substituinte lipofílico ligado ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

Além do pitolisanto, outros antagonistas/agonistas inversos do H_3R apresentaram ótima afinidade e seletividade pelo H_3R . Dentre esses compostos, diversos deles como o ABT-239, o GSK189254, o S38093-2, o JNJ-5207852 e o bavisanto progrediram para estudos clínicos de fase I ou fase II, entretanto, foram descontinuados devido à falta de eficácia e/ou segurança insuficiente (**Figura 7**) (Riddy et al., 2019). O ABT-239 (pK_i 9,5), por exemplo, demonstrou induzir melhora na atenção, impulsividade, na memória espacial e na memória social de curto prazo em ratos idosos (Fox et al.; 2005), enquanto o composto GSK189254 (pK_i entre 9,59 e 9,90) causou melhora cognitiva em modelo de reconhecimento de objeto novo e na memória espacial em modelos pré-clínicos (Medhurst et al., 2007). Já o composto S38093-2 demonstrou propriedades pró-cognitivas e capacidade de aumentar o tempo de vigília em diversos modelos animais (Panayi et al., 2017). O JNJ-5207852 (pK_i 9,24) também mostrou potencial em aumentar a atividade locomotora e o tempo de vigília em modelos animais (Barbier et al., 2004). Por fim, o bavisanto (JNJ-31001074, K_i 5,4 nM) é um antagonista do H_3R altamente seletivo e oralmente biodisponível que vinha sendo investigado para o tratamento de sonolência diurna excessiva em pacientes com DP. Encontrava-se em estudos clínicos de fase II, porém, foi descontinuado em 2022 por não apresentar a eficácia esperada (Weisler et al., 2012; Harwell; Fasinu, 2020; Nazarova et al., 2022).

Figura 7 - Estrutura de antagonistas H₃R não-imidazólicos. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: substituinte lipofílico ligado ao grupo básico.

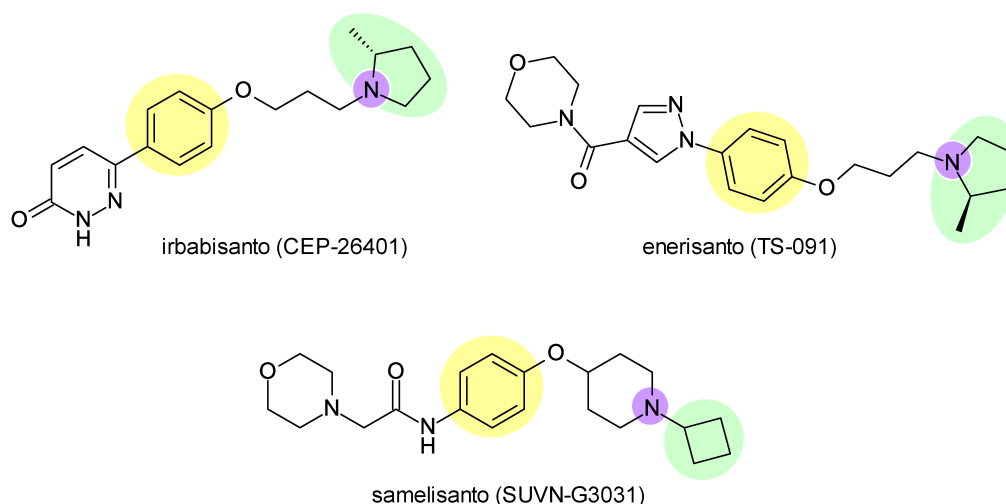


Fonte: Autoria própria.

Existem vários outros antagonistas/agonistas inversos de H₃R que atingiram diferentes estágios de desenvolvimento clínico como potenciais terapias para distúrbios cognitivos, sonolência diurna excessiva, demências, transtornos de atenção, entre outros (**Figura 8**). O irdabisanto (CEP-26401) (K_i 7,2 nM em H₃R humano e 2,0 nM em H₃R de camundongo) possui uma pirrolidina como grupo básico e foi capaz de aprimorar a cognição (memória de curto prazo e aumento do tempo de vigília) em modelos pré-clínicos de ratos, sugerindo seu potencial para o tratamento de distúrbios cognitivos, transtornos de atenção e distúrbios de sono.(Raddatz et al., 2012; Harwell; Fasinu, 2020; Ferreira et al., 2023). O enerisanto (TS-091), por sua vez, é um antagonista/agonista inverso do H₃R, altamente seletivo, competitivo e oralmente ativo, com um IC_{50} de 2,89 nM em humanos e 14,5 nM em ratos (Hino et al., 2020), que foi avaliado em estudo clínico de fase II para pacientes com sonolência diurna excessiva em narcolepsia (Inoue et al., 2022). Por fim, o samelisanto (SUVN-G3031), um agonista inverso H₃R, apresenta uma afinidade de ligação nos H₃R de K_i = 8,7 nM em humanos e K_i = 9,8 nM em ratos, demonstrando ser um potencial fármaco para a o tratamento de narcopesia com ou sem cataplexia. Estudos clínicos de fase I foram completados

com sucesso e um estudo clínico de fase II para o tratamento de narcolepsia com cataplexia ou narcolepsia sem cataplexia foi realizado (Nirogi et al., 2021; U.S. National Library of Medicine, 2023).

Figura 8 - Antagonistas do H₃R em investigação em vários estágios de desenvolvimento clínico. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: substituinte lipofílico ligado ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

A partir das diversas moléculas com atividade antagonista/agonista inversa nos H₃R apresentadas acima, é possível verificar a existência de um padrão em suas estruturas que conferem afinidade e seletividade pelos H₃R. Dados na literatura mostram, portanto, uma estrutura geral para ligantes deste receptor que consiste em um grupo básico com um substituinte lipofílico, ligados através de um espaçante a uma região lipofílica arbitrária, sendo geralmente um anel aromático, substituído com um grupo polar, um grupo básico ou outro grupo lipofílico (**Figura 9**) (Sadek et al., 2016; Łażewska et al., 2023).

Figura 9 - Estrutura geral de ligantes de H₃R.



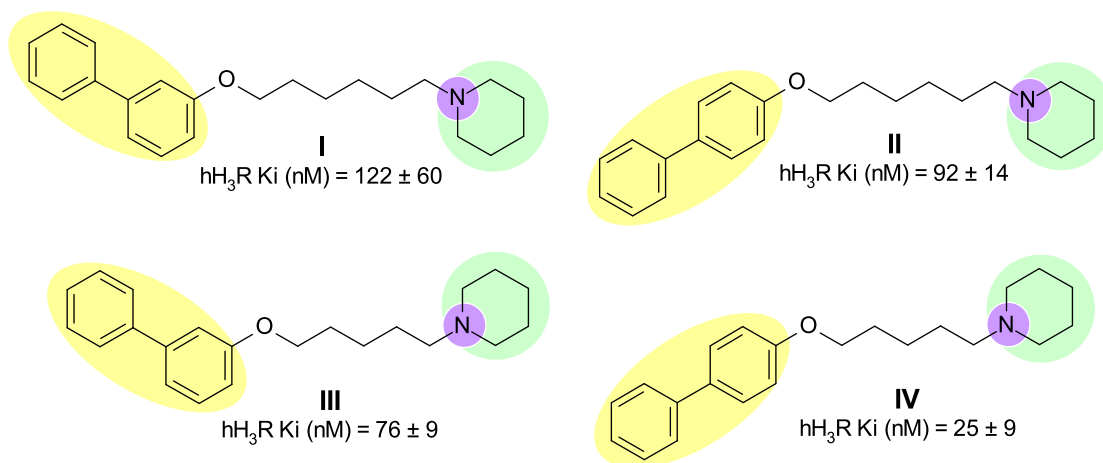
Fonte: Autoria própria.

A região básica dessas moléculas é essencial para a afinidade pelo H₃R, pois a amina protonável nesta região é necessária para a interação com um resíduo de Asp 3,32 no receptor. Geralmente, a região básica é representada por pirrolidina, piperidina ou piperazina. Entretanto, essas estruturas de aminas terciárias simples podem ser substituídas por estruturas de aminas terciárias mais complexas. A presença de dois nitrogênios secundários na piperazina e homopiperazina melhoram características farmacocinéticas, pois levam ao aumento da solubilidade (Szczepańska et al., 2018).

Ainda na região básica, a afinidade pelo H₃R pode ser aumentada através de aceptores de ligação de hidrogênio e grupos hidrofóbicos. Grupos lipofílicos podem ser um ponto adicional de interação devido à presença de uma região lipofílica entre os domínios transmembrana TM3 e o TM6 no H₃R (Corrêa; Fernandes, 2018). Por exemplo, nosso grupo explorou análogos diidrobenzofuranil-piperazínicos com substituinte alila na piperazina (**Figura 13**) na qual houve uma boa afinidade pelo H₃R (Corrêa et al., 2021).

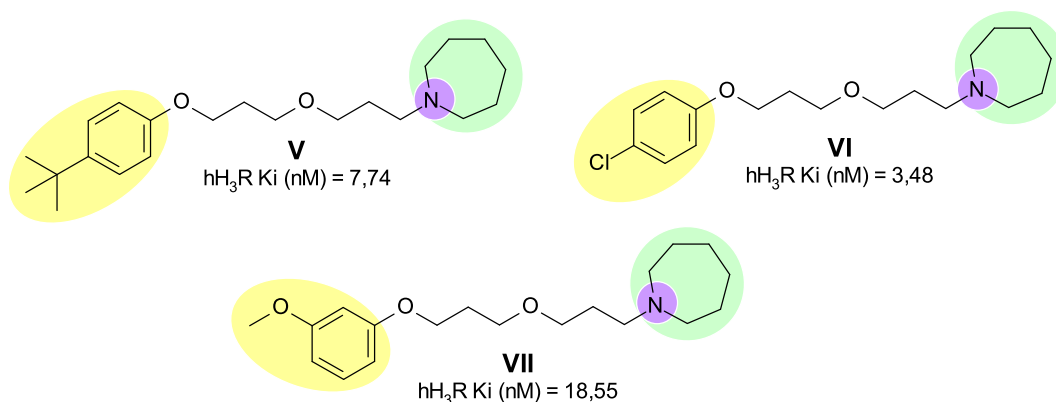
Já, modificações na região lipofílica arbitrária afetam a afinidade e as características farmacocinéticas das moléculas resultantes. Tal efeito é percebido através de alguns trabalhos publicados que mostram diferentes afinidades e potências pelo H₃R de acordo com o volume na região lipofílica na posição *orto*, *meta* ou *para* no anel aromático. Desta forma, Łażewska et al. (2017) apresentaram uma série de compostos bifeniloxialquílicos com piperidina, sendo os compostos *para*-substituídos no anel aromático (compostos **II** e **IV**) os mais potentes (**Figura 10**). Já Bajda et al. (2012) relataram moléculas derivadas de piperidinas e homopiperidinas com a região aromática substituída com grupo *tert*-butila, cloro e etoxila. Os compostos contendo o substituinte Cl apresentaram maior afinidade pelo H₃R, tendo como exemplo, o composto **VI**, sugerindo que o grupo substituinte tenha papel importante e que grupos eletronegativos ligados ao anel aromático podem aumentar a afinidade pelo H₃R, já que a lipofilicidade na região heteroaromática é favorável à atividade no H₃R (**Figura 11**) (Corrêa; Fernandes, 2018).

Figura 10 - Compostos bifeniloxialquílicos com piperidina com afinidade por H₃R. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

Figura 11 - Moléculas derivadas de piperidinas e homopiperidinas com a região aromática substituída com afinidade por H₃R. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.

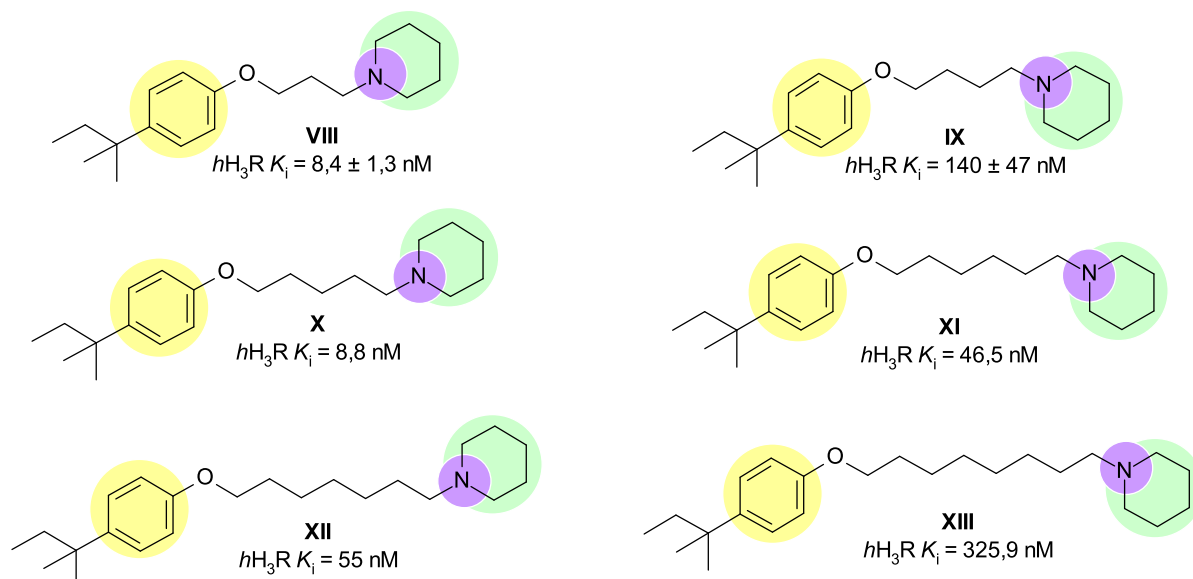


Fonte: Autoria própria.

Além disso, alguns estudos sugerem que substituintes volumosos podem melhorar a afinidade pelo H₃R na região lipofílica arbitrária, o que justifica a busca por ligantes com modificações nessa região das moléculas. Entretanto, a inserção de substituintes excessivamente volumosos pode reduzir a afinidade, sugerindo que há um limite de volume nesta região do receptor (Sadek et al., 2016; Łażewska et al., 2017; Corrêa; Fernandes, 2018).

Inicialmente foi proposto que o nitrogênio básico deveria ser conectado por um espaçante trimetilênico e um oxigênio à região lipofílica arbitrária. Posteriormente, foi verificado que compostos com alta afinidade pelo H₃R podem ter espaçantes contendo de 3 a 7 metilenos (compostos **VIII-XII**) como mostrado por Kuder et al., (2017) (**Figura 12**). Assim, variar a distância entre o nitrogênio básico e o núcleo aromático, é uma estratégia interessante para se obter compostos com afinidade subnanomolar (Łażewska et al., 2017).

Figura 12 - Moléculas com afinidade por H₃R com variação no espaçante. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.

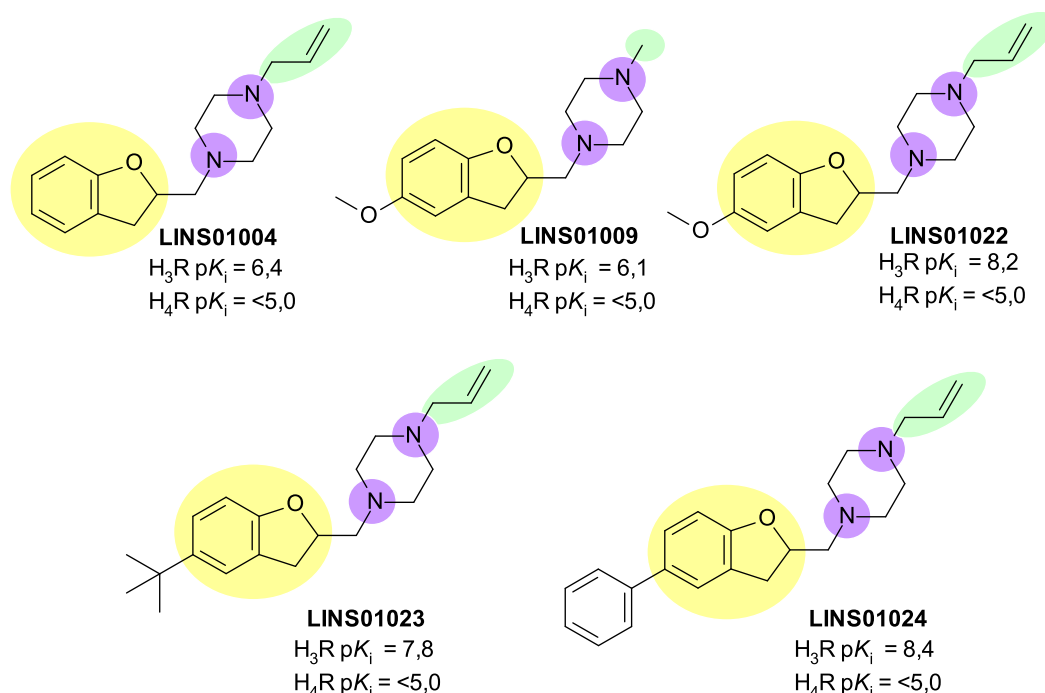


Fonte: Autoria própria.

Trabalhos recentes do nosso grupo mostram que as diidrobenzofuranil-piperazinas (série LINS01) tiveram boa afinidade por H₃R com considerável seletividade em relação a outros receptores histaminérgicos (Corrêa et al., 2017, Corrêa et al., 2019). Os compostos **LINS01004** e **LINS01009** (**Figura 13**) foram os primeiros ligantes de H₃R com afinidade nanomolar (pK_i 6,9 e 6,3, respectivamente) e atividade antagonista. A hibridação desses dois compostos deu origem ao composto **LINS01022** (pK_i 8,2), que foi caracterizado como um dos mais potentes da série até o momento (Corrêa et al., 2021). Outros compostos alilpiperazínicos apresentaram afinidade nanomolar pelo H₃R, como o **LINS01023** e **LINS01024** (pK_i = 7,8 e 8,4, respectivamente). Avaliando os resultados obtidos com essa série de

compostos e comparando com outros ligantes da literatura com maior afinidade, como o agonista inverso ABT-239 (Trofimiuk et al., 2021) e o agonista inverso pitolisanto (Nikolic et al., 2014), fica claro que alterações neste esqueleto podem aumentar a afinidade por H₃R.

Figura 13 - Compostos LINS01 com melhor afinidade por H₃R. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.

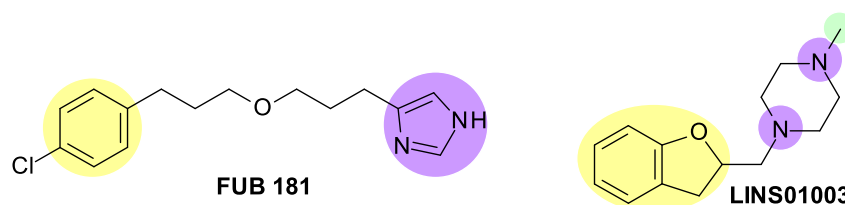


Fonte: Autoria própria.

Diversas vantagens pré-clínicas e clínicas foram observadas em antagonistas/agonistas inversos do H₃R em modelos experimentais de memória e na melhora do declínio cognitivo (Witkin; Nelson, 2004). Onodera et al. (1998), por exemplo, mostram que o composto **FUB 181** (**Figura 14**), um antagonista do H₃R melhorou significativamente o Déficit de aprendizagem induzido por escopolamina no teste do labirinto em cruz elevado em camundongos. Já Meguro et al. (1995), estudaram o efeito da tioperamida sobre o aprendizado e a memória em linhagem de camundongos propensos à senescência acelerada (SAM-P/8) e na linhagem de envelhecimento de taxa normal (SAM-R/1). Tal estudo sugere que antagonistas dos H₃R podem melhorar o aprendizado e comprometimento da memória na qual foi observado no teste de evitação passiva.

Nosso grupo já reportou o efeito dos compostos **LINS01003** e **LINS01004** (**Figura 14** e **Figura 13**) em modelo de memória discriminativa aversiva. O composto **LINS01004** (pK_i 6,4) apresentou efeito comparável ao clobempropite, enquanto o composto **LINS01003** (pK_i <5,0) prejudicou a aquisição da memória de esquila discriminativa, possivelmente pela sua maior afinidade pelo H_1R atual como antagonistas (Soliani et al., 2020; Corrêa, 2021; Corrêa et al., 2019). Isso reforça o potencial que novos compostos com atividade antagonista do H_3R podem ter como agentes pró-cognitivos.

Figura 14 - Compostos **FUB 181** e **LINS01003**. Amarelo: região lipofílica arbitrária; roxo: grupo básico; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

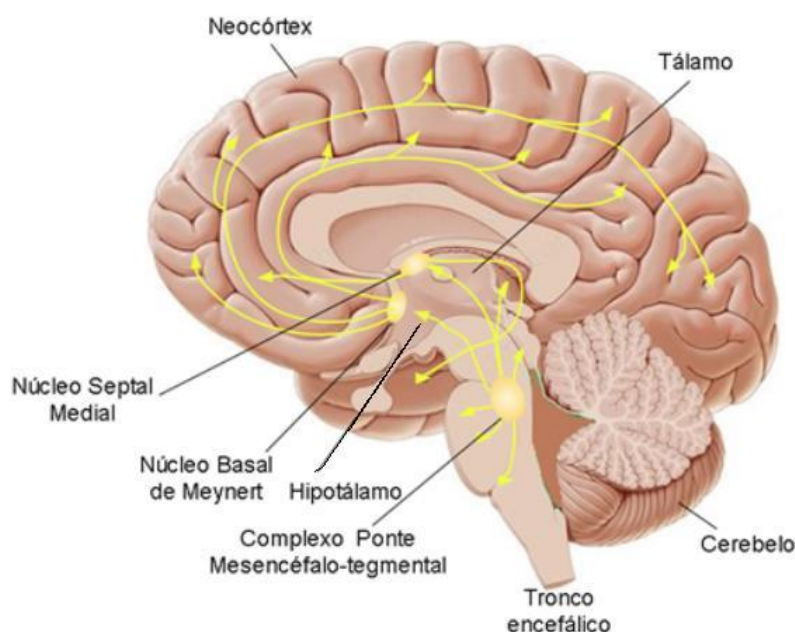
2.3. Sistema colinérgico

A acetilcolina (ACh) foi o primeiro neurotransmissor a ser descoberto. Foi descrita pela primeira vez pelo fisiologista inglês Henry Hallett Dale no ano de 1914 (Ventura et al., 2010) e em 1967, foi firmemente aceita como um dos principais neurotransmissores no sistema nervoso periférico, incluindo nervos motores somáticos e partes do sistema nervoso autônomo (Brown, 2019). A ACh encontra-se em todas as junções neuromusculares dos vertebrados, em todos os neurônios pré-ganglionares do sistema nervoso autônomo e nos neurônios pós-ganglionares do sistema nervoso autônomo parassimpático, além de formar sinapses em todo o encéfalo por meio de neurônios colinérgicos (Kandel et al., 2014).

Os neurônios colinérgicos, contendo ACh originam-se de dois locais principais no cérebro, sendo eles o prosencéfalo basal e a área do tegmento mesopontino. No prosencéfalo basal, o neurônio colinérgico encontra-se mais especificamente no núcleo basal de Meynert e no núcleo septal medial. Desta forma, a ACh liberada do neurônio colinérgico localizado no núcleo basal de Meynert poderá agir no receptor muscarínico 1 (M_1) dentro do neocórtex. Já a ACh proveniente do neurônio

colinérgico do núcleo septal medial poderá agir no hipocampo e partes do córtex cerebral nos receptores M_1 . O tegmento mesopontino, por sua vez, encontra-se no tronco encefálico, na qual a ACh parte dos neurônios colinérgicos do núcleo pedúnculo pontino e do núcleo tegmental laterodorsal. Desta forma, a ACh advinda do tegmento mesopontino ativa principalmente os receptores M_1 no tronco encefálico, sendo que nessa região, esses receptores estão presentes no núcleo da rafe, núcleo reticular lateral, núcleos cerebelares profundos, núcleos pontinos, *locus coeruleus* e núcleo olivar inferior. Além disso, o tegmento mesopontino também se projeta para os gânglios da base, tálamo, prosencéfalo basal e teto (**Figura 15**) (Sam; Bordoni, 2022). Desta forma, a transdução do sinal colinérgico está relacionada com diversos processos cognitivos, como por exemplo a memória, aprendizagem e motivação, que dependem da liberação da ACh e a sua interação com seus respectivos receptores (Chen et al., 2022).

Figura 15 - Vias colinérgicas no cérebro humano.



Fonte: Adaptado de Scarr et al., 2013.

No neurônio pré-sináptico colinérgico, a ACh é gerada através da reação entre colina e acetilcoenzima A através da catálise pela colina acetiltransferase. Após ser formada, aproximadamente 10.000 moléculas de ACh são armazenadas em cada vesícula por um transportador vesicular de ACh até que haja um estímulo específico que resulte na sua liberação na fenda sináptica. A despolarização do neurônio causa

a abertura dos canais de cálcio voltagem-dependentes conduzindo o influxo de cálcio que permite a liberação da ACh na fenda sináptica. Na fenda sináptica, a ACh poderá interagir com os mAChRs ou os nAChRs exercendo os seus respectivos efeitos (Araújo et al., 2016; Sam; Bordoni, 2023). A ACh exerce a sua função por meio de duas classes de receptores: receptores muscarínicos metabotrópicos (mAChRs) M_1 - M_5 e receptores nicotínicos ionotrópicos (nAChRs) (Picciotto et al., 2000).

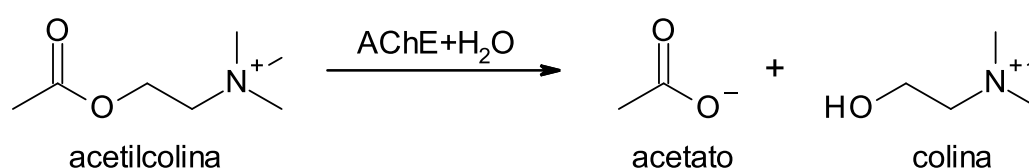
Os receptores muscarínicos dos subtipos M_1 , M_3 e M_5 são acoplados a proteínas G_q que ativam a fosfolipase C, enquanto os subtipos M_2 e M_4 são acoplados a proteínas $G_{i/o}$, que controlam negativamente a adenilato ciclase (Wess, 2003). Além disso, os mAChRs estão localizados tanto pré quanto pós-sinápticamente em todo o cérebro, gerando diversos efeitos na atividade cerebral, como a promoção do aprendizado e da memória (Fernández de Sevilla et al., 2020). Como exemplos dos efeitos heterogêneos da estimulação de mAChR, os mAChRs M_2 e M_4 pré-sinápticos podem atuar como auto-receptores inibitórios em terminais colinérgicos (Douglas et al., 2002). Em contraste, receptores M_1 e M_5 podem estimular a liberação de dopamina (DA) de sinaptossomas estriados e pós-sinápticos (Zhang et al., 2002).

Os receptores nicotínicos têm função de canais de cátions excitatórios não seletivos (Picciotto et al., 2001) e existem como conjuntos homoméricos ou heteroméricos de uma grande família de subunidades (α_2 - α_7 e β_2 - β_4) (Picciotto et al., 2000). Embora os neuromoduladores sejam normalmente associados à sinalização metabotrópica, o papel dos nAChRs ionotrópicos no cérebro parecem ser amplamente moduladores também. Desta maneira, os nAChRs ionotrópicos no cérebro parecem estar envolvidos nos processos de memória de trabalho, memória espacial, reconsolidação de memórias de longo prazo de objetos, no comportamento e na aprendizagem (Levin, 2002; Echeverria et al., 2023). Além disso, vale ressaltar que a estimulação de nAChRs pode aumentar a liberação de glutamato, GABA, DA, ACh, norepinefrina e serotonina (Picciotto, 2003).

O principal mecanismo da terminação da transmissão colinérgica se dá pela rápida hidrólise da ACh (éster acetato da colina, que por apresentar o grupo amônio quaternário é permanentemente ionizada) pela AChE. A hidrólise resulta em dois metabólitos inativos, o acetato e a colina (Dvir et al., 2010) (**Figura 16**), sendo está

última encontrada no plasma com uma concentração de aproximadamente 10 mM e sendo recaptada pelos neurônios colinérgicos através do transportador de alta afinidade $\text{Na}^+/\text{colina}$. Além da AChE, a butirilcolinesterase (BuChE) é capaz de catalisar eficientemente a hidrólise da ACh, sendo também importante para a regulação do sistema colinérgico. Entretanto, a BuChE possui baixa seletividade pela ACh e é produzida principalmente no plasma sanguíneo (Purves et al., 2001; Reid; Chilukuri, 2013).

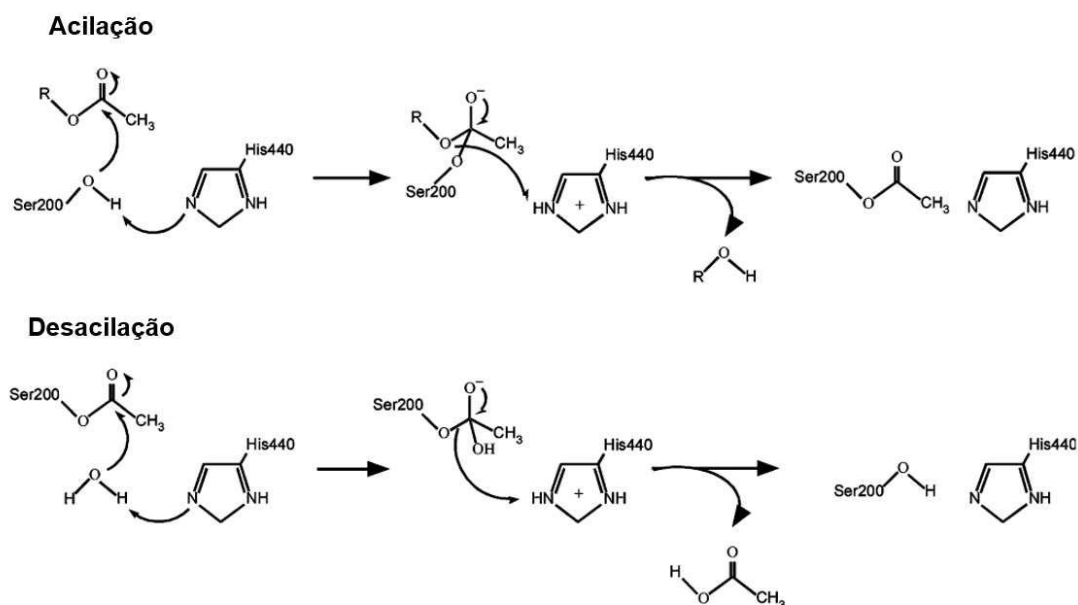
Figura 16 - Principal mecanismo de terminação da transmissão colinérgica (rápida hidrólise pela AChE).



Fonte: Adaptado de Dvir et al., 2010.

A AChE possui alta atividade catalítica, em que uma molécula de AChE hidroliza aproximadamente 25.000 moléculas de ACh por segundo (Colović et al., 2013). Sua estrutura e mecanismo de ação estão bem elucidados na literatura, na qual possui diversos subsítios que podem ser distinguidos como sítios ativos da AChE. Dentre eles, o sítio esteático (SE), também chamado de tríade catalítica, que consiste nos aminoácidos Ser200, Glu327 e His440, localizados a aproximadamente 20 Å de profundidade da superfície da enzima. Ser200 e His440 estão envolvidos na reação com a ACh durante a catálise da ACh, em que a reação ocorre após a transferência de próton da Ser200 para o imidazol da His400 e então, subsequentemente, a adição nucleofílica do átomo de oxigênio da Ser200 para o substrato de ACh, conhecido como processo de acilação. Já na desacilação, a enzima acil é hidrolisada à sua forma original pela água (**Figura 17**). O papel catalítico do Glu327, por sua vez, ainda não é bem compreendido (Tachikawa et al., 2005; Wiesner et al, 2007).

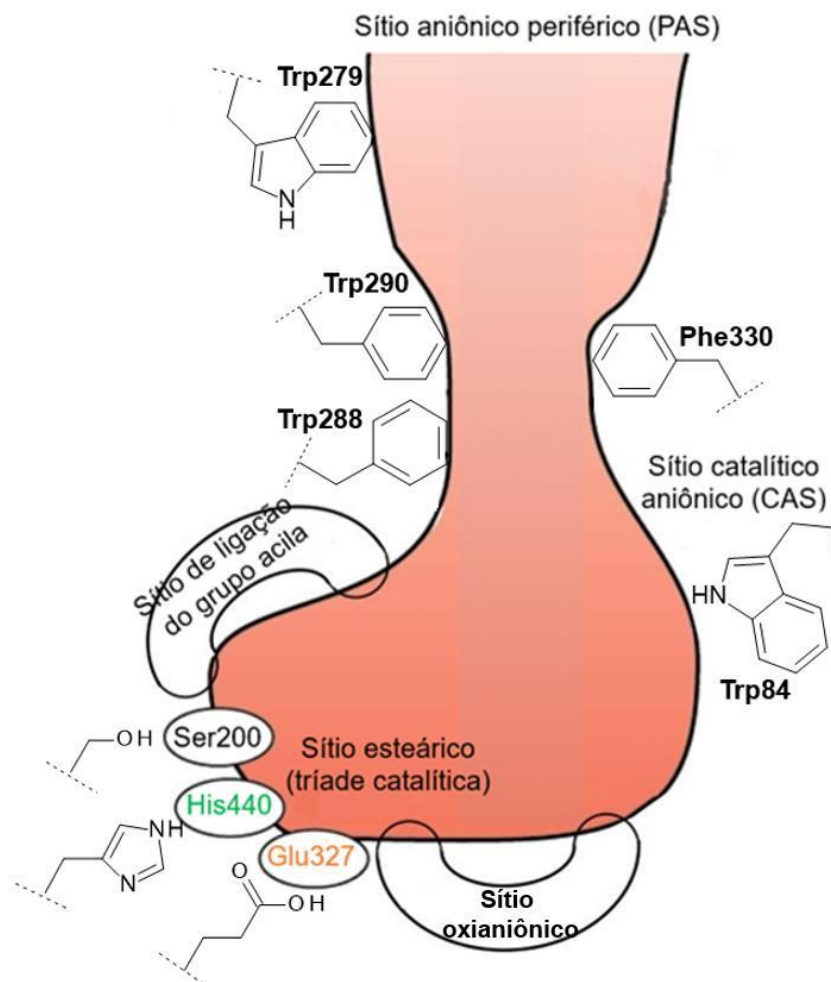
Figura 17 - Esquema de reação da hidrólise da ACh catalisada pela AChE.



Fonte: Adaptado de Tachikawa et al., 2005.

Além do SE, a AChE possui mais 4 outros sítios localizados ao longo da cavidade, sendo eles o sítio catalítico aniônico (CAS) (formado pelos resíduos Trp84, Glu199 e Phe330), sítio de ligação do grupo acila (Phe288 e Phe290), sítio oxianiônico (Gly118, Gly119 e Ala201) e o sítio aniônico periférico (PAS) (Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279 e Tyr334) localizado na entrada da cavidade. O CAS é o sítio responsável pela interação e estabilização da colina durante a hidrólise da ACh. O PAS é importante para a estabilização da molécula de ACh, através de interações cátion- π entre o amônio quartenário do substrato e a região aromática presente na cadeia lateral dos aminoácidos e pode ser também local de interação de outros substratos catiônicos e inibidores (**Figura 18**) (Wiesner et al, 2007; Dvir al., 2010; Sharma, 2019; Velloso et al., 2020).

Figura 18 - Representação esquemática dos locais de ligação da AChE.



Fonte: Adaptado de Dvir et al., 2010.

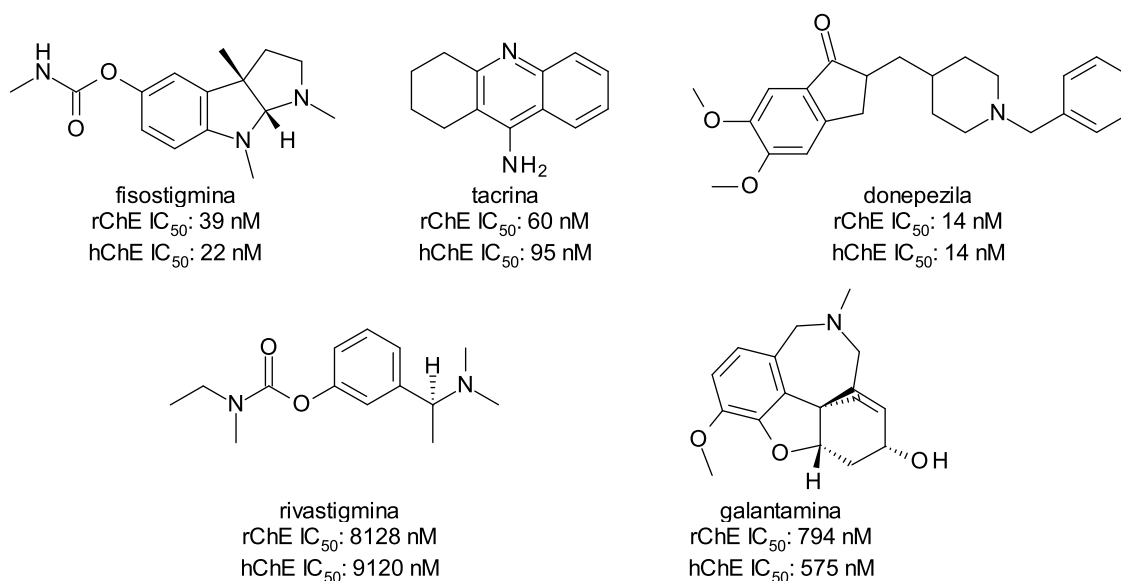
A BuChE, por sua vez, compartilha uma similaridade de cerca de 65% com a AChE, possuindo as regiões CAS e PAS em seu sítio ativo que exercem as mesmas funções. Desta forma, as principais diferenças entre ambas residem na composição de aminoácidos presentes ao longo do canal que conecta o CAS ao PAS, o que influencia nas diferenças observadas com relação ao volume dessa região entre as duas enzimas (Mushtaq et al., 2014). A AChE possui substituições dos aminoácidos aromáticos (Tyr72, Tyr124, Tyr337, Phe295 e Phe297) no seu sítio ativo por resíduos alifáticos na BuChE (Asn72, Gln124, AlaA337, Leu286 e Val288). Logo, os grupos aromáticos da AChE causam maior impedimento estérico, dando maior especificidade pelo substrato e atividade catalítica sobre a ACh. Os resíduos alifáticos menos volumosos da BuChE não proporcionam ligação π - π forte, permitindo que moléculas inibidoras maiores e substratos inespecíficos como a butirilcolina (BuCh) e succinilcolina se liguem à BuChE (Ha et al., 2020).

2.3.2. Inibidores da acetilcolinesterase

Déficits na transmissão colinérgica podem potencialmente influenciar em todos os aspectos da cognição e comportamento. Estudos iniciais, por exemplo defendiam a “hipótese colinérgica” para explicar os déficits cognitivos e de memória observados na DA, através da perda de células colinérgicas no núcleo basal de Meynert em cérebros de post-mortem de pessoas com DA. Além disso, a perda significativa de neurônios colinérgicos do prosencéfalo também foi encontrada em cérebro de indivíduos com DP. Atualmente, apesar da hipótese colinérgica ter perdido interesse em grande parte devido ao papel da β -amilóide e, mais recentemente, das proteinopatias tau na perda de memória na DA, trabalhos recentes de neuroimagem fornecem evidências convincentes de que as perdas do sistema colinérgico e o declínio cognitivo estão intrinsecamente ligados na DA e DP e que a perda de neurônios colinérgicos aumenta a gravidade da manifestação clínica da demência (Bohnen et al., 2018).

Desta forma, os inibidores da acetilcolinesterase (iAChE) podem aumentar os níveis de ACh na fenda sináptica, e, portanto, melhorar parcialmente os sintomas cognitivos e a qualidade de vida de pacientes com DA leve a severa. Apesar de os iAChE gerarem efeitos positivos na cognição desses pacientes, esses efeitos só são observados por um curto período (de 1 a 3 anos). Além disso, os iAChE não conseguem reduzir a progressão da DA (Ferreira-Vieira et al., 2016). Atualmente, existem 3 fármacos iAChE disponíveis no mercado para o tratamento da DA, que são a donepezila, galantamina e rivastigmina, mas outros fármacos iAChE já foram utilizados para o tratamento dessa doença, como a fisostigmina e a tacrina (**Figura 19**) (Pepeu; Giovannini, 2009; Jackisch et al., 2009; Sharma, 2019).

Figura 19 - Estrutura de fármacos iAChE que já foram ou são utilizados no tratamento da DA.



rChE= colinesterase do neocortex de rato; hChE = colinesterase do neocórtex de humanos.

Fonte: Autoria própria.

O primeiro iAChE descoberto foi a fisostigmina, que é um alcalóide proveniente da planta *Physostigma venenosum*. Nos anos 1960, demonstrou-se a relação da substância com a melhora da memória, sendo prescrita para tratamento da DA, o que hoje não é mais indicado. Seu emprego na terapia foi limitado devido apresentar uma meia-vida muito curta, de aproximadamente 30 minutos, o que implicava no aumento de administrações diárias. Outro fator que colaborou para a descontinuidade do uso é o seu perfil alto de efeitos colaterais. Atualmente, é utilizado no tratamento de glaucoma, intoxicação por outros alcaloides e em casos de miastenia grave (Costa et al., 2019; Andrade; Zafar, 2023).

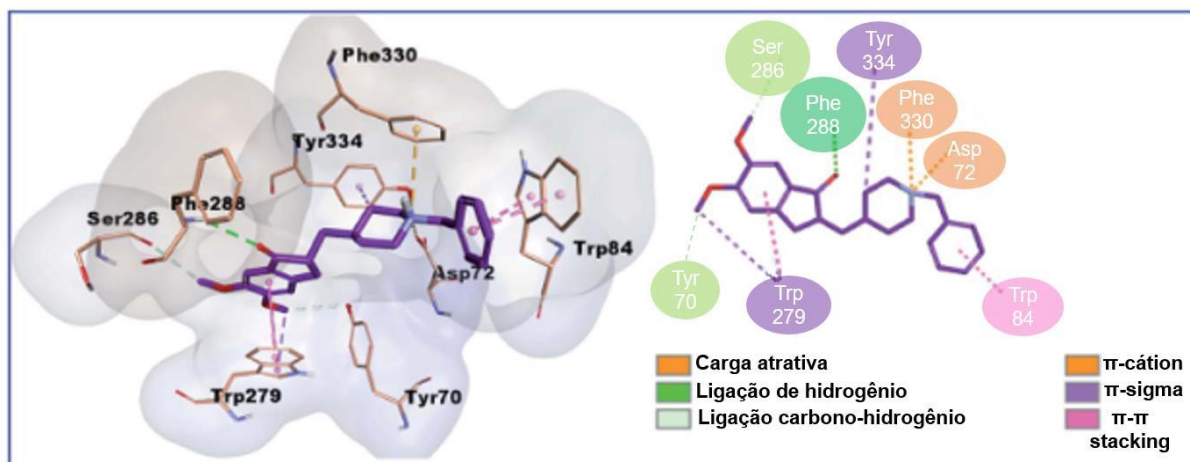
Em 1993, a tacrina tornou-se o primeiro fármaco aprovado pela FDA para o tratamento de DA. A tacrina faz interações intermoleculares com resíduos dos aminoácidos Phe330 e Trp84, que estão presentes no sítio aniônico da AChE. Ademais, vale ressaltar que a tacrina inibe tanto a AChE quanto a BuChE, o que pode tornar esse fármaco útil tanto nos estágios iniciais da DA ao inibir a AChE, quanto nos estágios mais avançados ao inibir a BuChE. Em estágios avançados da DA, o nível de AChE no cérebro diminui gradativamente enquanto a BuChE se mantém, evidenciando o caráter compensatório da BuChE na ausência de AChE

(Kummerle, 2021; Sharma, 2019). Entretanto, apesar de apresentar eficácia terapêutica, a tacrina possui efeitos hepatotóxicos consideráveis, sendo descontinuada em 2013 (Tumiatti et al., 2010).

A donepezila, por sua vez, foi aprovada, em 1996 para o tratamento de pacientes com DA leve a moderada. Esse fármaco inibe especificamente a AChE, entretanto, possui outros mecanismos de ação adicionais, não agindo apenas à nível de neurotransmissores, mas também a nível molecular e celular em todos os estágios envolvendo a patogênese da DA, como na redução de citocinas inflamatórias presentes no início da doença e redução de efeitos oxidativos induzidos por estresse (Jacobson; Sabbagh, 2008).

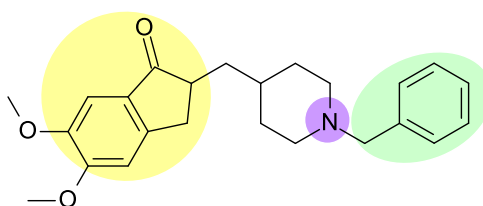
A donepezila é o iAChE mais eficaz com menor hepatotoxicidade. É muito utilizada como protótipo para o desenvolvimento de fármacos que utilizam hidridização, que geralmente demonstra melhores afinidades e eficácia comparados às substâncias isoladas. Desta forma, nos últimos anos, vários derivados da donepezila foram preparados e avaliados como agentes anti-DA (Viegas-Junior et al., 2017; Mohsin; Ahmad, 2020). A donepezila parece interagir com a AChE através de interações de empilhamento π - π com o resíduo Trp84, π -cátion com os resíduos Asp72 e Phe330, π -sigma com os resíduos Tyr334 e Trp279, ligação de hidrogênio com o resíduo Phe288 e ligação carbono-hidrogênio com os resíduos Tyr70 e Ser286 (**Figura 20**) (Hassan et al., 2020). O grupo indanona da molécula (caracterizado como uma região aromática lipofílica) interage no PAS, enquanto o grupo benzilamina contribui para a afinidade através da interação com o CAS (**Figura 21**) (Kryger et al., 1999; Sağlık et al., 2020).

Figura 20 - Padrão de interação da donepezila com o sítio ativo da AChE.



Fonte: adaptado de Hassan et al., 2020.

Figura 21 - Representação da estrutura da donepezila com destaque para os grupos responsáveis pela interação com a AChE. Amarelo: região aromática lipofílica (indano) = interação com o PAS; roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica (benzilamina) em verde = interação com o CAS.



Fonte: Autoria própria.

Já a galantamina é um alcalóide isolado de plantas da família Amaryllidaceae que foi aprovada para o uso clínico para o tratamento da DA em 2001. Esse fármaco possui longa duração de ação, possui seletividade de aproximadamente 50 vezes mais para AChE do que para BuChE, age como um inibidor reversível competitivo da AChE, além de ser um modulador alostérico dos nAChRs. Devido ao seu duplo mecanismo de ação, a galantamina melhora significativamente o déficit cognitivo tanto por aumentar a ACh na fenda sináptica através da inibição da AChE, quanto por modular alostericamente os nAChR, potencializando a atividade do canal de nAChRs em resposta à ACh (Wang et al., 2007; Santos et al., 2020).

Por fim, a rivastigmina é um inibidor tanto da AChE e BuChE, que penetra rapidamente no SNC após a sua administração oral ou parenteral, possuindo longa duração de ação (aproximadamente 10 horas). Essa molécula possui afinidade tanto pelas colinesterases do SNC quanto pelas periféricas, entretanto, estudos mostram uma inibição mais potente da AChE no córtex e hipocampo e nas regiões cerebrais mais afetadas pela DA (Birks et al., 2015).

A duração do tratamento com os iAChE é limitada pelo fato da quantidade da AChE ser severamente reduzida nos pacientes com DA em mais de 90%, enquanto os níveis da BuChE podem ser aumentados em aproximadamente 120% com relação a condição fisiológica normal. Desta forma, a BuChE exerce um papel essencial na compensação da enzima AChE em hidrolisar a ACh em condições patológicas como na DA. Portanto, inibidores da BuChE (iBuChE) também podem ser uma potencial estratégia para o tratamento de DA avançada (Gao et al., 2021; Zhou; Huang, 2022).

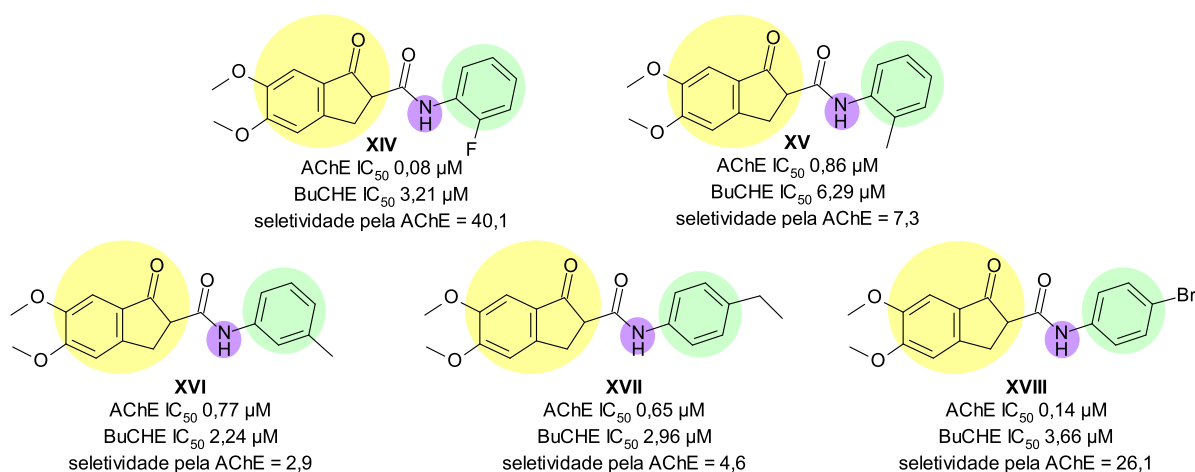
2.3.3. Inibidores duais AChE / BuChE

O crescente interesse por compostos capazes de inibir tanto a AChE quanto a BuChE pelo potencial benefício em estágios mais avançados da DA tem se tornado evidente (Kummerle, 2021; Sharma, 2019). Yerdelen et al. (2015), apresentam compostos contendo o fragmento indano da donepezila que foram planejados e avaliados com relação à capacidade de inibição nas colinesterases e agregação dos peptídeos beta-amilóides ($A\beta_{1-42}$), agentes antioxidantes e queladores de metais. Os compostos avaliados apresentaram boa capacidade de inibição tanto na AChE quanto na BuChE, embora não houve diferenças relevantes entre eles os compostos com relação a inibição nas colinesterases (**Figura 22**).

Lamie et al. (2022), por sua vez, mostram algumas moléculas multialvos baseados na estrutura da donepezila com potente atividade inibitória pelas colinesterases e propriedade antioxidante, que vem sendo estudados como potenciais candidatos para o tratamento da DA (**Figura 23**). O composto **XIX**, contendo o fragmento benzilpiperidina (verde), mesmo fragmento presente na donepezila, exibiu atividade inibitória nanomolar tanto na AChE quanto na BuChE., apresentando interações com os resíduos Trp86, Tyr341 e Trp286 da AChE e Trp82 Ile69 e Gln71 da BuChE. Já o composto **XX**, teve a sua atividade inibitória

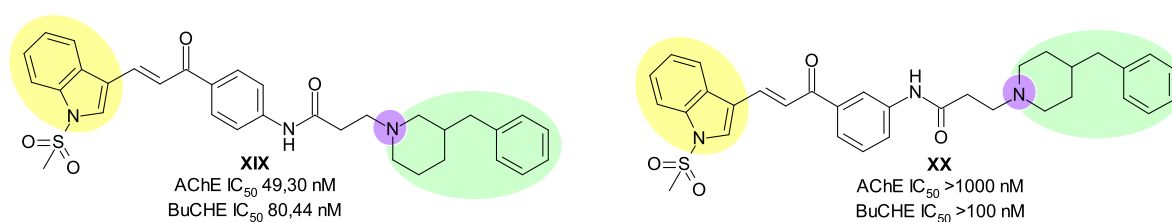
drasticamente reduzida nas colinesterases ao ter a amida posicionada na posição *meta*.

Figura 22 - Compostos baseados na estrutura da donepezila com potente atividade inibitória pelas colinesterases. Amarelo: região aromática lipofílica (indano); roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica.



Fonte: Autoria própria.

Figura 23 - Compostos baseados na estrutura da donepezila com potente atividade inibitória pelas colinesterases. Amarelo: região aromática lipofílica; roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica (benzilpiperidina).

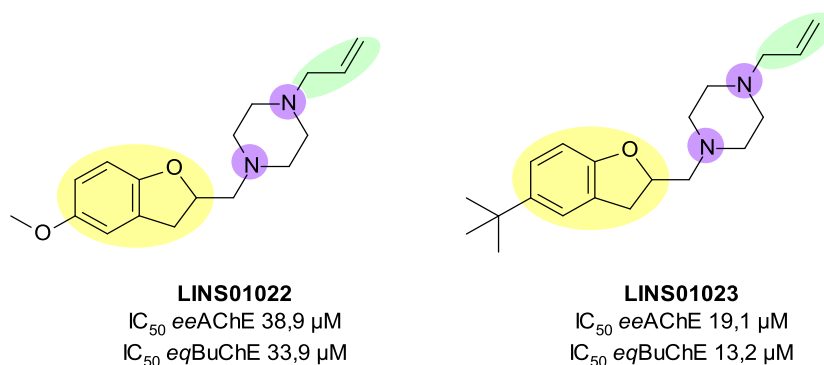


Fonte: Autoria própria.

Já em trabalhos realizados pelo nosso grupo com compostos da série LINS01 observam-se resultados promissores em ensaios de afinidade pelas colinesterases. Os melhores compostos como anticolinesterásicos da série foram o LINS01022 e LINS01023 (**Figura 24**), que contém o grupo alilpiperazina na região básica. Ademais, os dados obtidos, juntamente com aqueles de outros compostos da literatura, sugerem que o aumento da distância entre o grupo básico e o núcleo aromático pode aumentar a afinidade pelas ChEs (Lopes et al., 2022). Assim,

explorar futuramente espaçantes mais longos deve ser considerada nesses compostos.

Figura 24 - Compostos LINS01 com melhores afinidades pelas colinesterases. Amarelo: região aromática lipofílica; roxo: grupo básico ligado a uma região lipofílica (benzilamina).

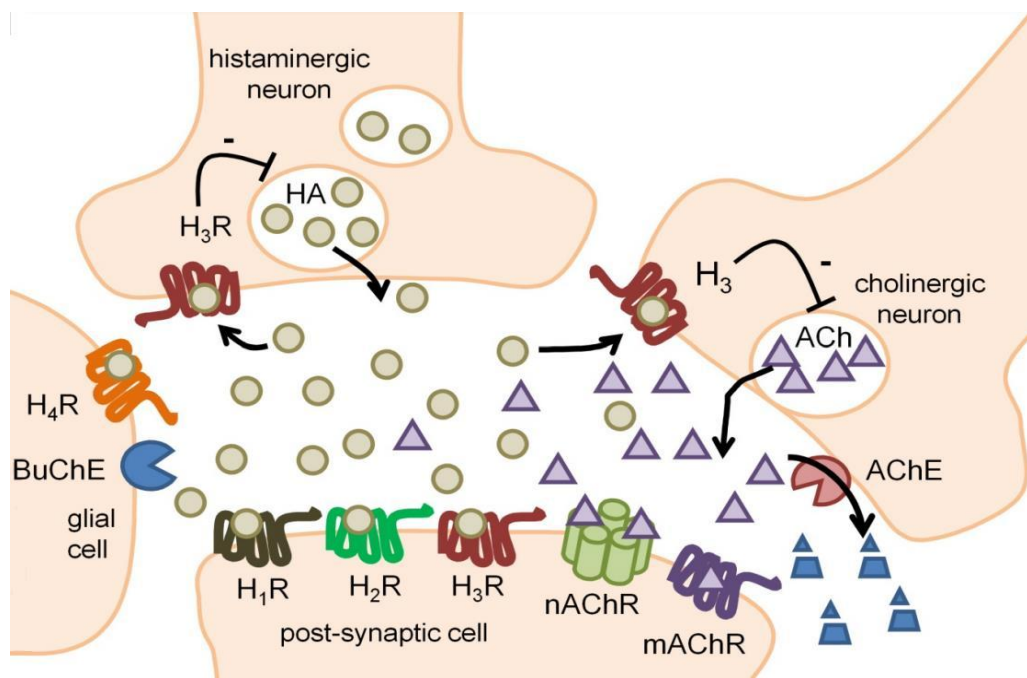


Fonte: Autoria própria.

2.4. Correlação entre o sistema histaminérgico e o sistema colinérgico

Como discutido, o H₃R é um auto-receptor inibitório e um hetero-receptor em uma variedade de neurônios, dentre eles os neurônios colinérgicos. A modulação do H₃R na transmissão colinérgica foi mostrada pela primeira vez no SNP onde observou-se que a HA e *R*-alfa-metil-histamina (RAMH), um agonista seletivo de H₃R, inibiam a contração de segmentos do íleo de porquinhos-da Índia por estimulação elétrica sem afetar a contração induzida por ACh exógena. Ademais, no músculo liso longitudinal/ plexo mientérico, a liberação de [³H] -acetilcolina ([³H] -ACh) induzida por estimulação elétrica foi inibida pela histamina e pelo RAMH (Trzeciakowski, 1987; Poli et al., 1991; Frieling et al., 1993; Aquino-Miranda; Arias-Montaña, 2012). Essas interações entre neurônios histaminérgicos e colinérgicos estão representadas na **Figura 25**.

Figura 25 - Representação esquemática da interação entre HA e ACh no SNC.



Fonte: Lopes et al., 2021.

Já no SNC, experimentos *in vitro* mostraram que a ativação do H₃R inibe a liberação da ACh-[³H] induzida por potássio em fatias do córtex entorrinal de ratos. Entretanto, em sinaptossomas da mesma região e em fatias do hipocampo, a liberação do ACh-[³H] não foi afetada pela ativação do H₃R, trazendo questionamentos sobre a presença do receptor H₃R nestas terminações nervosas colinérgicas (Frieling et al., 1993; Alves-Rodrigues et al., 1998; Aquino-Miranda; Arias-Montaño, 2012).

Por fim, estudos *in vivo* com microdiálise em cérebros de ratos mostraram que a ativação do H₃R inibia a liberação de ACh no hipocampo, amígdala basolateral, córtex pronto-parietal, estriado ventral e núcleo *accumbens*, estruturas essas correlacionadas com os processos cognitivos. Desta forma, a semelhança dos estudos realizados em fatias do córtex entorrinal de ratos por exemplo e dos estudos *in vivo* mencionados, indicam que há uma ação direta dos H₃R sobre os receptores localizados nos terminais colinérgicos, havendo uma modulação do H₃R na liberação ou inibição da ACh no SNC (Blandina et al., 1996; Aquino-Miranda; Arias-Montaño, 2012).

Outros estudos utilizando antagonistas/agonistas inversos do H₃R em modelos de camundongos ou ratos com prejuízo cognitivo ocasionados pela utilização de escolopamina, mostram a clara correlação existente entre os sistemas

histaminérgicos e colinérgicos. Em um dos estudos, por exemplo, a utilização dos antagonistas do H₃R tioperamida e clobempropite reverteu totalmente os prejuízos cognitivos causados pela escopolamina em ratos, onde os ratos foram submetidos a testes de esquia inibitória e reconhecimento de objeto novo. Acredita-se que essas respostas podem envolver neurônios colinérgicos do núcleo basal de Meynert (NBM), já que as tarefas cognitivas foram prejudicadas por um antagonista colinérgico. Portanto, melhorias cognitivas induzidas por antagonistas/agonistas inversos do H₃R podem ser explicadas pelo antagonismo dos H₃R sobre a liberação de ACh cortical. Um segundo mecanismo que pode ter contribuído para os efeitos observados dos antagonistas H₃R pode envolver a liberação de histamina, já que estes compostos, ao aumentar a liberação de histamina, podem facilitar a atividade colinérgica em áreas cerebrais cruciais para o desenvolvimento de funções cognitivas (Bacciottini et al., 2001).

Sendo assim, os antagonistas H₃R proporcionam uma maior liberação e disponibilidade de HA e ACh na fenda sináptica para interagirem com os seus respectivos receptores, melhorando processos cognitivos em áreas cerebrais relacionadas com o aprendizado, memória, atenção, dentre outras. Tal fato torna-os, portanto, promissores candidatos a fármacos para o tratamento de desordens cognitivas (Blandina et al., 1996; Bacciottini et al., 2001 Aquino-Miranda; Arias-Montaña, 2012; Lopes et al., 2021).

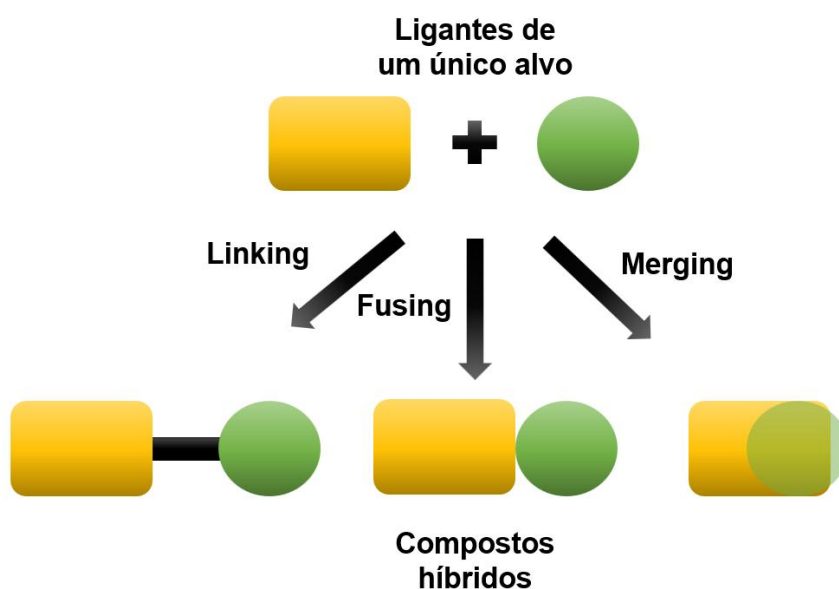
2.5. Abordagem multialvo: ligantes duais H₃R/ChEs

O planejamento e desenvolvimento de um único fármaco capaz de atuar em dois ou mais alvos de interesse, numa estratégia mais conhecida como planejamento de ligantes multialvos, pode ser uma solução viável para o tratamento de condições complexas, como as demências. A experiência com o uso de agentes mais seletivos, devido à complexidade dessas doenças multifatoriais mentais, mostrou que fármacos seletivos, de alvo único, nem sempre apresentam eficácia satisfatória (Jończyk et al., 2019; Féger, Hirsch, 2015). Assim, o efeito sinérgico que antagonistas/agonistas inversos dos H₃R podem ter com agentes anticolinesterásicos na atividade cognitiva é uma estratégia interessante para novos fármacos com potencial pró-cognitivo.

Os fármacos multialvo também podem proporcionar uma série de outros benefícios, como a redução de interações fármaco-fármaco, já que nesse caso, apenas um fármaco é administrado ao invés de dois, diminuindo os efeitos adversos. Outra vantagem seria a simplificação do regime terapêutico, já que pacientes que sofrem de declínio cognitivo, por exemplo, podem encontrar dificuldades com relação à administração de dois fármacos distintos devido, muitas vezes, a diferentes horários e doses de administração dos mesmos (Prati et al., 2016).

Prati e colaboradores propõem que compostos multialvo podem ser obtidos através de estratégias como *linking*, *fusing* ou *merging* (Prati et al., 2016). A estratégia *linking* consiste na ligação de duas moléculas através de um espaçante estável. A estratégia *fusing*, por sua vez, é a união de duas moléculas pequenas diretamente, sem um espaçante. Essas duas estratégias, entretanto, podem gerar moléculas grandes e com maior peso molecular, que poderão encontrar dificuldades para atravessar os tecidos e eventualmente, o compartimento intracelular de interesse (Stelitano et al., 2020). Por fim, a estratégia de *merging* é a sobreposição de duas moléculas diferentes, geralmente com um farmacóforo comum, que proporciona diversas vantagens comparados às outras estratégias. Entre elas, a geração de moléculas com menor peso molecular, menor lipofilicidade e melhores parâmetros de eficiência de ligante (**Figura 26**).

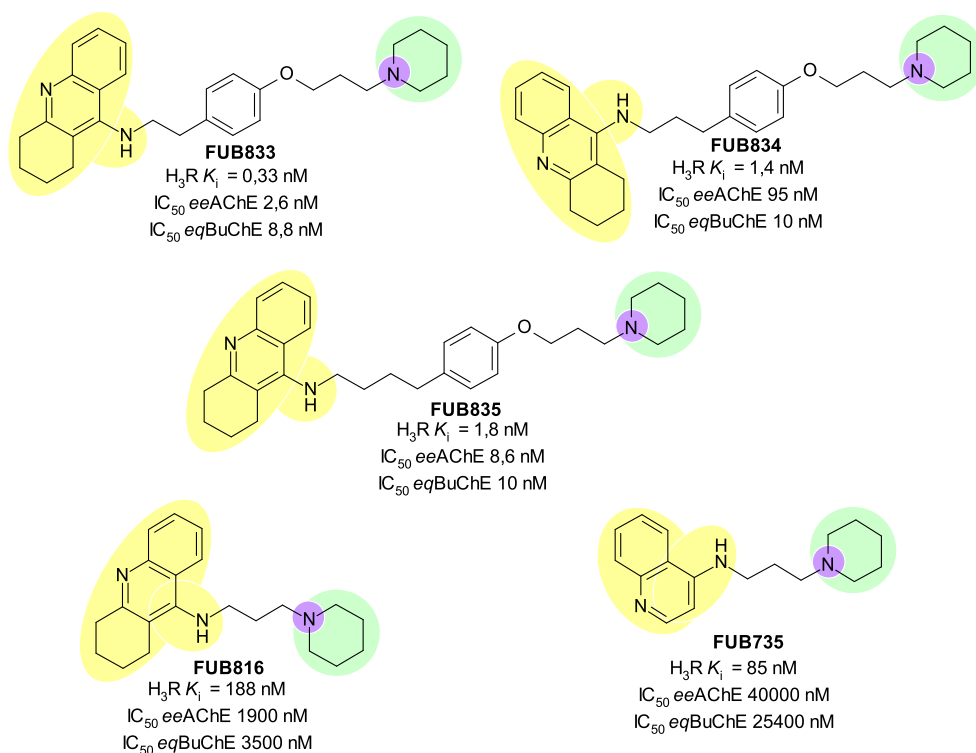
Figura 26 - Estratégias para a obtenção de fármacos multialvo.



Fonte: Autoria própria.

Diversos exemplos na literatura mostram a utilização de estratégias de hibridização para a obtenção de compostos com afinidade pelo H₃R e ação anticolinesterásica. Petroianu et al. (2006) apresentam em seu trabalho compostos híbridos contendo um fragmento da tacrina correspondente à região aromática da estrutura geral de ligantes dos H₃R. Variações nas moléculas incluíram a aromatização e simplificação do fragmento da tacrina e variações no espaçante entre o fragmento da tacrina e a região básica. Dentre os compostos testados, o **FUB833**, **FUB834** e o **FUB835** exibiram alta afinidade tanto em H₃R quanto nas colinesterases, com boa seletividade em outros subtipos de receptores de histamina. Já o **FUB816** apresenta um espaçante muito mais curto entre o fragmento de tacrina e a região básica comparado aos compostos **FUB833**, **FUB834** e **FUB835**, o que, consequentemente, reduziu muito a sua atividade principalmente nas colinesterases. Por fim, o **FUB735** teve a retirada de um anel ciclohexil do fragmento da tacrina, o que reduziu drasticamente a afinidade dos compostos pelas colinesterases comparado ao **FUB816** (Figura 27).

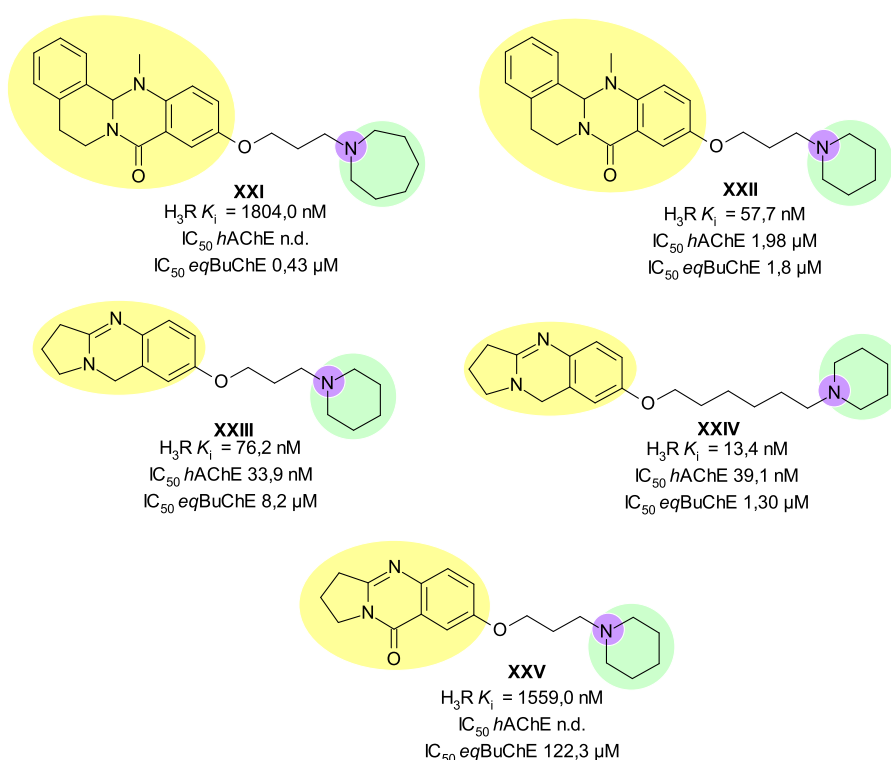
Figura 27 - Compostos **FUB** e seus resultados de afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico (fragmento da tacrina); roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

Já Darras et al. (2014) mostram em seu trabalho uma nova série de compostos híbridos que atuam tanto como antagonistas dos H₃R quanto inibidores das colinesterases. Os compostos foram desenvolvidos através da ligação entre fragmentos tri- e tetracíclicos que demonstram alguma similaridade com a estrutura da tacrina com aminas cíclicas através de um espaçante de 3 ou 6 carbonos. Dentre os compostos observa-se que o azepano presente no composto **XXI** diminui muito a atividade tanto em H₃R quanto na acetilcolinesterase ao se comparar com o composto **XXII** que possui uma piperidina. Já a troca de um fragmento tetracíclico (composto **XXII**) por um tricíclico como o composto **XXIII**, melhorou muito a atividade dos compostos nos alvos de interesse. Além disso, o aumento do espaçante entre o fragmento tricíclico e a região básica como visto no composto **XXIV**, melhorou a afinidade por H₃R e conferiu certa seletividade pela BuChE. Por fim, a presença do grupo carbonila na região aromática prejudicou a afinidade por H₃R observado no composto **XXV** (Figura 28).

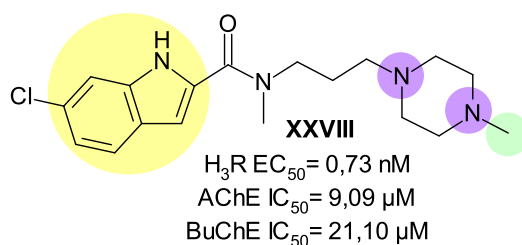
Figura 28 - Compostos híbridos com fragmentos tri- e tetracíclicos ligados a aminas cíclicas e seus resultados de afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico (fragmento similar à tacrina); roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

Desta forma, diversos exemplos da literatura e do nosso grupo mostram a estratégia de hibridização *merging* para a obtenção de compostos com afinidade dual em H₃R e ação anticolinesterásica. Alguns exemplos na literatura, como o trabalho de Jończyk et al. (2019) mostram compostos com afinidade pelo H₃R e colinesterases com mais de uma amina protonável na região básica. Esses compostos não apresentaram boa ação inibitória pela AChE, apesar da afinidade nanomolar pelo H₃R. Já Ghamari et al. (2020) utilizaram uma estratégia de triagem virtual para identificar potenciais ligantes do H₃R, sendo que dentre eles, o composto **XXVIII** foi identificado como ligante das colinesterases com afinidade micromolar (**Figura 30**). Tal composto apresenta duas aminas protonáveis na região básica. Desta forma, estudos de ancoragem molecular indicaram que a piperazina básica pode interagir com o triptofano da região CAS da AChE, enquanto que o anel indol é direcionado para a região PAS. Adicionalmente, o grupo piperazina parece ser responsável por interagir com Glu5.46 do H₃R.

Figura 30 - Composto **XXVIII** e seus resultados de afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.

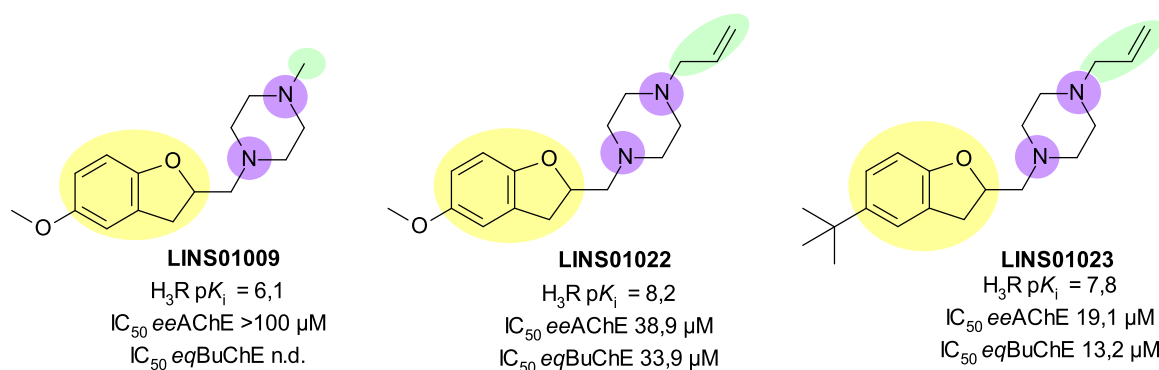


Fonte: Autoria própria.

Corrêa et al. (2021) apresentam em seu trabalho uma série de compostos com essas características, na qual pequenas modificações na estrutura dessas moléculas aumentaram ou diminuíram suas afinidades pelo H₃R e ação anticolinesterásica. Observa-se, na **Figura 31**, que o composto **LINS01009** apesar de apresentar afinidade pelo H₃R, possuía uma taxa de inibição irrelevante nas colinesterases. Ao trocar-se a metila na região lipofílica arbitrária ligada ao grupo básico por um grupo alila, dando origem ao composto **LINS01022**, este passou a apresentar uma considerável atividade de inibição nas colinesterases. Além disso, a troca do grupo metoxila ligada a região lipofílica em amarelo do composto

LINS01022, pelo grupo *tert*-butila (composto **LINS01023**) melhorou ainda mais a ação anticolinesterásica do composto (Corrêa et al., 2021; Lopes et al., 2022).

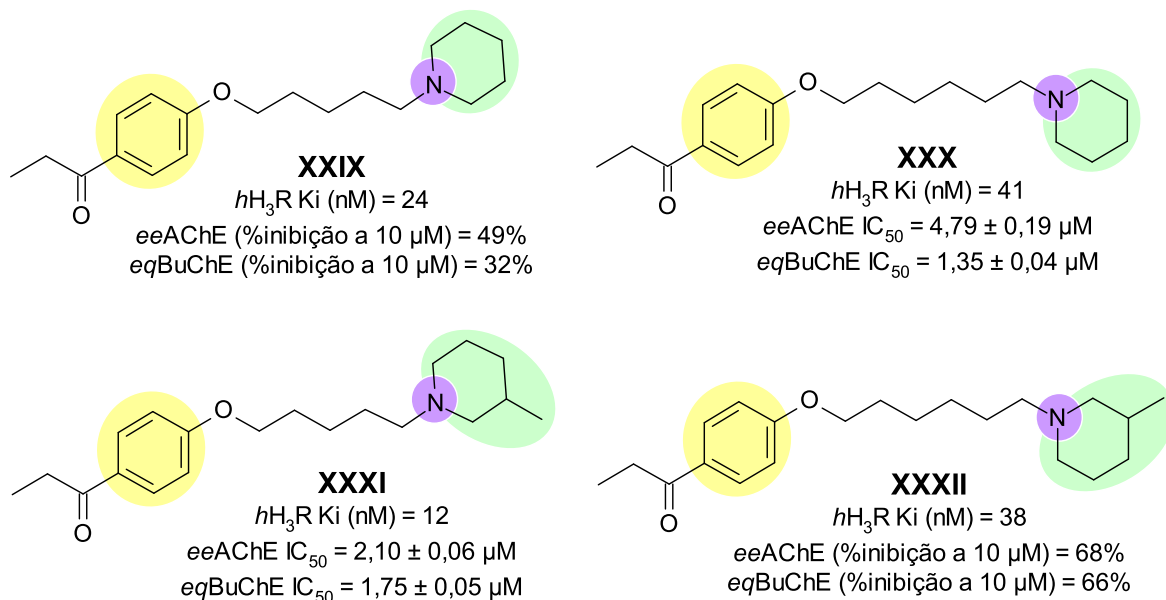
Figura 31 - Compostos **LINS01** e seus resultados de afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Corrêa et al., 2021; Lopes et al., 2022.

Já Łażewska et al. (2023) reportaram uma série de compostos derivados propionil-fenoxílicos com afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica (**Figura 32**), em que fica possível observar a influência do espaçante na atividade dual dos compostos. Assim sendo, comparando-se os compostos **XXIX** e **XXX** pode se observar que a presença de um carbono a mais no espaçante diminuiu a afinidade pelo H₃R, entretanto, melhorou a ação inibitória nas colinesterases. Já ao comparar-se os compostos **XXXI** e **XXXII**, nota-se que a adição de um carbono a mais no espaçante diminuiu a atividade geral do composto pelos alvos de interesse.

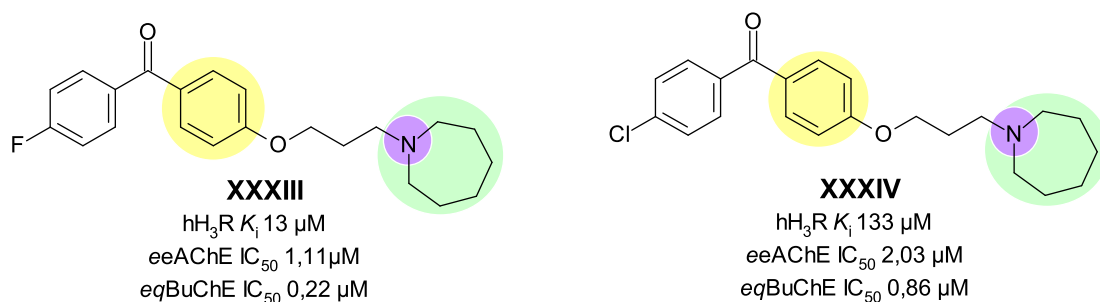
Figura 32 - Compostos derivados de propionil-fenoxi-pentil(-hexil) e seus resultados de afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

Godyń et al. (2022), por sua vez, relataram compostos benzofenônicos (**Figura 33**) com perfil de atividade semelhante. Comparando-se os compostos **XXXIII** e **XXXIV**, nota-se que a troca de um flúor ligado à região lipofílica arbitrária em amarelo por um cloro diminuiu muito a afinidade pelo H₃R, porém, manteve a ação anticolinesterásica, sugerindo desta forma, que grupos eletronegativos ligados ao anel aromático podem influenciar na afinidade pelo H₃R (Bajda et al., 2012; Corrêa; Fernandes, 2018).

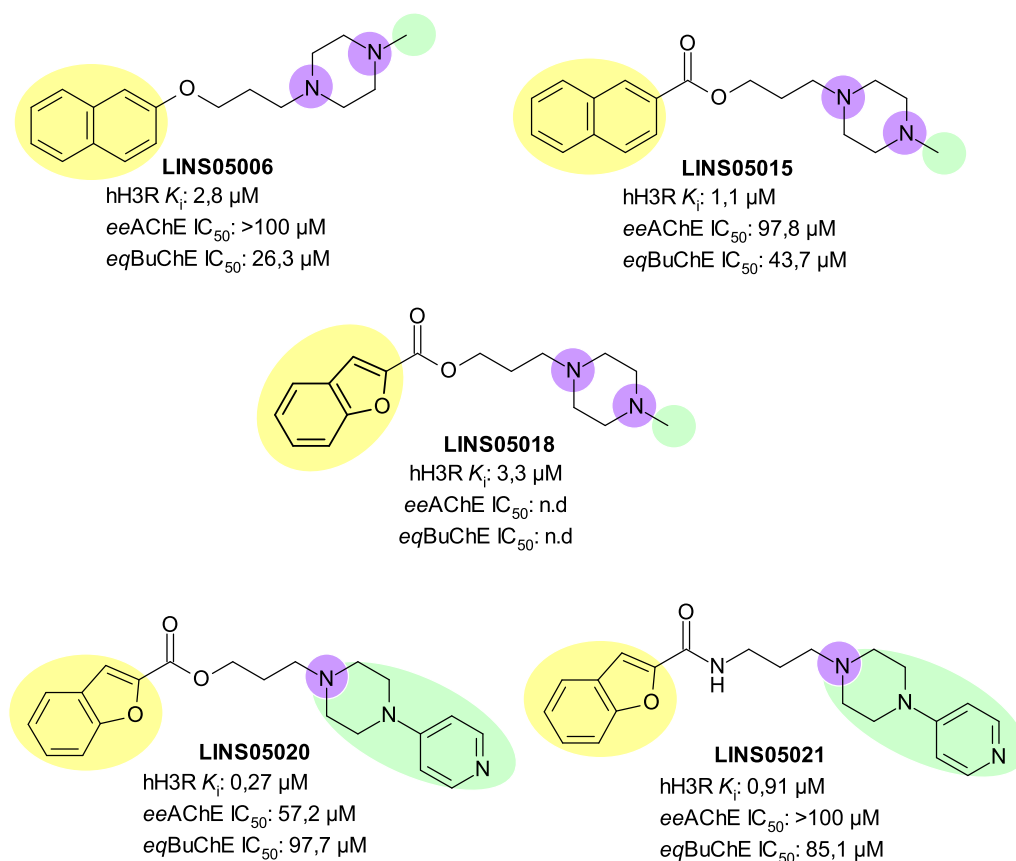
Figura 33 - Compostos derivados de benzofenonas e seus resultados de afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

Por fim, Aranha et al. (2023), mostram em seu trabalho uma série de compostos (série LINS05) (**Figura 34**) que foi desenvolvida e avaliada quanto à afinidade por H₃R e capacidade de inibição por ambas as ChEs. Dessa maneira, comparando-se os compostos **LINS05006** e **LINS05015**, observa-se que modificações de heteroátomos no espaçante também podem influenciar a atividade dual dos compostos. A substituição do grupo éter por éster no espaçante levou à melhora na atividade tanto em H₃R quanto nas colinesterases (composto **LINS05015**). Já a troca do naftaleno por um benzofurano reduziu a atividade geral do composto **LINS05018**, denotando novamente a importância de realizar modificações realizadas na região lipofílica arbitrária.

Figura 34 - Compostos LINS05 e seus resultados de afinidade por H₃R e ação anticolinesterásica. Amarelo: grupo lipofílico; roxo: amina terciária; verde: região lipofílica ligada ao grupo básico.



Fonte: Autoria própria.

Ainda explorando a estrutura do **LINS05018** apesar da baixa atividade dual, modificou-se a região lipofílica ligada ao grupo básico por um substituinte mais volumoso (piridilpiperazina), mas que contém apenas um nitrogênio básico (composto **LINS05020**), a afinidade tanto pelo H₃R quanto pelas colinesterases foi

bastante aumentada, sendo um dos melhores compostos da série. Finalmente, o bioisosterismo do éster presente no espaçante do **LINS05020** pela amida (**LINS05021**) não impactou muito a afinidade pelos alvos, exceto pela redução da atividade na AChE (Aranha et al., 2023). Vale salientar que o composto **LINS05018** possui dois nitrogênios básicos na piperazina, enquanto o composto **LINS05020** possui apenas um. Isso pode ter alguma relação com a melhora da atividade do composto **LINS05020** nas colinesterases ser devido ao aumento do volume nessa região ou por possuir apenas uma amina protovável (Aranha et al., 2023).

Dessa forma, em vista dos exemplos de compostos com atividade dual tanto em H₃R quanto nas ChEs utilizando-se o *merging* como forma de hibridização, nota-se ser uma estratégia promissora para o planejamento de compostos com eficácia pró-cognitiva. Portanto, faz-se necessário o planejamento de novos compostos utilizando-se dessa estratégia com o objetivo de melhorar a atividade pelos alvos de interesse. Variações na região lipofílica, por exemplo, devem ser consideradas, já que alterações nessa região afeta diretamente a atividade pelo H₃R e ChEs como mostrado nas figuras **31**, **33** e **34**. O espaçante também deve ser considerado tanto com relação ao tamanho, quanto aos heteroátomos presentes. Por fim, a presença de um ou mais grupos básicos também podem exercer influência com relação à atividade dos compostos, assim como o grupo lipofílico ligado ao grupo básico. Vale salientar que as propriedades farmacocinéticas também devem ser consideradas no planejamento desses compostos (Bajda et al., 2012; Corrêa; Fernandes, 2018; Ghamari et al., 2020; Lopes et al., 2021; Lopes et al., 2022; Aranha et al., 2023; Łażewska et al., 2023).

3. OBJETIVOS

Face ao exposto, este trabalho teve como objetivo sintetizar e avaliar a atividade de compostos aril-alquilamido-piperazinas como potenciais anticolinesterásicos e ligantes dos H_3R . Com os resultados obtidos, pretende-se futuramente otimizar o planejamento de novos compostos com maior atividade e eficácia.

Especificamente, os objetivos deste trabalho foram:

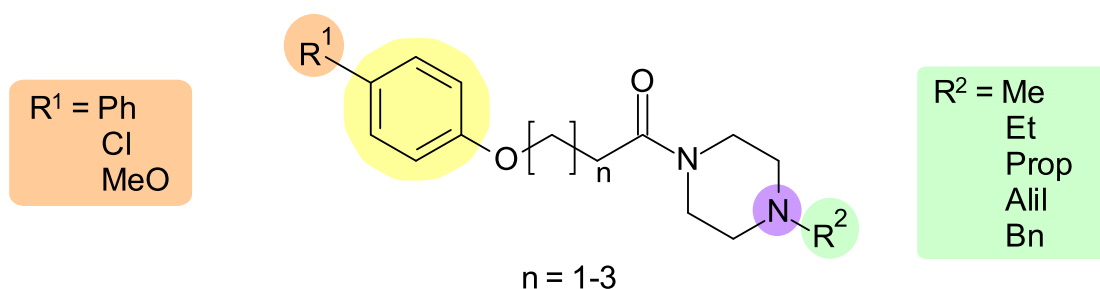
- a. Sintetizar os compostos propostos através de métodos sintéticos orgânicos clássicos;
- b. Purificar e caracterizar a estrutura desses compostos pelas técnicas espectroscópicas adequadas;
- c. Avaliar a afinidade desses compostos por AChE e BuChE;
- d. Avaliar a afinidade desses compostos por H_3R .

4. METODOLOGIA

4.1. Planejamento dos compostos

O planejamento da série baseou-se nas características farmacofóricas de antagonistas/agonistas inversos de H₃R e iChEs levando em consideração resultados anteriormente publicados pelo nosso grupo (Corrêa et al., 2019; Aranha, 2023; Lopes, 2023). Desta forma, ao explorar as semelhanças entre os farmacóforos de ligantes de H₃R e de ChEs, uma série de compostos foi planejada de acordo com a **Figura 35**.

Figura 35 - Compostos aril-alquilamido piperazinas planejados com afinidade por H₃R/ChEs.



Fonte: Autoria própria.

Os compostos planejados neste trabalho apresentam o núcleo aromático (amarelo), com substituição (laranja – R¹), distante de 3 a 5 carbonos de uma região básica piperazínica (roxo) substituída com grupos menos ou mais volumosos (verde). Os resultados obtidos podem ser úteis para otimizar o planejamento de novos compostos com maior atividade e eficácia.

4.2. Materiais

Os reagentes e materiais químicos foram adquiridos comercialmente de empresas especializadas com grau de pureza adequado à pesquisa. Os compostos foram sintetizados no Laboratório de Insumos Naturais e Sintéticos (LINS) da UNIFESP, onde há a infraestrutura necessária para o desenvolvimento dos métodos sintéticos.

Os compostos preparados foram caracterizados pelas técnicas espectroscópicas adequadas disponíveis na UNIFESP. Os compostos finais tiveram as estruturas determinadas por ressonância magnética nuclear (RMN) em um espectrômetro de RMN da Bruker, modelo Avance 300, operando a 300 MHz para hidrogênio (^1H) e 75 MHz para carbono 13 (^{13}C), e por espectrometria de massas (EM) de alta resolução em um MALDI-TOF/MS da Bruker. No caso da determinação por RMN, as amostras foram dissolvidas no solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3) e as leituras foram realizadas com uso de tetrametilsilano (TMS) como referência. Os deslocamentos químicos (δ) foram determinados a partir do TMS em partes por milhão (ppm). Quando aplicável, as constantes de acoplamento (J) são apresentadas em Hz. Para obter os espectros de massas de alta resolução, os compostos foram ionizados com solução de ácido fórmico a 0,1%, e os espectros obtidos no modo positivo.

Quando necessário, a pureza dos compostos intermediários foram avaliados cromatograficamente por cromatografia gasosa (CG). Foram considerados adequados para o ensaio farmacológicos as substâncias com pureza superior a 95%.

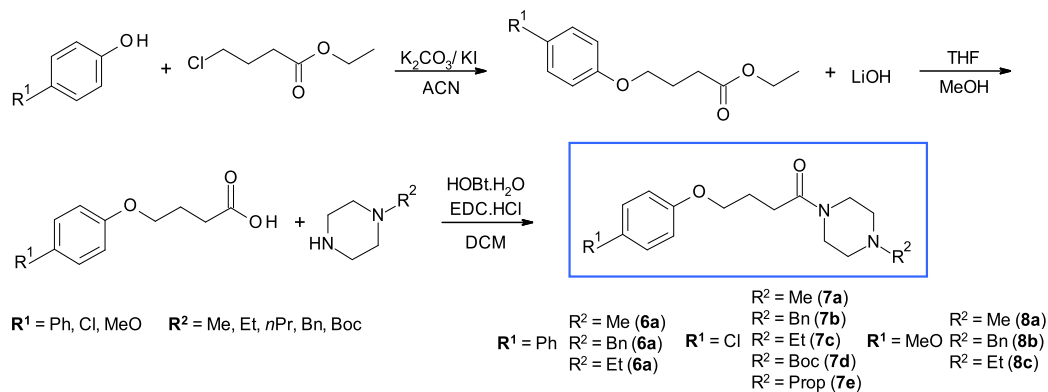
4.3. Estratégia sintética

Os compostos foram preparados a partir de fenóis, que foram alquilados com cloroalquilésteres, hidrolizados e então usados para preparar as amidas finais com substituintes piperazínicos (**Esquema 1**) (Khachatryan et al., 2015; Dayal et al., 1990; Ghosh, Shanabi, 2021). No caso do composto **7d**, o substituinte piperazínico é a tert-butil 1-carboxilato de piperazina (1-Boc-piperazina), que foi submetida a uma reação de hidrólise em meio ácido, para a retirada do grupo protetor Boc presente na piperazina (Du et al., 2013; Smile et al., 2022), dando origem, em seguida, ao composto **7f**. O composto **7f** foi então submetido a uma reação de substituição nucleofílica com o brometo de alila dando origem ao composto **7g** (**Esquema 2**) (Lopes, 2023).

Os compostos também foram preparados a partir dos ácidos 3-cloro-propanóico e 5-bromo-pentanóico, na qual foram reagidos com as piperazinas N-substituídas formando as amidas correspondentes (Ghosh, Shanabi, 2021). Em

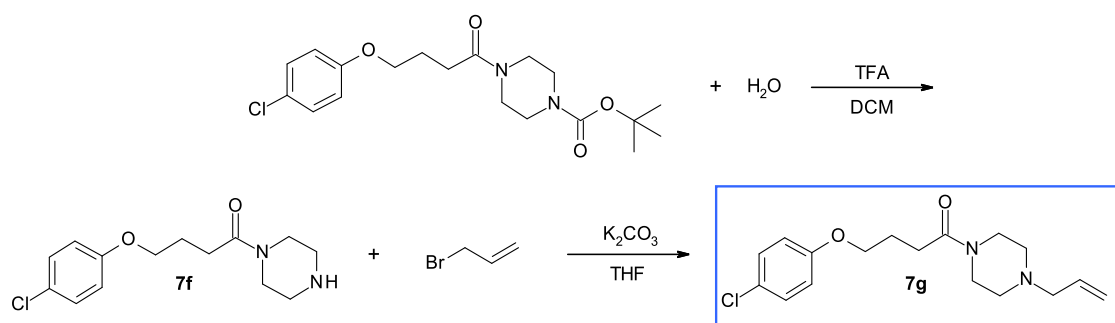
seguida, alquilou-se os fenóis com esses intermediários (**Esquema 3**) (Khachatryan et al., 2015).

Esquema 1 - Procedimento sintético geral para a obtenção dos compostos **6a - 6c**, **7a - 7e**, **8a - 8c**.



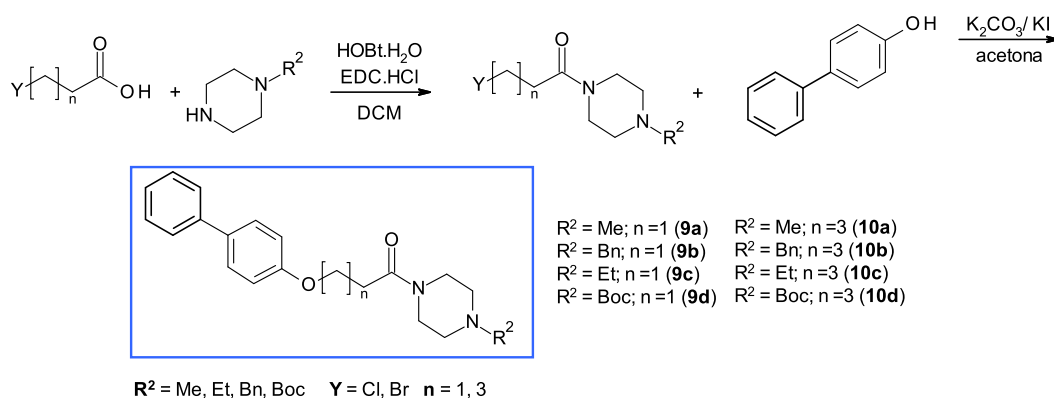
Fonte: Autoria própria.

Esquema 2 - Procedimento sintético geral para a obtenção dos compostos **7f** e **7g**.



Fonte: Autoria própria.

Esquema 3 - Procedimento sintético geral para a obtenção dos compostos com variações no tamanho do espaçante.

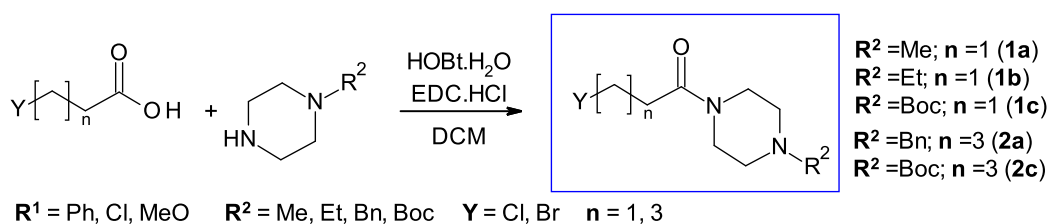


Fonte: Autoria própria.

4.3.1. Obtenção das amidas intermediárias

Os ácidos 3-cloro-propanóico e o 5-bromo-pentanóico foram reagidos com as piperazinas *N*-substituídas correspondentes (metil, benzil, etil, ou com o grupo protetor a tert-butil 1-carboxilato (Boc), na presença do cloridrato de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC.HCl) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt.H₂O), em diclorometano (DCM) (**Esquema 4**) (Chan, Cox, 2007; Christ et al., 2021; Ghosh, Shanabi, 2021).

Esquema 4 - Procedimento sintético para os compostos aril-alquilamidopiperazinas finais. R²-piperazina (1,2 eq.), EDC (1 eq.), HOBt (1 eq.), DCM, t.a., 24 h.

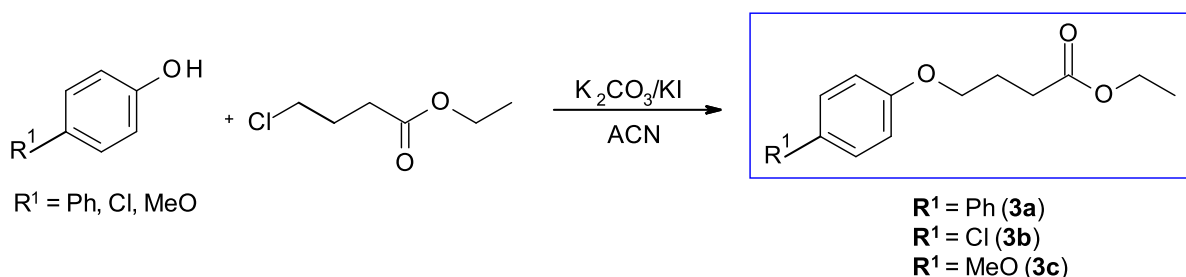


Fonte: Autoria própria.

4.3.2. Obtenção dos éteres

A alquilação dos fenóis foi feita por substituição nucleofílica na presença de carbonato e iodeto de potássio (K₂CO₃/KI) através do éster 4-cloro-butanoato de etila (**Esquema 5**) (Mastitski et al., 2017; Liu et al., 2020; Khachatryan et al., 2015).

Esquema 5 - Procedimento sintético da alquilação de fenóis. 4-cloro-butanoato de etila (1,2 eq.), K₂CO₃ (2 eq.), KI (2 eq.), acetonitrila, refluxo, 80°C, 24 h.

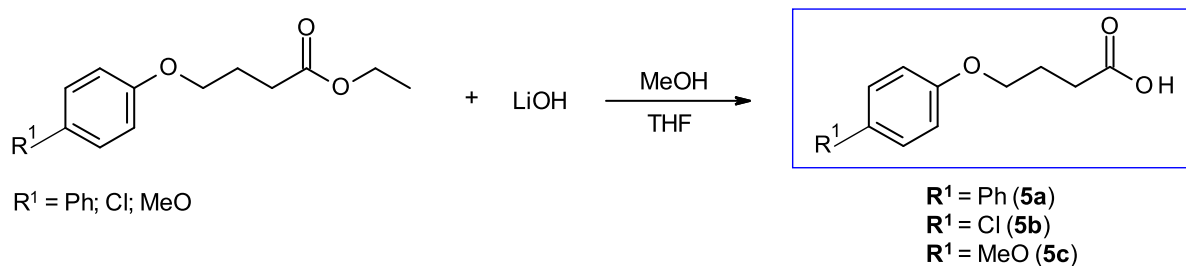


Fonte: Autoria própria.

4.3.3. Obtenção dos ácidos

Após a alquilação, os ésteres obtidos foram hidrolisados usando hidróxido de lítio (LiOH) monoidratado e metanol em tetrahydrofurano (THF), gerando os seus respectivos ácidos (**Esquema 6**) (Dayal et al., 1990).

Esquema 6 - Procedimento sintético de hidrólise dos ésteres. LiOH monoidratado (4 eq.), metanol (2 eq.), THF, refluxo, 60°C, 24 h.

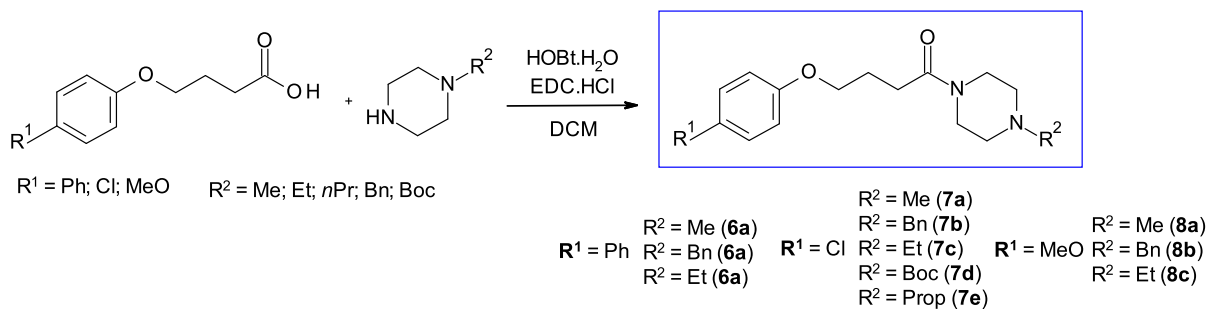


Fonte: Autoria própria.

4.3.4. Obtenção das amidas

Os ácidos foram então reagidos com as piperazinas *N*-substituídas correspondentes (metil, benzil, etil, propil, ou com o grupo protetor *tert*-butiloxicarbonila - Boc), na presença do cloridrato de *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC.HCl) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt.H₂O), em diclorometano (DCM) (**Esquema 7**) (Chan, Cox, 2007; Christ et al., 2021; Ghosh, Shanabi, 2021) formando alguns dos compostos finais.

Esquema 7 - Procedimento sintético para os compostos aril-alkilamidopiperazinas finais. R²-piperazina (1,2 eq.), EDC (1 eq.), HOBt (1 eq.), DCM, *t.a.*, 24 h.

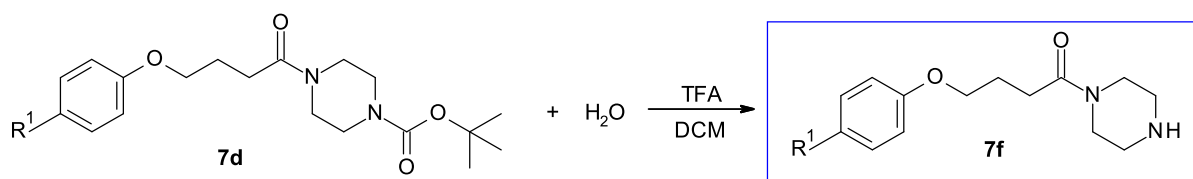


Fonte: Autoria própria.

4.3.5. Obtenção da piperazina (desproteção da 1-Boc-piperazina)

As amidas provenientes da reação com a *tert*-butil1-carboxilato de piperazina (1-Boc-piperazina) foram submetidos a uma reação de hidrólise em meio ácido, para a retirada do grupo protetor Boc presente na piperazina (**Esquema 8**) (Du et al., 2013; Smile et al., 2022).

Esquema 8 - Procedimento sintético para a preparação dos compostos finais com substituinte alila. Ácido trifluoroacético (TFA) (4 eq.), H₂O (1 eq.), DCM, t.a., 18-24 h.



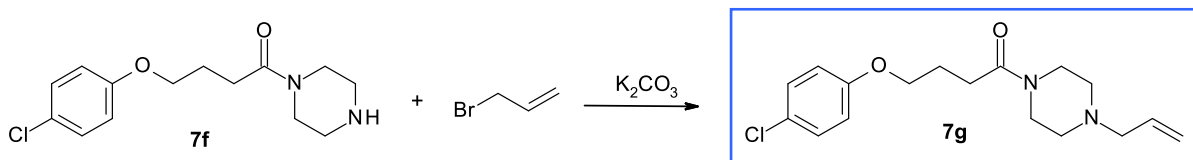
R¹ = Ph; Cl; MeO

Fonte: Autoria própria.

4.3.6. Obtenção do composto **7g**

O produto obtido a partir da desproteção da 1-Boc-piperazina foi submetido a uma reação de substituição nucleofílica com o brometo de alila, na presença de K₂CO₃, em solvente polar aprótico (Tetrahidrofurano-THF) (**Esquema 9**) (Lopes, 2023).

Esquema 9 - Brometo de alila (1 eq.), K₂CO₃ (1 eq.), tetrahidrofurano (THF), t.a., 12-24 h.



Fonte: Autoria própria.

4.3.7. Obtenção dos maleatos

Os compostos finais foram convertidos aos sais hidrogeno-maleato correspondentes para melhorar a solubilidade em água e aumentar o grau de pureza. Para isso, os produtos foram submetidos à neutralização com ácido maléico em excesso em éter dietílico, e o sal formado foi obtido por filtração.

4.4. Avaliação da atividade anticolinesterásica

A avaliação da atividade inibitória dos compostos sobre as colinesterases foi realizada conforme metodologia descrita anteriormente (Lopes et al., 2022; Aranha et al., 2023) utilizando a acetilcolinesterase de *Electricus electrophorus* (eeAChE) e a butirilcolinesterase equina (eqBuChE) em microplacas de 96 poços. Os compostos foram inicialmente testados em concentração de 100 µM, e para os mais

promissores, curvas completas concentração-resposta foram realizadas. A neostigmina foi utilizada como referência para atividade em BuChE, e a donepezila para AChE.

Brevemente, os ensaios foram realizados usando o seguinte protocolo. Em cada poço, foram adicionados 25 μ L de solução de AChE ou BuChE 1 U/mL e 30 μ L de solução do composto teste (ou solução tampão nos poços branco e controle). A placa foi incubada à temperatura ambiente por 10 minutos. A seguir, foram adicionados 125 μ L de solução do ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzóico) (DTNB) (20 mM), 50 μ L de solução tampão e 30 μ L de solução 1 mM de iodeto de acetilticolina (ASChI). Todas as soluções foram preparadas em solução tampão fosfato de sódio (pH 7,4). As leituras foram feitas por absorbância em 415 nm a cada 1 minuto por 15 minutos. Os experimentos foram realizados em triplicata. A concentração necessária para inibir 50% da atividade enzimática (IC_{50}) foi calculada através de regressão não-linear no programa GraphPad Prism 5.0.

4.5. Avaliação da afinidade por H₃R

Os ensaios de afinidade foram realizados em colaboração com o grupo do Prof. Dr. Holger Stark, da Heinrich Heine University Duesseldorf (GER), seguindo metodologia previamente descrita em publicação do nosso grupo (Aranha et al., 2023).

Os compostos foram avaliados no H₃R humano usando ensaios de deslocamento do radioligante [³H] *R*-N^α-metil-histamina (RAMH). Os compostos foram avaliados em concentração única de 1 μ M, e a porcentagem de inibição determinada como a diferença da porcentagem do ligante radiomarcado remanescente após a adição da solução do composto-teste.

4.6. Avaliação *in silico* das propriedades físico-químicas

Os compostos finais, bem como a donepezila que foi utilizada como controle, tiveram as suas estruturas desenhadas na ferramenta SwissADME disponível em: <http://www.swissadme.ch/> que permitiu o cálculo de descritores físico-químicos, assim como parâmetros de Absorção, Distribuição, Metabolização e Excreção (ADME). Os parâmetros considerados relevantes para o presente trabalho foram utilizados como o LogP (wLogP), Log S (ESOL), solubilidade e TPSA e discutidos.

Ademais, foi utilizado o BOILED-egg para a previsão dos compostos finais com relação à absorção gastrointestinal e permeação pela BHE. O gráfico BOILED-egg foi gerado pela própria ferramenta Swiss ADME.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

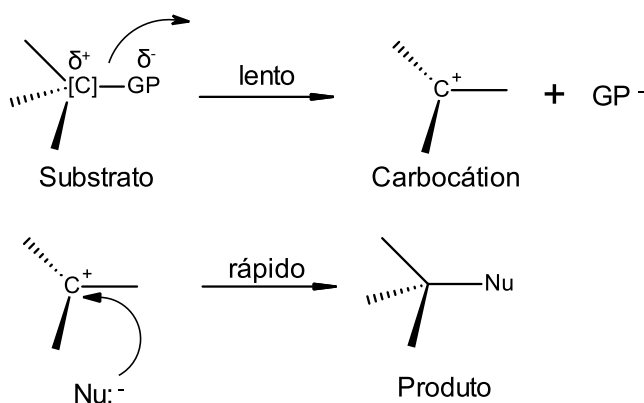
5.1. Síntese dos compostos

5.1.1. Alquilação dos fenóis por substituição nucleofílica

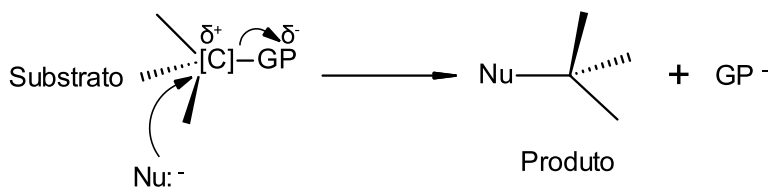
As reações de substituição nucleofílica ocorrem geralmente em derivados de ácidos carboxílicos e em compostos alifáticos com grupos abandonadores. É definido, no geral, pela substituição de um grupo abandonador (GP) em um substrato por um nucleófilo (base de Lewis), podendo ser classificado em substituição nucleofílica unimolecular (S_N1) ou substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), de acordo com o perfil cinético da reação (**Figura 36**) (Ouellette; Rawn, 2015).

Figura 36 - Esquema representativo de uma S_N1 e S_N2 .

Mecanismo S_N1 :



Mecanismo S_N2 :



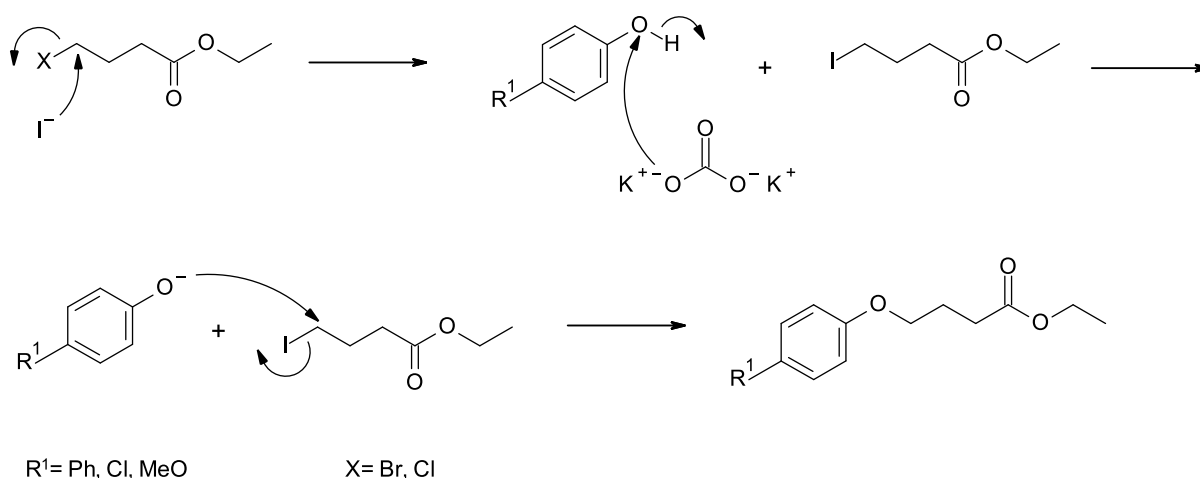
Fonte: Adaptado de Ouellette; Rawn, 2015.

As reações S_N2 são caracterizadas por acontecerem em uma única etapa e em átomos de carbono primários e secundários, pois o impedimento estérico não permite que carbonos terciários ocorram através de uma S_N2 . Além disso, reações S_N2 caracterizam-se por ocorrerem geralmente no centro de carbonos sp^3 alifáticos ligados a um grupo de saída estável e mais eletronegativo, sendo comumente um

halogênio. Vale salientar que a velocidade com que uma reação S_N2 ocorre depende de diversos fatores tais como a força do nucleófilo utilizado, a concentração do substrato ou do nucleófilo, o grupo de saída do substrato e o solvente utilizado, sendo que solventes apróticos polares são preferíveis para reações S_N2 (Ouellette; Rawn, 2018). Isso porque solventes apróticos polares, como a acetonitrila, não interagem com o nucleófilo, já que não há ligação de hidrogênio entre o solvente e o nucleófilo, deixando o nucleófilo livre para atacar o substrato (Hansen et al., 2022).

Desta maneira, a síntese dos compostos iniciou-se por meio da formação de moléculas intermediárias através de reações de substituição nucleofílica, mais provavelmente do tipo bimolecular (S_N2) do composto halogenado com os fenóis (4-fenilfenol, 4-clorofenol e 4-metoxifenol) correspondentes, representados na (**Figura 37**).

Figura 37 - Provável mecanismo geral da alquilação de fenóis por substituição nucleofílica S_N2 .



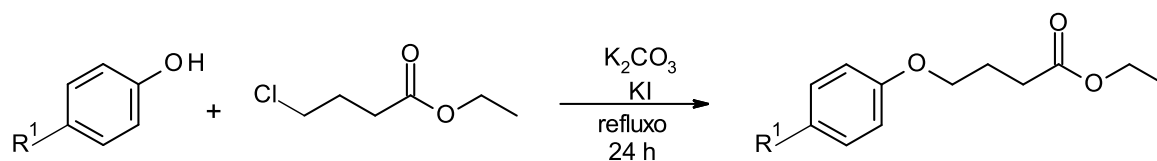
Fonte: Autoria própria.

Para essa alquilação, utilizou-se o iodeto de potássio (KI) como catalisador, que promove a substituição do cloro da cadeia alquílica do éster pelo iodo (Kim et al., 2003; Darehkordi; Kazemi, 2020). Isso porque haloalcanos podem reagir com um ânion haleto (iodeto), através de uma S_N2 (Ouellette; Rawn, 2015). Desta forma, após a substituição do cloreto pelo iodeto na cadeia alquílica, a reação é favorecida pelo fato do iodo ser melhor grupo abandonador (superior ao cloro), conduzindo a rendimentos superiores com relação a reações semelhantes na qual não há adição de KI (Dewick, 2013; Carey; Sundberg, 2017; Kasal; Jindřich, 2022).

O carbonato de potássio (K_2CO_3) foi utilizado como base com objetivo de remover o hidrogênio da hidroxila fenólica e formar o íon fenolato, um nucleófilo mais forte. Dessa forma, o nucleófilo pode fazer o ataque nucleofílico no carbono deficiente em elétrons com maior probabilidade (Hutchins; Fife, 1973; Gbayo et al., 2017).

Como o substrato utilizado é um haleto de alquila primário, infere-se que o mecanismo envolvido na reação é do tipo bimolecular (S_N2). Por essa razão, optou-se pela acetonitrila como solvente, já que em reações de S_N2 , solventes polares apróticos aumentam a velocidade da reação comparado com solventes polares próticos. No caso dos solventes polares próticos, ocorre o efeito de solvatação em que há uma estabilização do nucleófilo (ligação de hidrogênio) que dificulta sua reatividade em uma S_N2 (Hamlin et al., 2018). Além disso, como a acetonitrila é menos volátil que a acetona, é possível realizar reações em temperaturas mais altas, favorecendo os rendimentos (Hayami et al., 1971; Kim et al., 2006).

Os rendimentos obtidos na alquilação dos fenóis variaram de 30% a 65% e são apresentados na **Tabela 1**. Entretanto, os rendimentos foram um pouco abaixo do esperado quando comparados com reações semelhantes aos da literatura, que variaram entre 60-99% (Baker et al., 2015; Pájaro et al., 2017; Sonawane et al., 2019). Essas diferenças observadas podem ser atribuídas a diversos fatores como diferentes nucleófilos, grupos abandonadores, solvente e substratos utilizados (Park et al., 2007; Bajda et al., 2018; Hamlin et al., 2018; Corrêa et al., 2017; 2019). Pájaro et al. (2017), por exemplo, mostram a alquilação de fenóis com o 1,2-dibromoetano em que é possível observar que o fenol não substituído apresentou um rendimento ligeiramente maior do que os fenóis substituídos. Além disso, nota-se diferenças no rendimento da alquilação de acordo com a posição dos substituintes no fenol, na qual substituintes na posição orto, apresentaram menores rendimentos, denotando, desta forma, a influência que o nucleófilo exerce no rendimento da reação.

Tabela 1- Rendimentos referentes à síntese de alquilação dos fenóis.

Composto	R1	Rendimento
3a	Ph	30%
3b	Cl	65%
3c	MeO	50%

Fonte: Autoria própria.

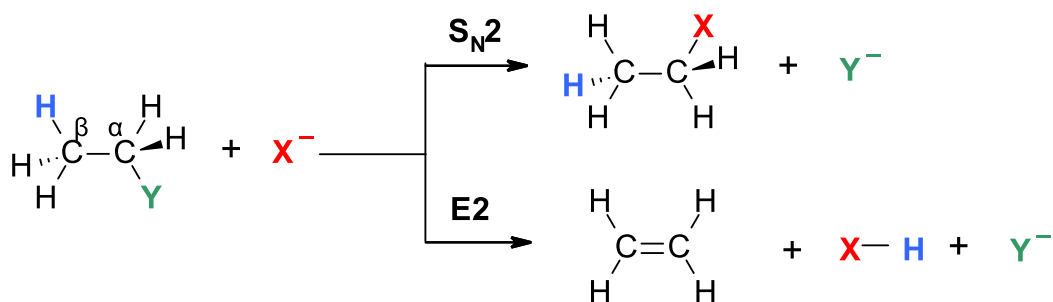
Considerando os rendimentos alcançados na alquilação dos fenóis, pode-se inferir que as diferenças observadas entre os compostos **3a**, **3b** e **3c** deve-se principalmente à influência dos substituintes presentes no anel aromático (R¹). O composto obtido com maior rendimento foi o **3b** (65%), que possui como R¹ o substituinte Cl. Isso se deve principalmente ao fato do cloro ser um retirador de elétrons por efeito indutivo negativo, que diminui a densidade eletrônica do anel aromático e consequentemente aumenta a acidez do hidrogênio ligado ao grupo hidroxila *para*-orientado. Isso contribui para a formação do íon fenolato, que é mais nucleofílico que o fenol correspondente, favorecendo a substituição nucleofílica. Já o composto **3c** apresentou um rendimento menor (50%) que o **3b**, possivelmente devido ao R¹ ser o substituinte metoxila. Este substituinte é um doador de elétrons por efeito mesomérico positivo, que consequentemente diminui a acidez do hidrogênio ligado ao grupo hidroxila *para*-orientado, dificultando a sua dissociação e a substituição nucleofílica (House, 2013; Ouellette; Rawn, 2015; Barret, 2018; Hamlin et al., 2018). Entretanto, o rendimento obtido para o composto **3a** (30%) foi o mais baixo, mesmo sendo R¹ o substituinte fenila, um retirador de elétrons.

Tentativas iniciais foram realizadas utilizando-se haletos de alquila com o grupamento ácido carboxílico na sua estrutura como substrato. Entretanto, os rendimentos obtidos foram irrelevantes, sugerindo que o grupamento ácido estivesse influenciando negativamente a reação. Assim, optou-se por utilizar os ésteres correspondentes, que forneceram maiores rendimentos na alquilação. Visando reduzir etapas sintéticas, outra estratégia foi avaliada. Nessa abordagem, a amida

com substituinte piperazínico foi primeiramente preparada, e posteriormente procedeu-se com a alquilação do fenol. Entretanto, ao invés de ocorrer substituição, verificou-se que ocorreu uma reação de eliminação.

As reações de substituição estão sempre em competição com reações de eliminação, ou seja, as duas reações podem ocorrer como reações indesejadas uma da outra (Hamlin et al., 2018). Um fator determinante com relação à preferência de cada reação é a base utilizada na reação. No geral, quando o nucleófilo é uma base fraca e estericamente menos impedida as reações de substituição são favorecidas. Já quando a base é mais forte e estericamente mais impedida a reação de eliminação é favorecida (Vermeeren et al., 2020). Além disso, a qualidade do grupo de saída, e a acidez do hidrogênio beta em relação ao grupo de saída do substrato envolvidos também são fatores importantes. Um esquema genérico de uma reação de eliminação é apresentado na **Figura 38**.

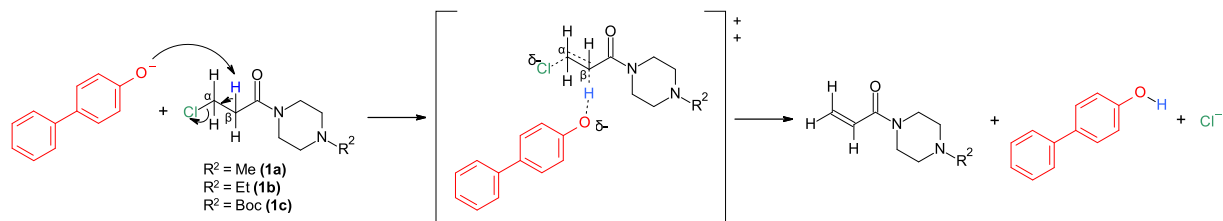
Figura 38 - Esquema representativo de uma S_N2 e $E2$ em competição.



Fonte: Adaptado de Vermeeren et al., 2020.

No caso das alquilações do fenil-fenol com as amidas correspondentes, muito provavelmente o mecanismo de reação se deu da seguinte forma: 1. O nucleófilo (ion fenolato) ataca a ligação C-H do carbono β removendo o hidrogênio ao mesmo tempo em que o cloro se desprende da molécula. 2. No estado de transição, ligações parciais são formadas na qual as ligações C-H e C-Cl são quebradas e uma nova ligação π C-C é formada (par de elétrons da ligação C-H se movem para formar dupla ligação), com a consequente saída do cloro. Finalmente a ligação C=C é formada e os outros produtos são o nucleófilo no seu estado não ionizado (fenol) e o cloreto (**Figura 39**) (Rablen et al., 2014).

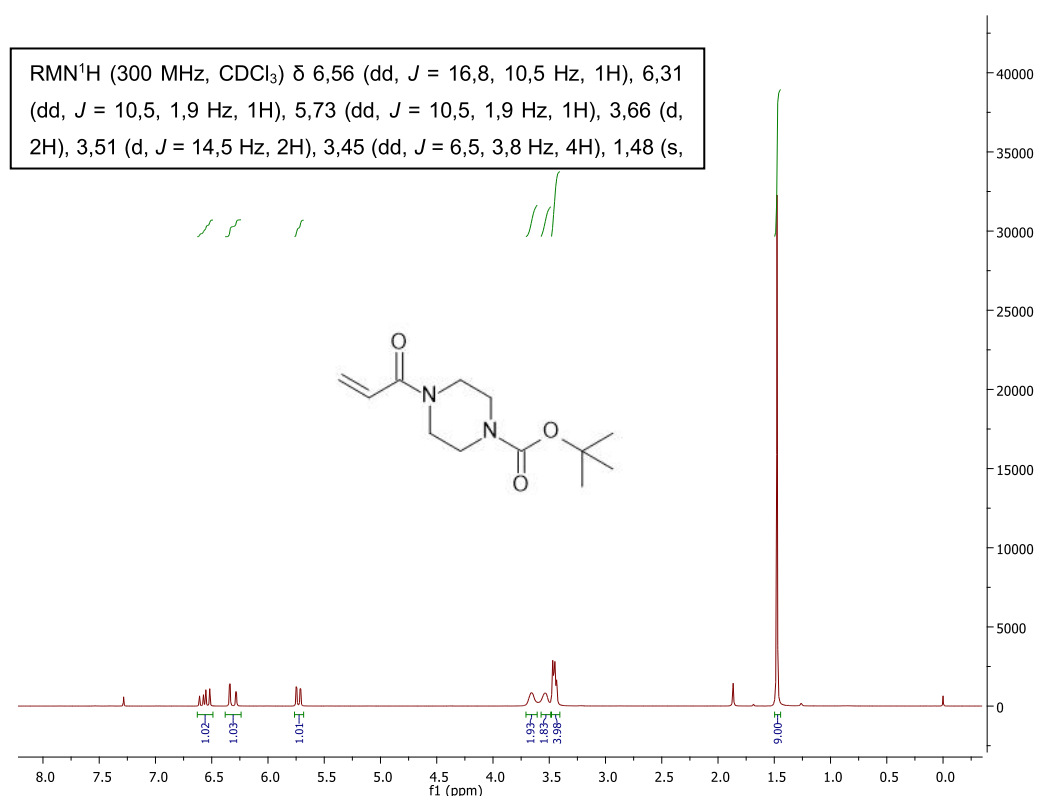
Figura 39 - Mecanismo de reação de possível eliminação bimolecular (E2) na alquilação do fenil-fenol com as amidas correspondentes.



Fonte: Autoria própria.

Após a reação entre o 4-fenil-fenol e a amida correspondente, foram encontradas duas manchas na placa de CCD. Os dois compostos foram isolados por coluna cromatográfica aberta e caracterizados por RMN ^1H . A primeira mancha encontrada correspondia ao espectro de hidrogênio do fenil-fenol utilizado, e a segunda mancha, que acreditava-se ser o produto de interesse, apresentou o espectro correspondente ao produto de eliminação indesejado da reação, demonstrando que a eliminação possa ter ocorrido de acordo com o espectro de hidrogênio obtido (**Figura 40**).

Figura 40 - Espectro de possível produto de eliminação do composto **1c**.

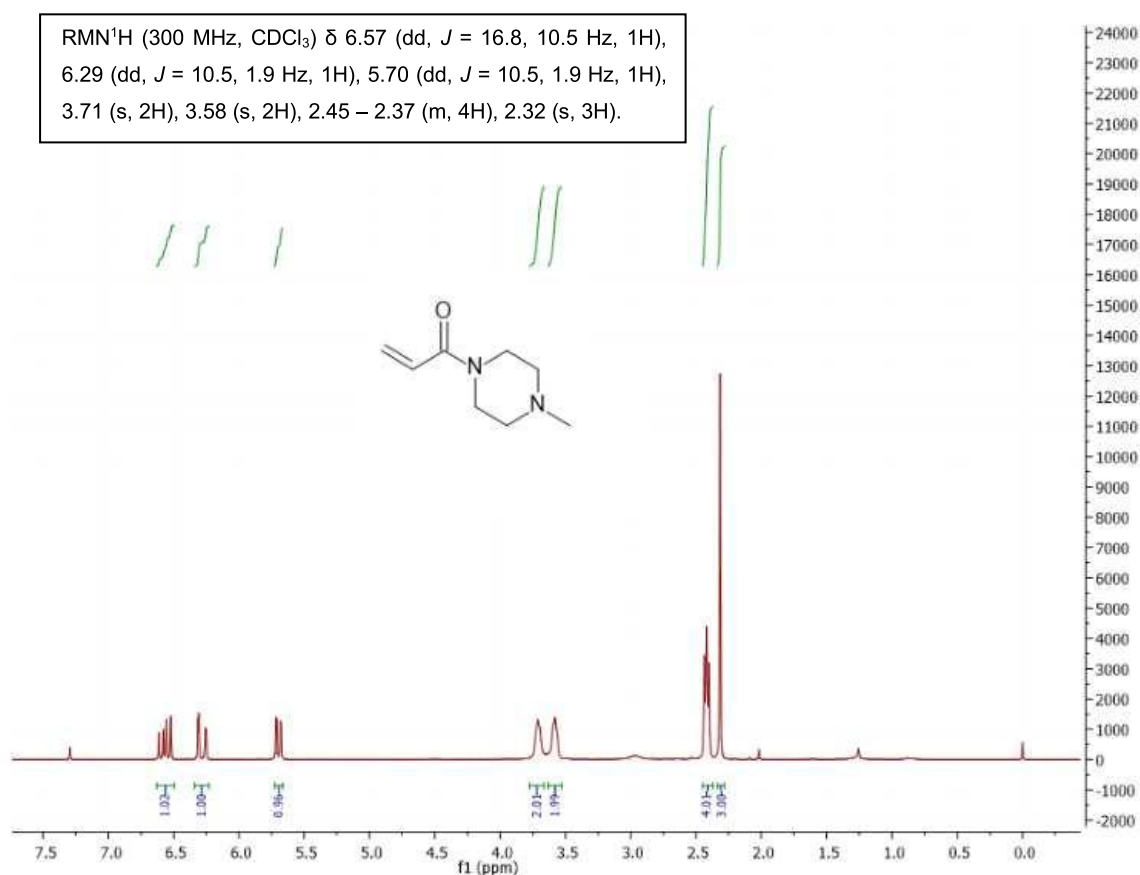


Fonte: Autoria própria.

Através dos deslocamentos químicos de ^1H do composto em questão, observou-se que não havia sinais na região entre 7,0 e 7,5 ppm que corresponderiam a 4-fenil-fenoxila. Além disso, os sinais dos hidrogênios menos blindados estavam na região entre 5,5-7,0 ppm, ou seja, correspondentes aos hidrogênios alkenos ($\text{C}=\text{C}$) do produto de eliminação. Já os sinais de hidrogênios da Boc piperazina encontraram-se a região de deslocamento esperada.

De maneira semelhante, a reação de eliminação também ocorreu entre o 4-fenil-fenol e a N-(1-metil-piperazinil)-3-cloropropanamida. Observam-se novamente os sinais dos hidrogênios do alceno formado, mas com os sinais correspondentes ao substituinte metilpiperazina (**Figura 41**).

Figura 41 - Espectro de possível produto de eliminação do composto **1a**.



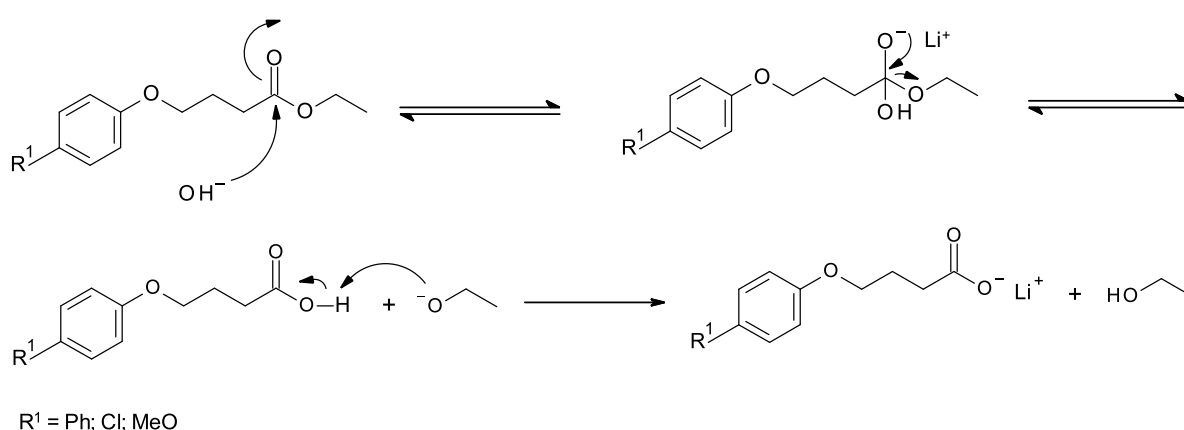
Fonte: Autoria própria.

5.1.2. Hidrólise

Os ésteres foram hidrolizados para gerar novamente os ácidos necessários para a formação das amidas. Para esta reação, utilizou-se o princípio da hidrólise

básica ou alcalina, caracterizada por ser uma reação hidrolítica em que um álcali (ou base) é utilizado geralmente no lugar da água, fazendo com que ao final se obtenha como produto um sal alcalino e um ácido (Hijazin et al., 2010). Desta forma, utilizou-se o hidróxido de lítio (LiOH) como base, pois o cátion lítio acelera a hidrólise do éster em conjunto com o íon hidroxila em meio aquoso e no solvente tetrahidrofurano (THF) (**Figura 42**) (Hayashi et al., 2021).

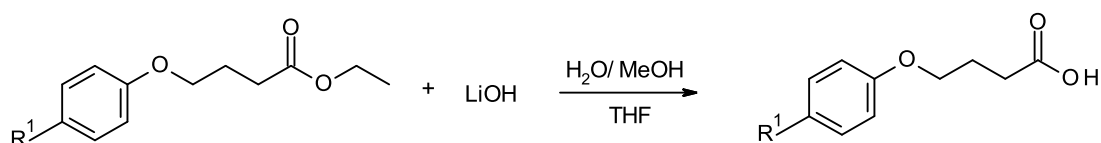
Figura 42 - Mecanismo de hidrólise dos ésteres em meio básico.



Fonte: Autoria própria.

As reações de hidrólise apresentaram ótimos rendimentos mostrados na **Tabela 2**, comparáveis aos da literatura que geralmente são acima de 80% em condições reacionais semelhantes (Dayal et al., 1990; Hayashi et al., 2021).

Tabela 2 - Rendimentos referentes à hidrólise dos ésteres em meio básico.



Composto	R1	Rendimento
5a	Cl	74%
5b	MeO	96%
5c	Ph	81%

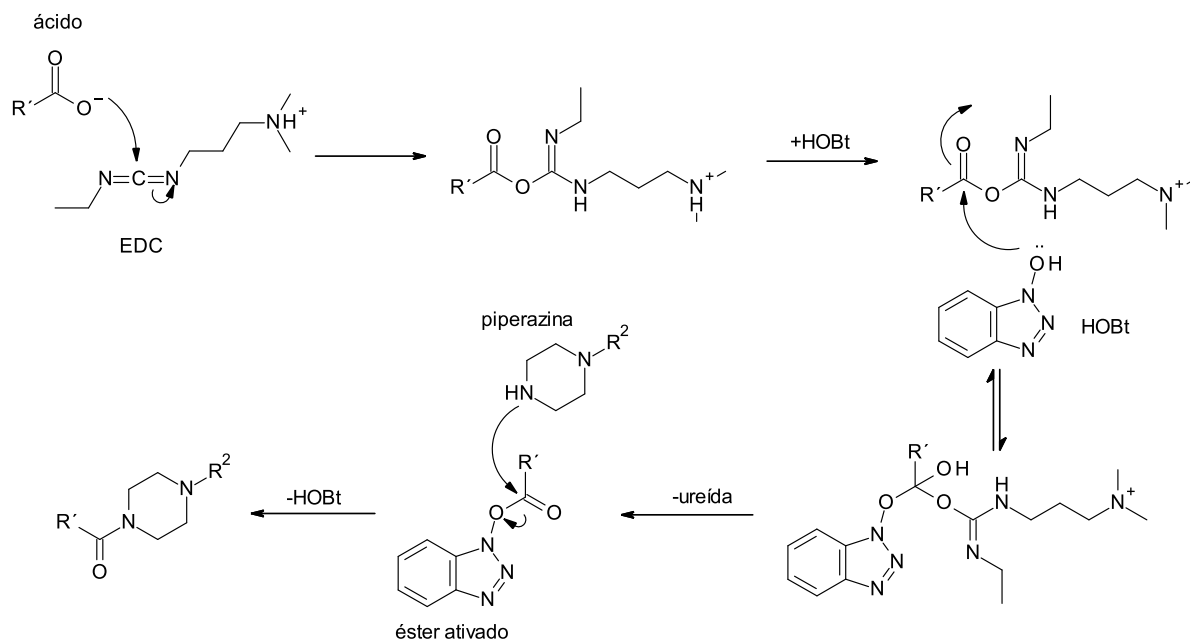
Fonte: Autoria própria.

5.1.3. Síntese das amidas com o uso de agentes de acoplamento

As amidas são caracterizadas por serem funções orgânicas derivadas das reações entre aminas e ácidos carboxílicos, geradas após etapas sequenciais de adição-eliminação (Leggio et al., 2017). Neste trabalho, os produtos finais foram preparados através de reações de amidação utilizando os intermediários ácidos carboxílicos com as piperazinas N-substituídas.

Para a formação da amida de interesse, utilizou-se a 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) concomitante com o hidroxibenzotriazol (HOBt). O EDC possui a função de acoplar aminas a ácidos carboxílicos através do ataque da carbonila do ácido à carbodiimida do EDC, havendo uma subsequente transferência de prótons. A amina então ataca o carbono carbonílico do ácido que gera um intermediário tetraédrico antes de colapsar e descarregar o subproduto da uréia (Ghosh; Shanabi, 2021). Enquanto outras carbodiimidas como a N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) OU N,N'-diisopropilcarbodiimida (DIC) também são empregados com esse propósito, o EDC possui a vantagem de gerar uma ureia facilmente solúvel em água como subproduto, que pode ser facilmente removida da reação (Khorana, 1953). Já o HOBt é um catalisador que otimiza esse acoplamento, gerando ésteres ativos capazes de promover a acilação eficiente dos grupos amino (**Figura 43**) (Wang et al., 1981; Bodanszky, 1988). Esta associação é frequentemente reportada na literatura, por conduzir a bons rendimentos, em uma faixa de aproximadamente 90-94% (Sharma et al., 2017; Chan; Cox, 2007).

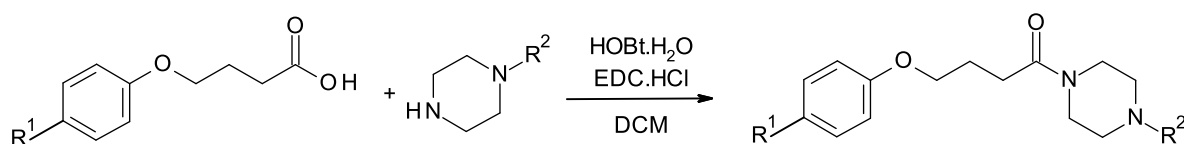
Figura 43 - Mecanismo geral da síntese das amidas com o uso do EDC como agente de acoplamento e o HOBt como catalisador.



R' = Composto **2a**; **2b**; **2c**; **9a**; **9b**; **9c** R² = Me; Et; nPr; Bn; Boc

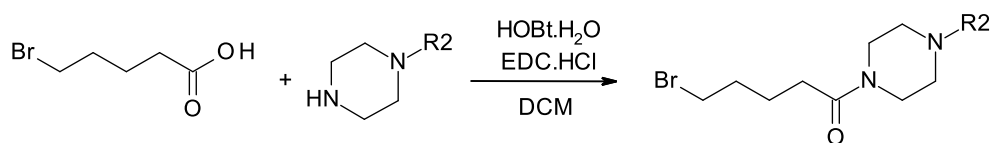
Fonte: Autoria própria.

Apesar disso, as reações de amidação realizadas com os fenoxialquil geraram baixos rendimentos como pode ser observado na **Tabela 3**. Entretanto, quando realizadas com os haloalquil ácidos, maiores rendimentos foram obtidos apesar das dificuldades de purificação (**Tabela 4**) ácidos e das piperazinas N-substituídas utilizados (Ghosh; Shanabi, 2021).

Tabela 3 - Rendimentos referentes à amidação do fenoxialquil ácidos.

Composto	R ¹	R ²	Rendimento
6a	Ph	Me	18%
6b	Ph	Bn	9%
6c	Ph	Et	20%
7a	Cl	MeI	47%
7b	Cl	Bn	9%
7c	Cl	Et	31%
7d	Cl	Boc	51%
7e	Cl	<i>n</i> Pr	18%
8a	MeO	Me	25%
8b	MeO	Bn	20%
8c	MeO	Et	20%

Fonte: Autoria própria.

Tabela 4 - Rendimentos referentes à amidação do haloalquil ácidos.

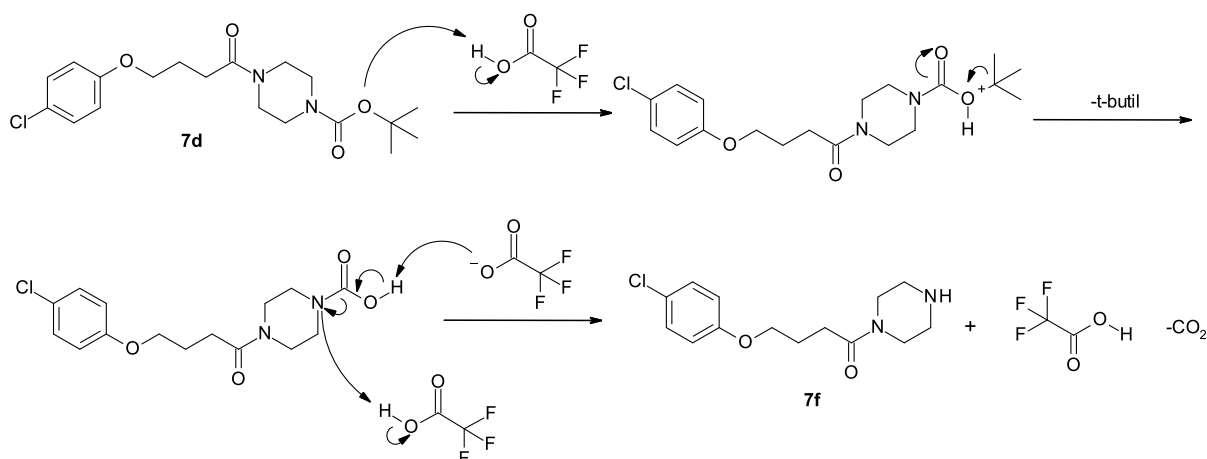
Composto	R ²	Rendimento
2a	Bn	54%
2b	Boc	85%

Fonte: Autoria própria.

5.1.4. Síntese de desproteção da Boc

O composto **7d** possui o grupo protetor terc-butiloxicarbonila (Boc), que foi utilizado para impedir que o ácido reagisse com a outra amina presente na molécula da piperazina durante a reação de amidação, impedindo a formação de duas amidas. Desta forma, a proteção de aminas com o grupo Boc é uma reação amplamente utilizada em síntese orgânica por causa de sua inércia à hidrogenólise catalítica e resistência à hidrólise na maioria das condições básicas e reagentes nucleofílicos. A desproteção da Boc é geralmente alcançada através de condições ácidas suaves, como a utilização do ácido trifluoroacético (TFA) (**Figura 44**), que gera rendimentos acima de 60% (Agami; Couty, 2002; Cherai et al., 2012; López-Soria et al., 2015; George et al., 2020).

Figura 44 - Mecanismo de desproteção da Boc-piperazina.



Fonte: Autoria própria.

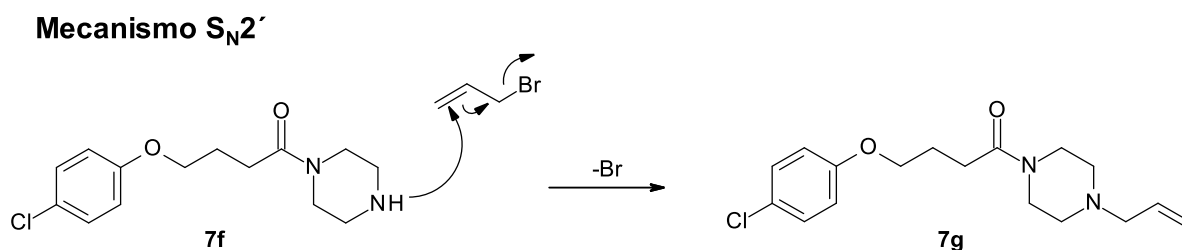
O grupo protetor Boc do composto **7d** foi então desprotegido gerando o composto **7f**, que apresentou um rendimento dentro do esperado de 63%. Na sequência, este composto foi empregado em uma reação de substituição nucleofílica com o brometo de alila, levando à formação dos composto **7g**.

5.1.5. Síntese de alilação das piperazinas

O composto obtido a partir da desproteção da Boc-piperazina foi empregado em uma reação de substituição nucleofílica com o brometo de alila. Este tipo de reação poderá ocorrer tanto por S_N1 quanto por S_N2, entretanto o fato de que o substrato é primário e altamente reativo favorece que a reação ocorra por

mecanismo S_N2 . Considerando que a ligação π do brometo de alila pode ser deslocalizada, um mecanismo mais específico (chamado S_N2') pode ocorrer (**Figura 45**). Esse tipo de mecanismo ocorre pelo ataque do nucleófilo no carbono 3 em relação ao grupo de saída, já que a deslocalização dos elétrons favorece o ataque nucleofílico ao carbono sp^2 (Smith; March, 2007; Fernandes et al., 2011).

Figura 45 - Representação dos mecanismos envolvidos em reações de substituição nucleofílica a partir de brometo de alila.



Fonte: Autoria própria.

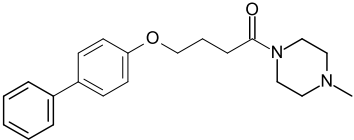
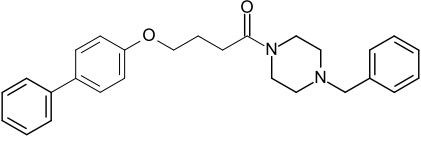
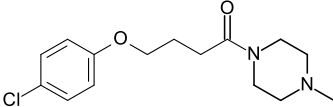
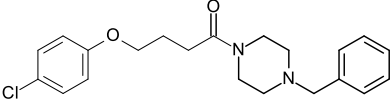
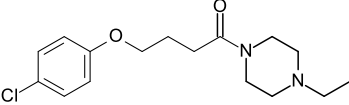
Dados da literatura reportam altos rendimentos para as reações de alilação, dentro de uma ampla faixa de 45% a 76%, devido à alta reatividade dos haletos de alila. Esses rendimentos são influenciados por características básicas das piperazinas e variações no substrato como o grupo abandonador (Lopes, 2023). Entretanto, o rendimento do composto 7g foi de 26%, considerado como ruim.

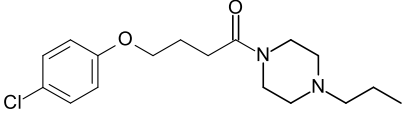
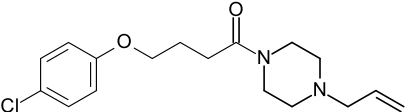
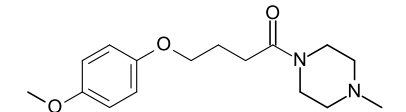
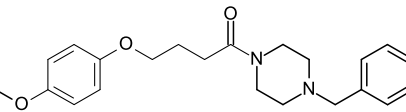
Vale ressaltar que buscas na literatura permitiram concluir que os compostos finais sintetizados para este trabalho são inéditos até o presente relato.

5.2. Avaliação da atividade farmacológica

Nove compostos foram testados e avaliados com relação à capacidade de inibição nas enzimas AChE e BuChE. Inicialmente, uma triagem na concentração de 100 μ M foi realizada, e para os compostos que produziram inibições relevantes, os valores de IC_{50} foram determinados usando regressão não-linear de curvas concentração-resposta. Apenas 2 compostos (**6a** e **6b**) foram avaliados a 1 μ M no H_3R quanto à porcentagem de deslocamento do ligante radiomarcado. Os dados estão representados na **Tabela 5**.

Tabela 5 - Atividade inibitória dos compostos sintetizados medida após incubação com AChE ou BuChE. Os dados são expressos em porcentagem de atividade inibitória (I%) $\pm$ erro padrão da média (EPM).

Composto	Estrutura	eeAChE		eqBuChE		BuChE/ AChE	<i>h</i> H ₃ R
		I% 100 μ M ($\pm$ EPM)	IC ₅₀ (μ M, $\pm$ EPM)	I% 100 μ M ($\pm$ EPM)	IC ₅₀ (μ M, $\pm$ EPM)	Índice de seletividade	I% 1 μ M
6a		59,89 $\pm$ 3,17	n.d.	65,35 $\pm$ 0,39	57,75 $\pm$ 11,13	1,09	57,8
6b		41,71 $\pm$ 0,69	n.d.	51,42 $\pm$ 0,95	64,45 $\pm$ 19,03	1,23	49,8
7a		42,63 $\pm$ 1,76	n.d.	16,16 $\pm$ 2,17	n.d.	-	-
7b		48,31 $\pm$ 4,71	n.d.	58,51 $\pm$ 1,51	72,83 $\pm$ 10,31	1,21	-
7c		51,77 $\pm$ 2,34	n.d.	21,57 $\pm$ 0,79	n.d.	-	-

Composto	Estrutura	eeAChE		eqBuChE		BuChE/ AChE	H ₃ R
		I% 100 μ M ($\pm$ EPM)	IC ₅₀ (μ M, $\pm$ EPM)	I% 100 μ M ($\pm$ EPM)	IC ₅₀ (μ M, $\pm$ EPM)	Índice de seletividade	I% 1 μ M
7e		46,74 $\pm$ 1,01	n.d.	32,20 $\pm$ 1,68	n.d.	-	-
7g		40,60 $\pm$ 2,87	n.d.	19,15 $\pm$ 1,43	n.d.	-	-
8a		45,82 $\pm$ 4,66	n.d.	32,60 $\pm$ 0,78	n.d.	-	-
8b		53,97 $\pm$ 1,21	n.d.	35,64 $\pm$ 0,68	n.d.	-	-
donepezila		88,60 $\pm$ 0,39 ^a	-	-	-	-	-
neostigmina		-	-	47,98 $\pm$ 3,59 ^b	0,98 $\pm$ 0,05 ^b	-	-

a Porcentagem de inibição a 200nM; b Porcentagem de inibição a 20 μ M; n.d.: IC₅₀ > 200 μ M.

Fonte: Autoria própria.

Através da análise dos dados obtidos na triagem inicial, verifica-se que apenas uma pequena parte dos compostos foi capaz de inibir significativamente a atividade da BuChE, ou seja, uma inibição superior a 50% com relação ao controle. Por outro lado, nenhum composto da série inibiu consideravelmente a atividade da AChE.

Os compostos **6a**, **6b** e **7b** mostraram as melhores inibições na BuChE da série (*eq*BuChE $IC_{50} = 57,75 \pm 11,13 \mu M$, $IC_{50} = 64,45 \pm 19,03 \mu M$ e $IC_{50} = 72,83 \pm 10,31 \mu M$) respectivamente, em que tanto o composto **6a** quanto o composto **6b** apresentaram valores de IC_{50} semelhantes. Nota-se que ambos os compostos possuem um anel aromático na posição *para* da região lipofílica arbitrária, sugerindo que haja interações específicas dessa região com a BuChE. Ademais, de acordo com Ha et al. (2020), os resíduos de aminoácidos alifáticos menos volumosos da BuChE permitem que moléculas maiores como os compostos **6a** e **6b** interajam com esta enzima.

Além disso, ao comparar o composto **6b** com o **7b**, ambos possuem o fragmento benzilpiperazina em sua estrutura, fragmento este semelhante à benzilpiperidina da donepezila. Ishola et al. (2021), mostram em seu trabalho um estudo de ancoragem molecular da donepezila na BuChE, verificando que o fragmento benzilpiperidina realiza interações π - π *stacking* com o resíduo Trp82 da BuChE. Já a amina terciária protonada pode realizar interações iônicas com o resíduo Tyr332 (Pourshojaei et al., 2019). Desta forma, pelo fato do fragmento benzilpiperazina ser semelhante ao fragmento benzilpiperidina e devido o segundo nitrogênio dos compostos **6b** e **7b** ser neutro por estar em ressonância com uma carbonila vizinha, sugere-se que o fragmento benzilpiperazina destes compostos possa estar realizando interações semelhantes.

Entretanto, cabe ressaltar que a afinidade da donepezila pela BuChE é muito menor que pela AChE. Aparentemente, o grupo benzilpiperidina interage com a região CAS da AChE através de interações π - π *stacking* com o resíduo Trp84 e π -*cation* com os resíduos Asp72 e Phe330 (Kryger et al., 1999; Hassan et al., 2020; Sağlık et al., 2020). Devido à semelhança da benzilpiperazina, acreditava-se que compostos contendo este fragmento como o **6b**, **7b** e **8b** apresentariam maior atividade na AChE, entretanto, tal comportamento não foi observado.

Adicionalmente, esperava-se que o composto benzilpiperazínico **8b** mantivesse também boa afinidade pela BuChE, o que de fato não ocorreu. Lopes et al. (2022) apresentaram duas moléculas semelhantes (**Figura 24**) em que o composto com o substituinte *tert*-butil ligado ao grupo lipofílico arbitrário apresentou melhor atividade nas colinesterases do que o grupo contendo o grupamento MeO, que é menos lipofílico que o *tert*-butil. Tal fato reforça a ideia de que o substituinte MeO, que é mais hidrofílico que os outros substituintes da série nessa região, pode ter contribuído para a redução da atividade na BuChE.

Trabalhos anteriores do grupo também mostraram que a troca de um grupo metila por uma alila na região lipofílica ligada ao grupo básico, que poderia realizar interações com a região CAS das colinesterases, favoreceu notavelmente a inibição nas colinesterases (Corrêa et al., 2021). Hipotetizou-se que uma interação π - π *stacking* do grupo alila com o resíduo Trp84 poderia ocorrer de maneira semelhante ao grupo benzila. Desta forma, explorou-se neste trabalho a adição de um grupo alila na região lipofílica ligada ao nitrogênio protonável dando origem ao composto **7g**. Entretanto, não houve um aumento na atividade inibitória do composto **7g** nas colinesterases como esperado, gerando porcentagens de inibição inferiores ao do composto propílico **7e**.

Por fim, todos os compostos geraram porcentagens de inibição semelhantes na AChE, que variaram de 40 a 60% a 100 μ M. Ademais, pelo fato de todos os compostos apresentarem porcentagens de inibição baixa e parecidas entre si, não foi possível estabelecer a relação estrutura-atividade (REA) entre eles. Entretanto, os dados sugerem que substituintes hidrofóbicos na região aromática e o fragmento benzilpiperazina na região básica podem aumentar a afinidade pela BuChE.

Já com relação aos ensaios de afinidade por H₃R, apenas os compostos **6a** e **6b** foram avaliados de maneira preliminar na concentração de 1 μ M. O composto **6a** apresentou uma porcentagem de inibição de 57,8% enquanto para o composto **6b** foi de 49,8%. Assim, fica evidente que a afinidade dos compostos testados foi muito baixa. Em suma, os compostos precisam ser aprimorados futuramente para atingir melhores resultados como inibidores das ChEs e ligantes dos H₃R.

5.3. Avaliação *in silico* das propriedades físico-químicas

Apesar da afinidade pelo alvo de interesse e a sua eficácia serem cruciais para o desenvolvimento de um fármaco, existem diversos compostos que falham na etapa de desenvolvimento devido a problemas farmacocinéticos e de biodisponibilidade. Portanto, monitorar os perfis farmacocinéticos dos compostos a serem desenvolvidos é importante para aumentar a qualidade clínica dos candidatos obtidos (Reichel; Lienau, 2016).

Desta forma, a aplicação de abordagens computacionais durante o planejamento e desenvolvimento de um fármaco oferece um potencial considerável com relação à diminuição de estudos experimentais requeridos para a escolha do composto e, portanto, aumentando o índice de sucesso. Neste contexto, técnicas *in silico* vem sendo muito utilizadas atualmente para avaliar as propriedades relacionadas à absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) dos compostos nos estágios iniciais. Essa avaliação antecipada é de extrema importância para a seleção dos melhores compostos a serem desenvolvidos, assim como para descartar compostos que provavelmente terão pequenas chances de sucesso (Boobis et al., 2002).

A administração oral de um fármaco é a sua forma mais convencional de administração devido à simplicidade, baixo custo e conveniência. Porém, para o desenvolvimento de um fármaco de uso oral, é necessário que este tenha uma solubilidade adequada em água (Savjani et al., 2012). A solubilidade em água de um composto é geralmente expressa como logaritmo da concentração molar ($\log S$) e reflete a solubilidade do composto a 25°C (Flores-Holguín et al., 2021).

Delaney (2004) descreveu um método computacional para calcular o $\log S$ que foi denominado ESOL, proveniente das palavras em inglês Estimated SOLubility. Este método utilizou compostos da literatura para derivar o modelo em que foram descritos 8 parâmetros calculados diretamente a partir de sua conectividade em 2D. Este conjunto inicial de parâmetros inclui clogP (calculado usando o Daylight CLOGP versão 4.72), peso molecular, ligações rotáveis, proporção aromática, proporção não-carbono, quantidade de doadores de ligação de hidrogênio, quantidade de aceptores de ligação de hidrogênio e área de superfície polar. Ao final, utilizando regressão linear múltipla, foi possível observar que os compostos

que levaram em consideração esses 8 parâmetros apresentaram solubilidade semelhante à experimental.

Entretanto, a solubilidade não é o único fator importante a ser levado em consideração, pois um fármaco para ser absorvido deverá apresentar também uma lipofilicidade desejável. Compostos que possuem lipofilicidade excessiva geralmente tem baixa solubilidade e absorção inadequada, alta toxicidade e alta depuração metabólica. Por outro lado, baixa lipofilicidade origina compostos que apresentam propriedades de ADME inadequadas (Arnott; Planey et al., 2022).

A lipofilicidade de um composto pode ser determinada experimentalmente através do logaritmo do coeficiente de partição n-octanol/água ($\log P$). Assim, a lipofilicidade reflete o resultado de todas as forças intermoleculares envolvendo um soluto e as duas fases entre os quais ele particiona, sendo que quanto maior o $\log P$, maior é a lipofilicidade do composto (Testa et al., 2000).

Para que o $\log P$ de um composto seja calculado computacionalmente, são levados principalmente em consideração os átomos presentes na molécula. Desta forma, Wildman & Crippen (1999) desenvolveram um método computacional preciso de cálculo de $\log P$ que fornece resultados semelhantes ao $\log P$ calculado experimentalmente. Neste método, o $\log P$ de moléculas pequenas pode ser calculado como a soma das contribuições de cada um dos átomos. Enquanto essas propriedades não são estritamente aditivas, interações intramoleculares podem ser explicadas classificando os átomos em diferentes tipos com base em átomos anexados e vizinhos, dando origem ao descritor $w\log P$.

Tanto o $\log S$ ESOL quanto o $w\log P$ podem ser calculados na plataforma SwissADME (Daina et al., 2017). Através do SwissADME, é possível prever propriedades farmacocinéticas como a área de superfície polar molecular (PSA), que se correlaciona com o transporte molecular passivo através de membranas biológicas. O cálculo da PSA é bastante demorado devido à necessidade de gerar uma geometria molecular 3D razoável. Assim, baseado na soma das contribuições superficiais tabuladas de fragmentos polares das moléculas, o PSA topológico (TPSA) fornece resultados praticamente idênticos aos do PSA 3D, mas de forma muito mais rápida (Ertl et al., 2020).

Visando prever as propriedades farmacocinéticas, os 11 compostos finais obtidos nesse trabalho tiveram suas propriedades físico-químicas calculadas no SwissADME. A donepezila, um fármaco bastante estudado e que já possui as suas características farmacocinéticas bem estabelecidas na literatura, foi utilizada como referência (**Tabela 6**) (Shigeta; Homma, 2006).

Tabela 6 - Estimativa das propriedades farmacocinéticas de solubilidade logS (ESOL), de lipofilicidade (wlogP) e de transporte (TPSA) dos compostos finais.

Composto	WLogP	Log S (ESOL)	Solubilidade (mg/mL)	TPSA (Å)
6a	2,53	-3,80	$5,40 \times 10^{-2}$	32,78
6b	3,94	-5,15	$2,93 \times 10^{-3}$	32,78
6c	2,92	-4,04	$3,23 \times 10^{-2}$	32,78
7a	1,51	-2,84	$4,27 \times 10^{-1}$	32,78
7b	2,93	-4,24	$2,15 \times 10^{-2}$	32,78
7c	1,90	-3,09	$2,55 \times 10^{-1}$	32,78
7e	2,29	-3,42	$1,22 \times 10^{-1}$	32,78
7g	2,07	-3,25	$1,80 \times 10^{-1}$	32,78
8a	0,87	-2,32	1,39	42,01
8b	2,29	-3,72	$6,95 \times 10^{-2}$	42,01
8c	1,26	-2,57	$8,32 \times 10^{-1}$	42,01
donepezila	3,83	-4,81	$5,87 \times 10^{-3}$	38,77

Fonte: SwissADME, 2023.

Observa-se de acordo com a **Tabela 6** que todos os compostos finais apresentaram valores de lipofilicidade adequados, já que a maioria dos compostos

apresentou valores de WLogP entre 1 e 3, variação esta que parece ser ideal para alcançar características físico-químicas adequadas (Arnott et al., 2012; Benet et al., 2016). Ademais, todos apresentaram também solubilidade desejável, exibindo valores que variaram de -5,15 a -2,32, dentro do valor apropriado de solubilidade esperado para fármacos (-6 a 0) (Wang; Hou, 2011). Por fim, de acordo com Clark (2011), compostos que apresentam a TPSA abaixo de 105 Å² apresentam boa permeabilidade aparente, que é o caso dos compostos apresentados na Tabela 6. Vale salientar também que todos os compostos apresentaram essas propriedades semelhantes à da donepezila, o que reforçaria um possível sucesso desses compostos em testes farmacocinéticos *in vitro* e *in vivo*.

A absorção gastrointestinal é um fator importante para o sucesso de um fármaco (Azman et al., 2022). Entretanto, antes disso, o fármaco deve passar por processo de dissolução no trato gastrointestinal para que possa ser absorvido (Matos, 2017). Essas etapas são diretamente relacionadas à solubilidade e à lipofilicidade. Apesar desses descritores serem essenciais para a previsão de sucesso do fármaco com relação às propriedades ADME, outros fatores também devem ser levados em consideração. Por exemplo, a capacidade dos compostos de permearem a barreira hematoencefálica (BHE) é importante para a ação no SNC.

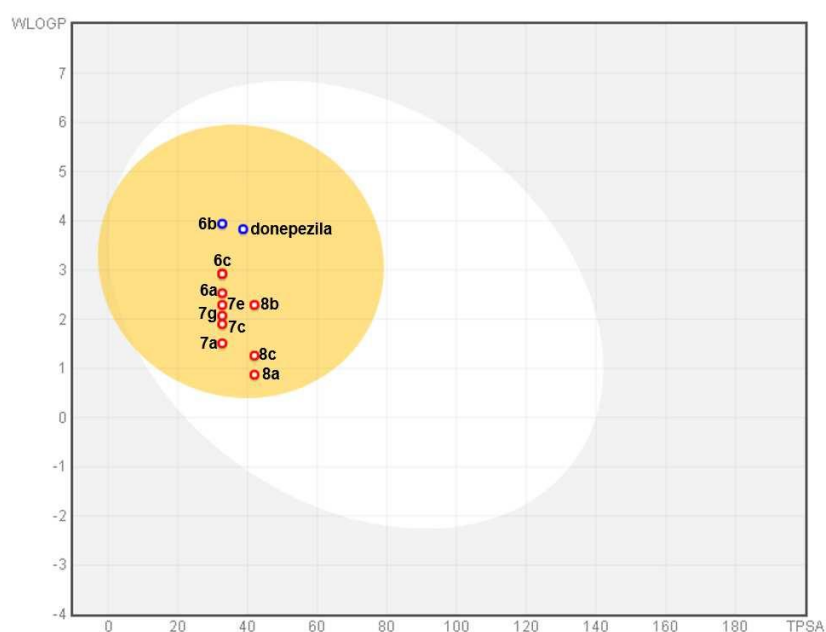
A BHE impede a permeação livre de compostos para o SNC, sendo considerada uma barreira protetora. Assim, é necessário considerar a permeação pela BHE durante o planejamento de novas moléculas. Segundo Pardridge (2012), moléculas pequenas podem atravessar a BHE através de difusão passiva desde que possuam peso molecular inferior a 400 Da e forme menos de 8 ligações de hidrogênio. Além disso, é importante observar se esse candidato é substrato da glicoproteína P (Pgp), que é um transportador que pode limitar funcionalmente a captação celular de fármacos da circulação sanguínea para o cérebro (Lin; Yamazaki, 2003).

Uma forma de prever o potencial de um composto ter boa biodisponibilidade oral, permear a BHE e seu potencial de interação com a Pgp é através do uso de ferramentas *in silico* (Shaker et al., 2021). Em vista disso, o modelo “BOILED-Egg” foi escolhido para avaliar se os compostos planejados possuem as características adequadas para atingir o SNC (Daina; Zoete, 2016).

O modelo “BOILED-Egg” foi obtido através de 260 moléculas descritas na literatura, das quais 156 permeavam a BHE e 104 são não-permeantes. Com essa série, foram determinadas elipses de classificação utilizando os descritores WlogP e TPSA para prever a permeação na BHE. Neste modelo é mostrado que moléculas moderadamente polares (TPSA < 79 Å) e relativamente lipofílicas (WlogP de 0,4 a 6,0) possuem alta probabilidade de permearem o SNC. Entretanto, este modelo gerou 22 falsos positivos que podem ser atribuídos às limitações dos descritores WlogP e TPSA (Daina; Zoete, 2016).

Ademais, o SwissADME permite a estimativa de se um composto químico é ou não substrato da Pgp. O software utiliza o algoritmo de máquina de vetores de suporte (SVM) em um grande conjunto de dados de substratos e não substratos da Pgp já estabelecidos na literatura (Daina et al., 2017). Desta maneira, esse método binário reporta um “sim” ou “não” se o composto sob investigação tiver maior probabilidade de ser ou não substrato da Pgp.

Figura 46 - Estimativa da permeação dos compostos finais pela BHE, pelo intestino e potencial de interação com a Pgp pelo modelo “BOILED-Egg”. Os compostos representados na área amarela são estimados com boa permeação intestinal e pela BHE, enquanto a área branca indica apenas potencial de adequada biodisponibilidade oral. Os pontos azuis indicam compostos com potencial de serem substratos da Pgp.



Fonte: SwissADME, 2023.

Observa-se de acordo com a **Figura 46**, que todos os compostos finais se encontram dentro da região amarela, indicando que todos os compostos da série têm potencial para permear pelo intestino e a barreira hematoencefálica. Ademais, quase todos os compostos não parecem ser substratos da Pgp, e teoricamente não devem sofrer efluxo do SNC, o que limitaria seu acesso ao cérebro.

À exceção disso, nota-se que tanto a donepezila quanto o composto **6b** foram previstos como substratos da Pgp. Aparentemente, não existe consenso se a donepezila é ou não substrato da Pgp, já que diversos estudos da literatura mostram resultados contraditórios (McEneny-King et al., 2015). Alguns estudos *in vitro* demonstram que a razão de efluxo da donepezila pela Pgp é baixa para considerá-la como substrato. Ishiwata et al. (2007), demonstraram que a permeabilidade da donepezila é limitada pela Pgp em células endoteliais. Nesse mesmo estudo, foi verificado que a proporção de donepezila radiomarcada no cérebro aumentou bastante na presença de um inibidor da Pgp. Outro estudo também mostrou evidências conclusivas de que a disponibilidade cerebral da donepezila é dependente da Pgp em camundongos (Spieler et al., 2020).

Portanto, infere-se que os compostos finais sintetizados possuam propriedades adequadas para boa biodisponibilidade oral e permeação pela BHE, e provavelmente não apresentarão grandes problemas relacionados à farmacocinética.

6. CONCLUSÕES

Como conclusão, foram sintetizados 11 compostos finais inéditos na literatura através de métodos orgânicos clássicos, devidamente caracterizados quanto a sua estrutura e pureza pelas técnicas espectroscópicas adequadas.

Nove compostos foram testados nas colinesterases, sendo **6a**, **6b** e **7b** os mais promissores na BuChE (IC_{50} 57,75, 64,45 e 72,83 μ M, respectivamente), sugerindo-se que substituintes lipofílicos na região aromática arbitrária e o fragmento benzilpiperazina na região básica parecem aumentar a afinidade pela BuCHE.

Já na AChE, nenhum dos nove compostos testados apresentaram atividade relevante nessa enzima. Além disso, pelo fato de todos os compostos apresentarem porcentagens de inibição baixa e semelhantes entre si, não foi possível estabelecer a REA entre eles.

Apenas os compostos **6a** e **6b** foram testados em H₃R, apresentando baixa afinidade e resultados semelhantes entre si, não sendo possível estabelecer uma REA.

Em resumo, embora os compostos não tenham apresentado grande potencial como ligantes dos alvos em questão, este trabalho apresenta dados valiosos para auxiliar no planejamento futuro de novos compostos com atividade aprimorada, e quiçá potenciais agentes úteis no tratamento de diversas doenças do SNC que envolvem déficit cognitivo.

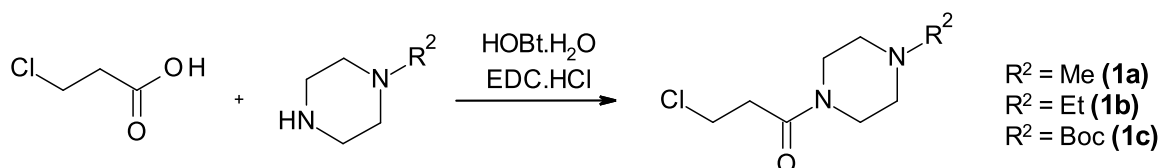
7. EXPERIMENTAL

7.1. Síntese das aril-alquilamidopiperazinas

7.1.1. Síntese das acilpiperazinas

7.1.1.1. Ácido 3-cloro-propanóico

Esquema 10 - Procedimento sintético para a obtenção das alquilamidopiperazinas com espaçante de 3 carbonos.



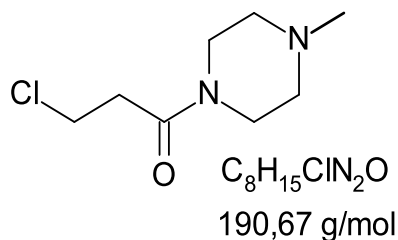
Fonte: Autoria própria.

Em um balão de 25mL, foram adicionados 2,0 mmol do ácido 3-cloro-propanóico, 2,0 mmol do EDC.HCl e 2,0 mmol do HOBT.H₂O. Após a dissolução de todos os componentes da mistura, adicionou-se 3,0 mmol ou 4,0 mmol da piperazina substituída. A mistura foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Ao final, a mistura foi lavada 2x com 10mL de solução de bicarbonato de sódio saturada e 1x com água destilada. A fase orgânica foi separada, seca com Na₂SO₄ anidro e evaporada (**Tabela 7**).

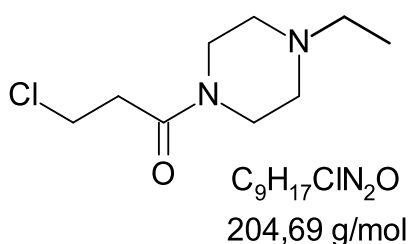
Tabela 7- Rendimento das alquilamidopiperazinas com espaçante de 3 carbonos.

Composto	R ²	Piperazina N-substituída (mmol)	Rendimento
1a	Me	3,0	19%
1b	Et	3,0	29%
1c	Boc	4,0	50%

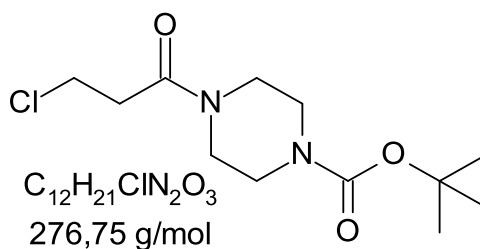
Fonte: Autoria própria.



3-cloro-1-(4-metilpiperazin-1-il)propan-1-ona (1a): $R_f = 0,5$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,83 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,69 – 3,63 (m, 2H), 3,53 – 3,46 (m, 2H), 2,81 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,38 – 2,44 (m, 4H), 2,32 (s, 3H). RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 168,07, 55,01, 54,60, 45,98, 45,32, 41,56, 39,91, 36,03.



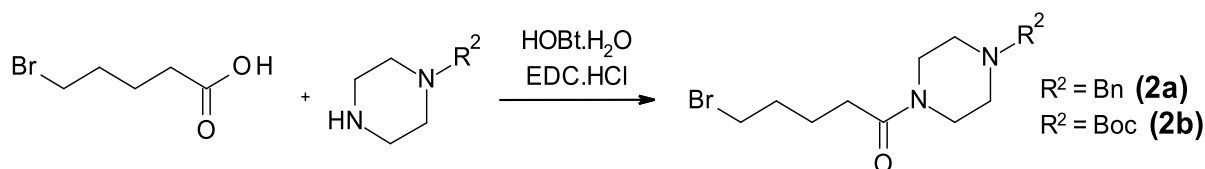
3-cloro-1-(4-metilpiperazin-1-il)propan-1-ona (1b): $R_f = 0,4$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,83 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 3,70 – 3,62 (m, 3H), 3,54 – 3,46 (m, 3H), 2,81 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 2,49 – 2,40 (m, 10H), 1,10 (t, $J = 7,2$ Hz, 5H). RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 168,03, 52,84, 52,26, 45,40, 41,61, 39,93, 36,01, 11,86.



***t*-butil 4-(3-cloropropanoil)piperazina-1-carboxilato (1c):** $R_f = 0,4$ (DCM:MeOH 9:1), sólido amarelado. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,84 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H), 3,67 – 3,56 (m, 1H), 3,44 (d, $J = 11,8$ Hz, 3H), 2,82 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H), 1,47 (s, 5H). RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 168,30, 154,49, 80,39, 45,29, 41,49, 39,82, 36,02, 28,35.

7.1.1.2. Ácido 5-bromo-pentanóico

Esquema 11 - Procedimento sintético para a obtenção das alquilamidopiperazinas com espaçante de 5 carbonos.



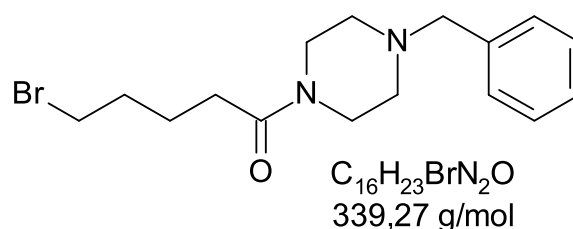
Fonte: Autoria própria.

Em um balão de 50 mL, foram adicionados o ácido 5-bromo-pentanóico, 2,0 mmol do EDC.HCl e HOBT.H₂O em quantidade equivalente à do ácido em DCM. Após a dissolução de todos os componentes da mistura, adicionou-se 2,0 mmol da piperazina substituída. A mistura foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Ao final, a mistura foi lavada 2 x com 10mL de solução de bicarbonato de sódio saturada e 1x com água destilada. A fase orgânica foi separada, seca com Na₂SO₄ anidro e evaporada (**Tabela 8**).

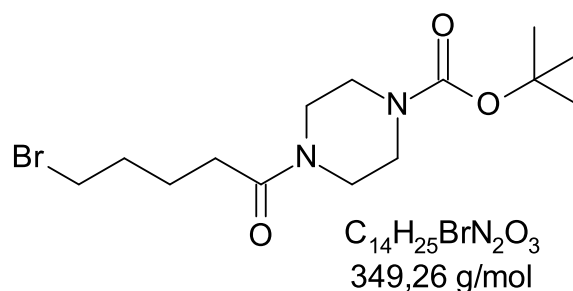
Tabela 8 - Rendimento das alquilamidopiperazinas com espaçante de 5 carbonos.

Composto	R ²	Ácido (mmol)	Rendimento
2a	Bn	2,0	37%
2b	Boc	2,2	85%

Fonte: Autoria própria.



1-(4-benzilpiperazin-1-il)-5-bromo-pentan-1-ona (2a): R_f = 0,64 (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,34 – 7,28 (m, 5H), 3,65 – 3,59 (t, 2H), 3,52 (s, 2H), 3,48 – 3,39 (m, 4H), 2,43 (d, J = 8,3, 3,9 Hz, 4H), 2,33 (t, J = 9,5, 5,1 Hz, 2H), 1,95 – 1,85 (m, 2H), 1,84 – 1,74 (m, 2H). RMN¹³C (75 MHz, CDCl₃)δ 170,76, 137,37, 129,15, 128,35, 127,33, 62,80, 53,08, 52,72, 45,49, 41,52, 33,47, 32,19, 23,75.

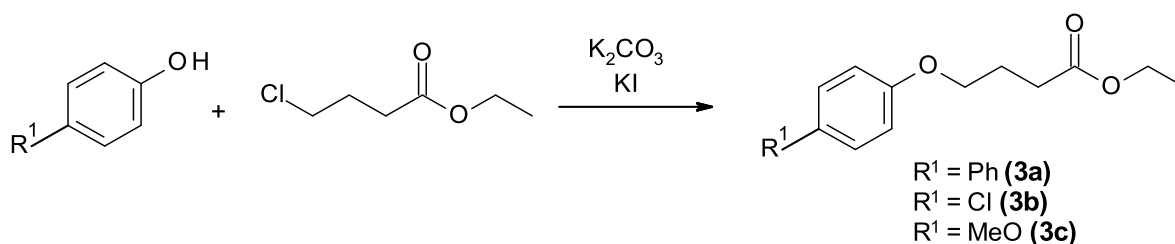


t-Butil 4-(5-bromopentanoil)piperazina-1-carboxilato (2b): $R_f = 0,51$ (hex:AcOEt 3:1), sólido branco. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 3,52 (t, 2H), 3,42 – 3,30 (m, 8H), 2,30 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,91 – 1,69 (m, 4H), 1,40 (s, 9H).

7.1.2. Alquilação dos fenóis

7.1.2.1. Ésteres como reagentes

Esquema 12- Procedimento sintético para a alquilação dos fenóis.

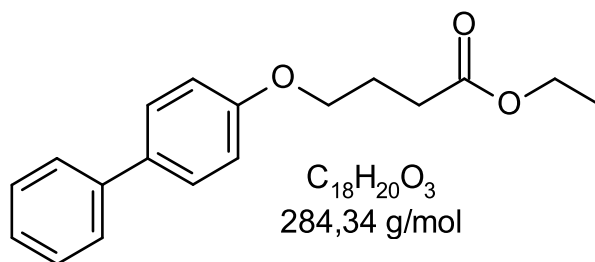


Em um balão de 50 mL, foram adicionados 3,0 mmol do fenol correspondente em cerca de 5 mL de acetonitrila. Em seguida, adicionou-se 6,0 mmol de carbonato de potássio, 6,0 mmol de iodeto de potássio, 3,6 mmol do 4-cloro-butanoato de etila e 10 mL do solvente. A mistura foi mantida em agitação sob aquecimento (80°C) por 24 horas, e a seguir, o solvente foi evaporado e o resíduo foi redissolvido em 10 mL de acetato de etila. A mistura foi lavada por 3 vezes com 10 mL de solução de NaOH 10%. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e evaporada (Rendimento: **Tabela 9**).

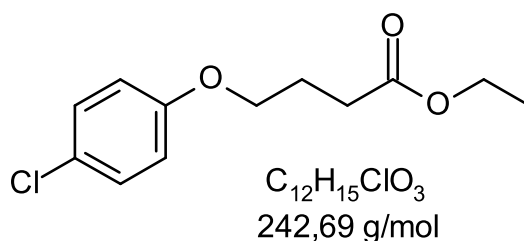
Tabela 9 - Rendimento dos ésteres sintetizados.

Composto	Fenol (g)	R ¹	Rendimento
3a	0,511	Ph	30%
3b	0,387	Cl	65%
3c	0,373	MeO	50%

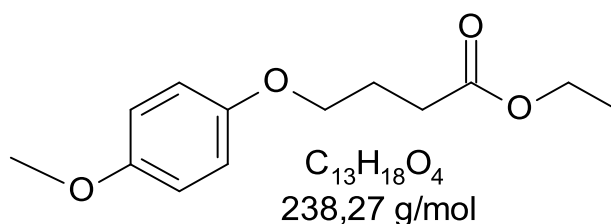
Fonte: Autoria própria.



4-(4-fenilfenoxi)butanoato de etila (3a): RF = 0,33 (hex:AcOEt9:1), sólido branco. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,61 – 7,22 (m, 7H), 6,96 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,23 – 3,98 (m, 4H), 2,53 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,19-2,07 (m, 2H), 1,26 (t, J = 7,1 Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 172,6, 60,4, 44,0, 31,2, 27,6, 14,1. GC/EMBR $[M]^+$ 284 (20%), 239 (20%), 170 (35%), 115 (100%), 87 (70%), 43 (15%).



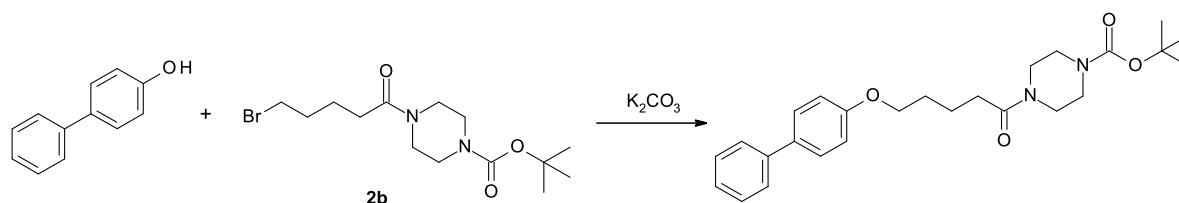
4-(4-clorofenoxi)butanoato de etila (3b): Rf = 0,5 (hex:AcOEt3:1), líquido amarelado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,21 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 4,14 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,60 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 2,50 (td, J = 7,2, 2,7 Hz, 2H), 2,09 (p, J = 6,8 Hz, 2H), 1,26 (td, J = 7,1, 2,4 Hz, 3H). GC/EMBR $[M]^+$ 197 (20%), 128 (30%), 115 (75%), 87 (100%), 69 (20%), 43 (25%).



4-(4-metoxifenoxi)butanoato de etila (3c): Rf = 0,56 (hex:AcOEt3:1), óleo avermelhado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,81 (s, 4H), 4,13 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,94 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,50 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,15 – 2,00 (m, 2H), 1,25 (t, J = 7,1 Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 173,2, 153,8, 152,9, 115,4, 114,6, 67,3, 60,3, 55,6, 30,8, 24,7, 14,2. GC/EMBR $[M]^+$ 238 (20%), 193 (20%), 175 (10%), 124 (30%), 115 (95%), 109 (35%), 87 (100%), 69 (10%), 43 (20%).

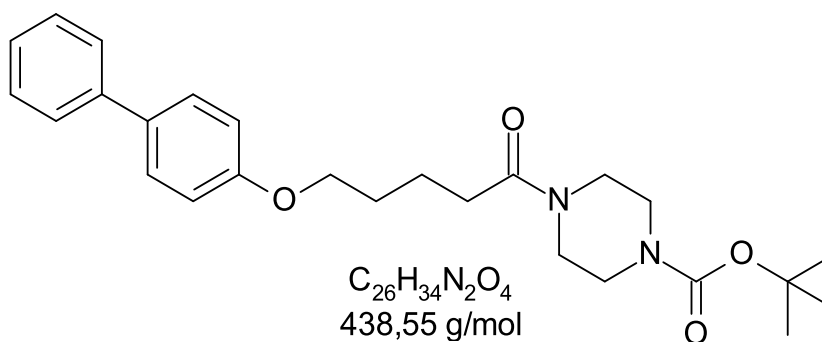
Amidas como reagentes

Esquema 13 - Procedimento sintético para a alquilação dos fenóis com espaçante de 5 carbonos.



Fonte: Autoria própria.

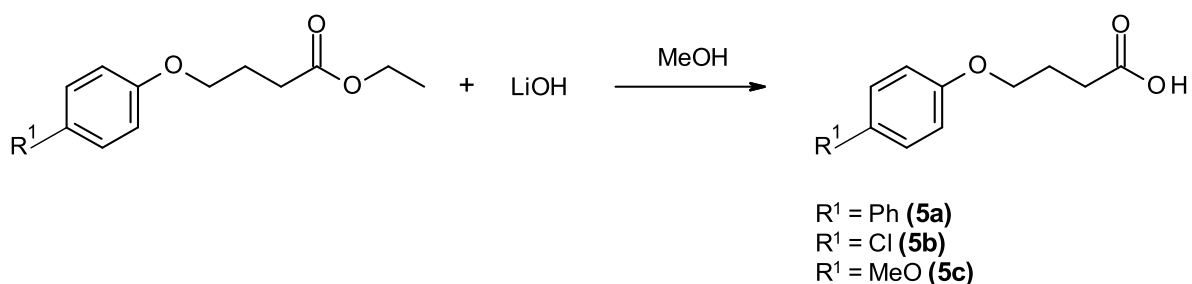
Em um balão de 25mL, foram adicionados 1,5 mmol do 4-fenil-fenol em cerca de 5 mL de acetonitrila. Em seguida, adicionou-se 3,0 mmol de carbonato de potássio 1,5 mmol da amida e 5mL do solvente. A mistura foi mantida em agitação sob aquecimento (80°C) por 24 horas, e a seguir, o solvente foi evaporado e o resíduo foi redissolvido em 10 mL de acetato de etila. A mistura foi lavada por 3 vezes com 10 mL de H_2O . A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e evaporada. O composto foi purificado em coluna cromatográfica aberta utilizando-se sílica como fase estacionária e uma fase móvel por gradiente de hex:AcOEt3:1 e posteriormente, hex:AcOEt1:1. O rendimento obtido foi de 6%.



***t*-Butil 4-[5-(4-fenilfenoxi)pentanoil]piperazina-1-carboxilato (4a):** RF = 0,16 (hex:AcOEt3:1), sólido branco. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,53 (dd, J = 14,1, 5,1 Hz, 4H), 7,40 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,28 (dd, J = 11,9, 4,5 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,02 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,62 – 3,55 (m, 2H), 3,46 – 3,36 (m, 6H), 2,42 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 1,90 – 1,82 (m, 4H), 1,47 (s, 9H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 171,38, 158,50, 154,59, 140,80, 133,70, 128,73, 128,15, 126,69 (d, J = 4,1 Hz), 114,74, 80,32, 67,55, 45,36, 41,37, 32,90, 28,88, 28,39, 21,91.

7.1.3. Síntese dos ácidos

Esquema 14 - Procedimento sintético de hidrólise dos ésteres obtidos.



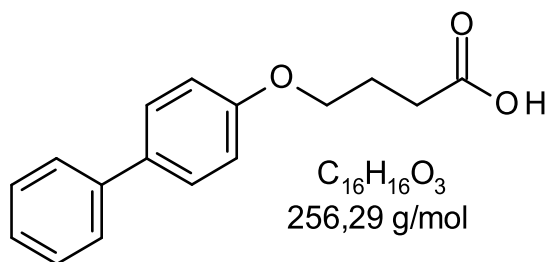
Fonte: Autoria própria.

Em um balão de 25 mL foram adicionados 0,8 mmol do éster **3a-c** correspondente, 5 mL de tetraidrofurano e 2 mL de metanol. A mistura foi mantida em agitação à temperatura ambiente até a completa dissolução dos componentes, e a seguir 3,2 mmol de hidróxido de lítio monoidratado foi adicionado. A reação foi mantida em agitação, refluxo, *overnight*, e ao final o solvente foi evaporado e o resíduo foi redissolvido em 15 mL de solução de cloreto de sódio saturado. A mistura foi lavada com diclorometano, e a fase aquosa foi acidificada com HCl 1M até pH ~2 e extraída com 3 x 15 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e evaporada (Rendimento: **Tabela 10**).

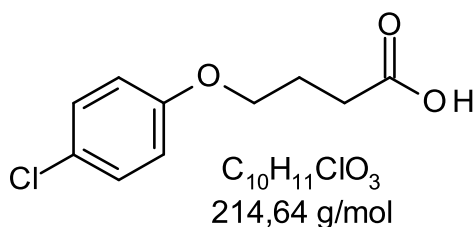
Tabela 10 - Rendimento dos ácidos sintetizados.

Produto	Reagente (g)	R ¹	Rendimento
5a	0,227	Ph	81%
5b	0,194	Cl	74%
5c	0,190	MeO	96%

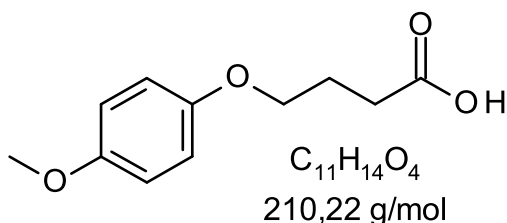
Fonte: Autoria própria.



Ácido 4-(4-fenilfenoxi)butanóico (5a): RF = 0,14 (hex:AcOEt3:1), sólido branco. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,66 – 7,19 (m, 4H), 6,96 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 4,07 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 2,62 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 2,48 – 1,80 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 128,7, 128,1, 126,7, 114,7, 77,4, 77,0, 76,6, 66,6, 30,3, 24,4.



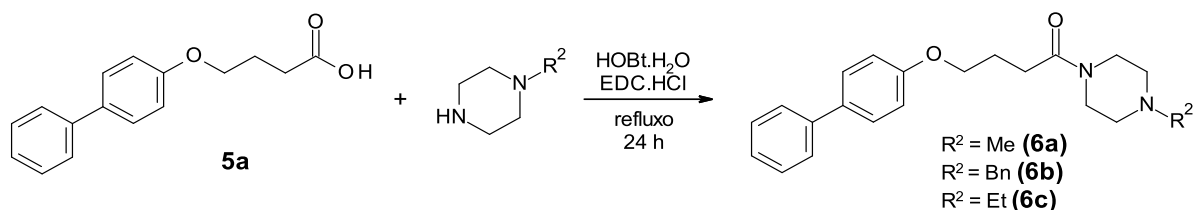
Ácido 4-(4-clorofenoxi)butanóico (5b): RF = 0,2 (hex:AcOEt3:1), sólido branco. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,28 – 7,16 (m, 2H), 6,86 – 6,74 (m, 2H), 3,99 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,58 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,17 – 2,05 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 178,1, 157,3, 129,3, 125,7, 115,7, 66,8, 30,2, 24,2.



Ácido 4-(4-metoxifenoxi)butanóico (5c): RF = 0,1 (hex:AcOEt3:1), sólido avermelhado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,82 (s, 4H), 3,97 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,76 (s, 3H), 2,58 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,15 – 2,01 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 179,0, 153,9, 152,9, 115,4, 114,6, 67,1, 55,7, 30,5, 24,4. CG/EMBR $[M]^+$ 210 (20%), 124 (100%), 109 (60%).

7.1.4. Acilação das piperazinas com o ácido 4-(4-fenilfenóxi) butanóico

Esquema 15 - Procedimento sintético para obtenção dos compostos 6a-c.



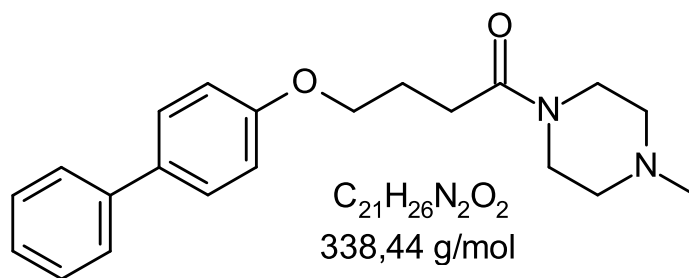
Fonte: Autoria própria.

Em um balão de 25 mL foram dissolvidos 0,5 mmol (0,13 g) do ácido 4-(4-fenilfenoxi) butanóico **5a** em cerca de 1 mL de DCM. A seguir, foram adicionados 0,5 mmol (0,09 g) de EDC.HCl, 0,5 mmol (0,08 g) de HOBT.H₂O, 0,6 mmol da piperazina correspondente e 3 mL de DCM. A reação foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Ao final, a mistura foi lavada com 10 mL de solução de bicarbonato de sódio, com 2 x 10 mL de solução saturada de NaCl e com 10 mL de água destilada. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e evaporada. Os compostos foram purificados em coluna cromatográfica aberta utilizando-se sílica como fase estacionária e uma fase móvel isocrática de DCM:MeOH 20:1 (Rendimento: **Tabela 11**).

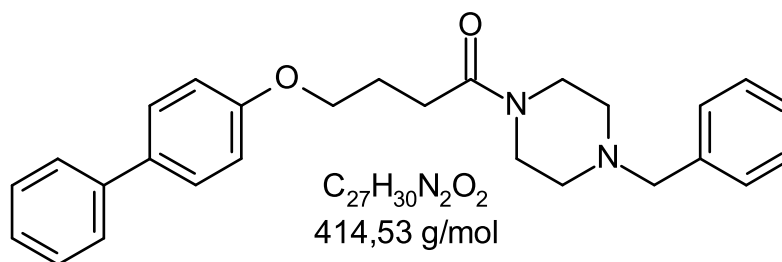
Tabela 11 - Rendimento das aril-alquipiperazinas sintetizadas.

Composto	R ² -piperazina (g)	R ²	Rendimento
6a	0,060	Metil	18%
6b	0,111	Benzil	9%
6c	0,068	Etil	20%

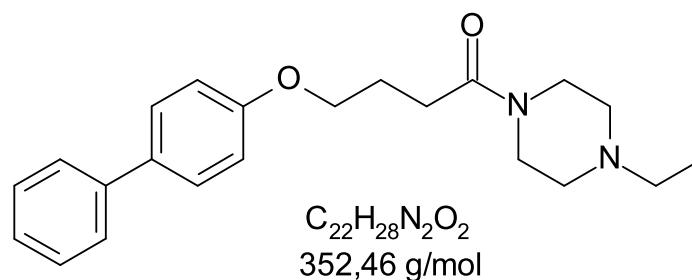
Fonte: Autoria própria.



1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi)butan-1-ona (6a): RF= 0,4 (DCM:MeOH 10:1), sólido branco. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,59 – 7,22 (m, 7H), 6,96 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,07 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,73 – 3,55 (m, 2H), 3,55 – 3,41 (m, 2H), 2,54 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,42 – 2,26 (m, 7H), 2,16 (s, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170,7, 158,4, 140,7, 133,7, 128,7, 128,1, 126,7, 114,7, 67,1, 55,1, 54,7, 46,0, 45,3, 41,5, 29,3, 24,9. EMAR $[M+H]^+ m/z$ calculado para $C_{21}H_{27}N_2O_2$: 339.2067, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 339,2054 (erro: 3,83 ppm).



N-[2-[benzil(metil)amino] etil]-4-(4-fenilfenoxi)butanamida (6b): Rf = 0,66 (DCM:MeOH 9:1), sólido branco. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,58 – 7,48 (m, 2H), 7,41 (dd, J = 10,3, 4,8 Hz, 1H), 7,32 – 7,23 (m, 3H), 6,99 – 6,91 (m, 1H), 4,07 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 3,67 – 3,61 (m, 1H), 3,51 – 3,46 (m, 2H), 2,53 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 2,41 (dd, J = 10,6, 6,2 Hz, 2H), 2,19 – 2,10 (m, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170,7, 158,4, 140,8, 137,5, 133,7, 129,1, 128,7, 128,3, 128,1, 127,3, 126,7, 126,6, 114,7, 67,0, 62,9, 53,1, 52,8, 45,4, 41,6, 29,7, 29,3, 24,9. EMAR $[M+H]^+ m/z$ calculado para $C_{27}H_{31}N_2O_2$: 415,2380, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 415,2348 (erro: 7,7ppm).

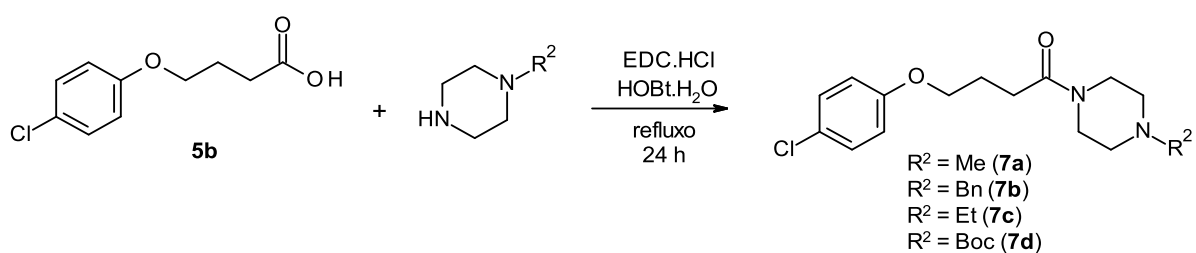


1-(4-etilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi)butan-1-ona (6c): $R_f = 0,46$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,53 (t, $J = 8,5$ Hz, 4H), 7,41 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,28 (dd, $J = 12,3, 4,9$ Hz, 1H), 6,96 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,07 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H), 3,70 – 3,60 (m, 2H), 3,54 – 3,46 (m, 2H), 2,54 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,41 (dd, $J = 5,9, 3,8$ Hz, 6H), 2,14 (dd, $J = 13,1, 6,7$ Hz, 2H), 1,08 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 170,75, 158,45, 140,79, 133,75, 128,74, 128,16, 126,69, 114,76, 67,09, 52,88, 52,31, 45,36, 41,50, 29,37, 24,94, 11,83. EMAR $[M+H]^+ m/z$ calculado para $C_{22}H_{29}N_2O_2$: 353,2223, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 353,2222 (erro: 0,28ppm).

7.1.5. Acilação das piperazinas com o ácido 4-(4-clorofenoxi) butanóico

7.1.5.1. Preparação dos produtos **7a-d**.

Esquema 16 - Procedimento sintético para obtenção dos compostos **7a-d**.



Fonte: Autoria própria.

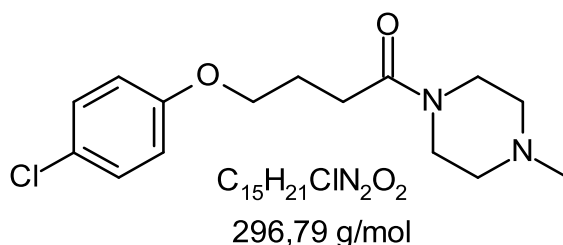
Em um balão de 25 mL foram dissolvidos 0,5 ou 1,0 mmol (0,107 ou 0,214 g) do ácido 4-(4-clorofenoxi) butanóico **3b** em cerca de 5 mL de DCM. A seguir, foram adicionados 1 equivalente (0,09 ou 0,19 g) de EDC.HCl e de HOBT.H₂O (0,08 ou 0,15 g), 1,2 equivalente da piperazina correspondente e 3 mL de DCM. A reação foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Ao final, a mistura foi lavada com 10 mL de solução de bicarbonato de sódio, com 2 x 10 mL de solução saturada de NaCl e com 10 mL de água destilada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada. Os compostos foram purificados em coluna

cromatográfica aberta utilizando-se sílica como fase estacionária e uma fase móvel isocrática de DCM:MeOH20:1 (Rendimento: **Tabela 12**).

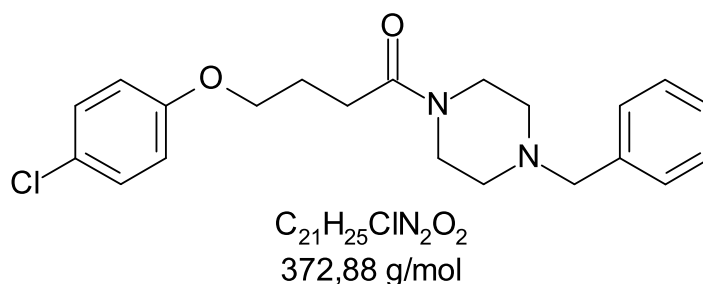
Tabela 12 - Rendimento das aril-alquipiperazinas sintetizadas.

Produto	R ² -piperazina (g)	R ²	Rendimento
7a	0,061 g	Me	47%
7b	0,105 g	Bn	9%
7c	0,057 g	Et	31%
7d	0,189 g	Boc	51%

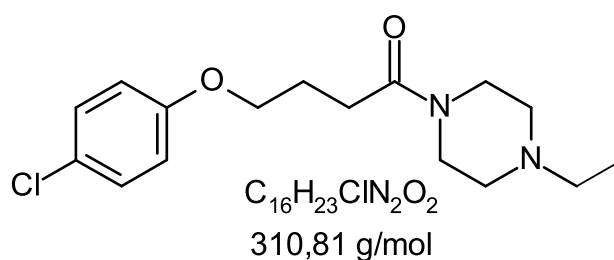
Fonte: Autoria própria.



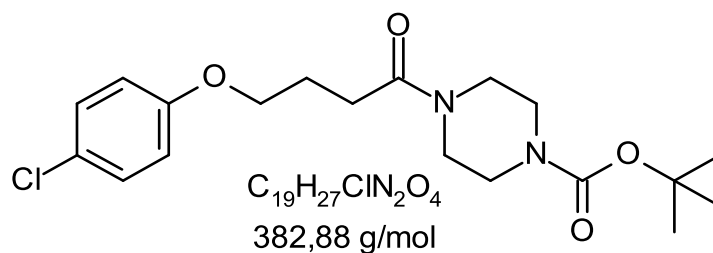
4-(4-clorofenoxi)-1-(4-metilpiperazin-1-il)butan-1-ona (7a): $R_f = 0,33$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,22 (d, 2H), 6,82 (d, 2H), 4,00 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3,68 – 3,61 (m, 2H), 3,53 – 3,47 (m, 2H), 2,51 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2,42 – 2,34 (m, 4H), 2,30 (s, 3H), 2,18 – 2,05 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170,6, 157,4, 129,2, 125,4, 115,7, 67,3, 54,9, 54,6, 45,8, 45,2, 41,4, 29,2, 24,7. EMAR $[M+H]^+m/z$ calculado para $C_{15}H_{21}N_2O_2Cl$: 297,1364, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 297,1354 (erro: 3,36ppm).



4-(4-clorofenoxi)-1-(4-benzilpiperazin-1-il)butan-1-ona (7b): $R_f = 0,46$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,32 – 7,25 (m, 4H), 7,22 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,81 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 3,99 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,63 (t, 2H), 3,51 (s, 2H), 3,47 (t, 2H), 2,50 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,44-2,36 (m, $J = 10,5, 6,7$ Hz, 4H), 2,10 (dd, $J = 13,2, 6,8$ Hz, 2H). δ 170,6, 157,5, 137,5, 129,3, 129,1, 128,3, 127,3, 125,5, 115,7, 67,3, 62,8, 53,0, 52,7, 45,4, 41,6, 29,2, 24,8. EMAR $[M+H]^+m/z$ calculado para $C_{21}H_{26}N_2O_2Cl$: 373,1677, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 373,1656 (erro: 5,6ppm).



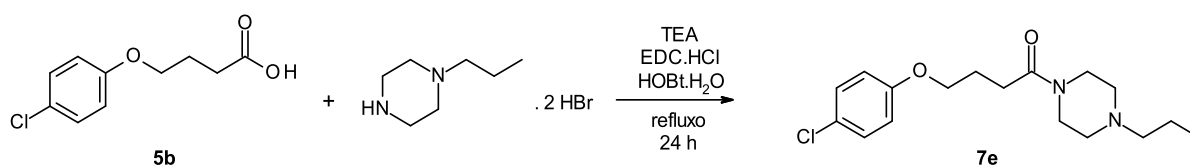
4-(4-clorofenoxi)-1-(4-etilpiperazin-1-il)butan-1-ona (7c): $R_f = 0,23$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN 1H δ 7,13 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 6,74 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 3,92 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,57 (t, 2H), 3,42 (t, 2H), 2,44 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,33 (t, $J = 5,7$ Hz, 6H), 2,09 – 1,99 (m, 2H), 1,01 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 169,57, 156,47, 128,26, 124,42, 114,71, 66,31, 51,87, 51,38, 51,18, 44,35, 40,52, 28,22, 23,77, 10,83. EMAR: $[M+H]^+m/z$ calculado para $C_{17}H_{26}ClN_2O_2$: 311,1520, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 311,1524 (erro: 1,28ppm).



***t*-Butil 4-[4-(4-clorofenoxi)butanoil]piperazina-1-carboxilato (7d):** $R_f = 0,48$
 (DCM:MeOH 9:1 em 1% de NH_4OH), sólido branco.

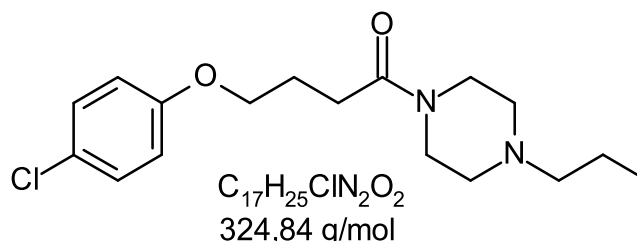
7.1.5.2. Preparação do produto propilpiperazínico **7e**

Esquema 17 - Procedimento sintético para obtenção do composto **7e**.



Fonte: Autoria própria.

Em um balão de 25 mL foram dissolvidos 0,75 mmol (0,160 g) do ácido 4-(4-clorofenoxi)butanóico **5b** em cerca de 5 mL de DCM. A seguir, foram adicionados 2,7 mmol (0,273 g) da trietilamina, 0,75 mmol (0,143 g) de EDC.HCl, 0,75 mmol (0,114 g) de HOBt.H₂O e 0,9 mmol do dibromidrato de propilpiperazina. A reação foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Ao final, a mistura foi lavada com 10 mL de solução de bicarbonato de sódio, 10 mL de solução saturada de NaCl e com 10 mL de água destilada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada. O produto foi purificado (Rendimento 18%).

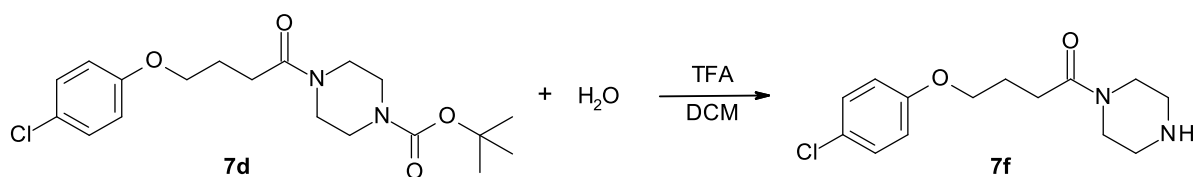


4-(4-clorofenoxi)-1-(4-propilpiperazin-1-il)butan-1-ona (7e): $R_f = 0,43$
 (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,21 (d, 2H), 6,82 (d, 2H), 4,00 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 3,64 (t, 2H), 3,49 (t, 2H), 2,51 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H),

2,40– 2,35 (m, 4H), 2.30 (t, $J = 8.7, 6.7$ Hz, 2H), 2.18 – 2.07 (m, 2H), 1.57 – 1.42 (m, 2H), 0.91 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,5, 157,5, 129,2, 125,4, 115,7, 67,3, 60,4, 53,3, 52,8, 45,4, 41,5, 29,2, 24,8, 19,8, 11,8. EMAR: $[\text{M}+\text{H}]^+m/z$ calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{ClN}_2\text{O}_2$: 325.1677, m/z encontrado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: 325,1666 (erro: 3,38ppm).

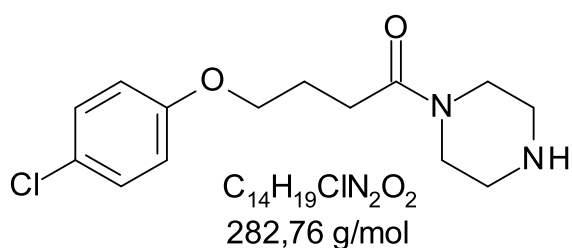
7.1.6. Desproteção do composto **7d**

Esquema 18 - Procedimento sintético para a desproteção da Boc-piperazina.



Fonte: Autoria própria.

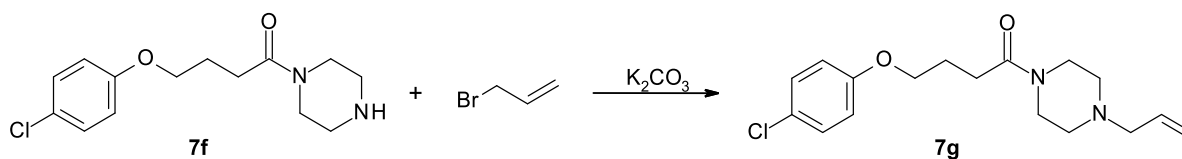
Em um balão de 25 mL, foram adicionados 0,5 mmol de **7d** em 5 mL de DCM, e em seguida, 2,0 mL de TFA e 0,5 mL de água destilada foram adicionados. A reação foi mantida em agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Ao final, os voláteis foram evaporados e o resíduo foi redissolvido em 15 mL de solução de bicarbonato de sódio até pH ~11 e extraída com AcOEt (2 x 15 mL) e DCM (2 x 15 mL). O combinado das fases orgânicas foi seco com Na_2SO_4 anidro e evaporado (Rendimento 63%).



4-(4-clorofenoxi)-1-piperazin-1-il-butan-1-ona (7f): $R_f = 0,06$ (DCM:MeOH 9:1 em 1% de NH_4OH), óleo amarelado. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,14 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,26 (s, 1H), 3,93 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,57 – 3,49 (m, 2H), 3,44 – 3,34 (m, 2H), 2,77 (d, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,44 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,11 – 1,99 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 169,6, 156,4, 128,2, 124,4, 114,6, 66,2, 46,4, 45,4, 45,1, 41,5, 28,2, 23,7.

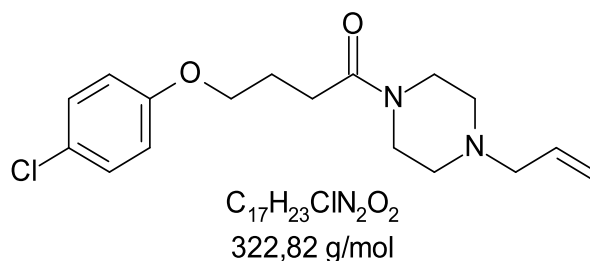
7.1.7. Alilação do composto **7f**

Esquema 19 - Procedimento sintético para a alilação da aril-alquilamidopiperazina.



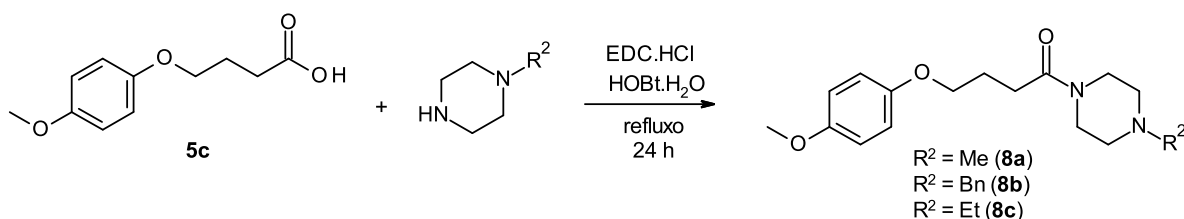
Fonte: Autoria própria.

Em um balão de 25mL, foram adicionados 0,03 mmol do produto **7f** em 10 mL de THF, e em seguida, 0,6 mmol de K_2CO_3 e 0,6 mmol de brometo de alila foram adicionados. A reação foi mantida sob agitação em temperatura ambiente por 24 horas. O solvente foi evaporado e o resíduo foi redissolvido em 10 mL de acetato de etila. A mistura foi lavada por 3 x 10 mL com água destilada. A fase orgânica foi coletada e seca com Na_2SO_4 anidro e evaporada. O composto foi purificado em coluna cromatográfica aberta utilizando-se sílica como fase estacionária e uma fase móvel isocrática de DCM:MeOH20:1 (Rendimento de 26%).



4-(4-clorofenoxi)-1-(4-alilpiperazin-1-il)butan-1-ona (7g): $R_f = 0,6$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,14 (d, 2H); 6,74 (d, 2H); 5,76 (dd, $J = 16.9, 10.2, 6.6$ Hz, 1H); 5,13 (t, $J = 13.1, 5.7$ Hz, 2H); 3,92 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H); 3,57 (t, 2H); 3,42 (t, 2H); 2,92 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H); 2,44 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H); 2,34 (m, 4H); 2,10 – 1,99 (m, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170,6, 157,5, 129,3, 125,5, 115,7, 67,3, 61,5, 53,0, 52,7, 45,4, 41,5, 30,3, 29,2, 24,8. EMAR: $[M+H]^+ m/z$ calculado para $C_{17}H_{24}ClN_2O_2$: 323.1520, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 325,1474 (erro: 14,23ppm).

7.1.8. Acilação das piperazinas com o ácido 4-(4-metoxifenoxi) butanóico

Esquema 20 - Procedimento sintético para a obtenção dos produtos **8a-c**.

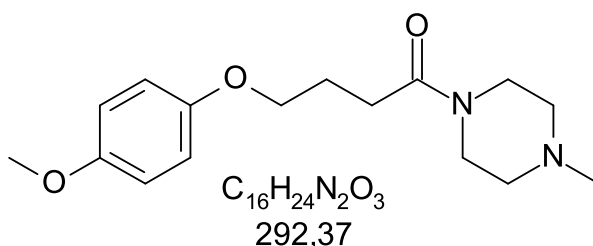
Fonte: Autoria própria.

Em um balão de 25mL foram adicionados 0,5 mmol (0,10 g) ou 0,2 mmol (0,045 g) do ácido 4- (4-metoxifenoxi)butanóico **5c** em 2mL de DCM até a completa dissolução do ácido. Em seguida, adicionou-se 0,5 mmol (0,09 g) ou 0,2 mmol (0,038 g) de EDC.HCl, 0,5 mmol ou 0,2 mmol (0,030 g) de HOBT.H₂O, 0,6 mmol ou 0,3 mmol da piperazina correspondente e 3 mL do solvente adequado. A reação foi mantida em agitação sob temperatura ambiente por 24 horas. A mistura foi lavada 1 vez com 10 mL de solução de bicarbonato de sódio, 1 vez com solução saturada de NaCl e 1 vez com água destilada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada. Os compostos foram purificados em coluna cromatográfica aberta utilizando-se sílica como fase estacionária e uma fase móvel isocrática de DCM:MeOH20:1 (Rendimento: **Tabela 13**).

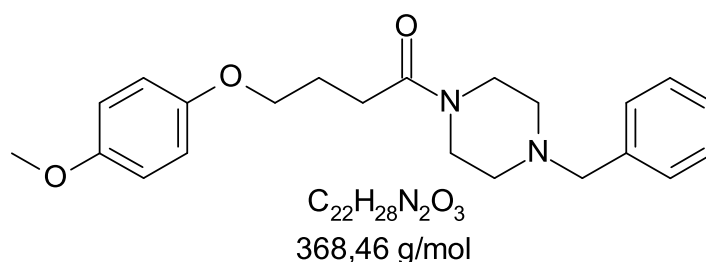
Tabela 13 - Rendimento das aril-alkilpiperazinas sintetizadas.

Composto	R ² -piperazina (g)	R ²	Rendimento
8a	0,064	Metil	25%
8b	0,101	Benzil	20%
8c	0,034	Etil	18%

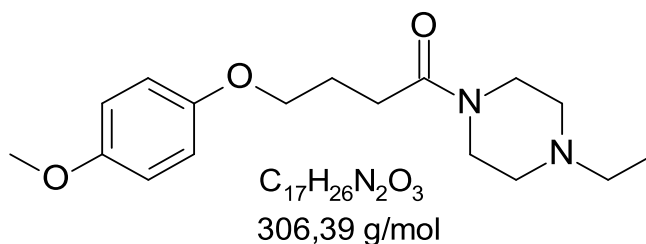
Fonte: Autoria própria.



4-(4-metoxifenoxi)-1-(4-metilpiperazin-1-il)butan-1-ona (8a): $R_f = 0,33$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,75 (s, 4H), 3,90 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,59 – 3,53 (m, 2H), 3,45 – 3,38 (m, 2H), 2,45 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,33 – 2,25 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,08 – 1,97 (m, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 170,95, 153,78, 152,99, 115,34, 114,66, 67,55, 55,75, 55,10, 54,71, 46,02, 45,38, 41,52, 29,47, 25,04. EMAR: $[M+H]^+ m/z$ calculado para $C_{16}H_{25}N_2O_3$: 293,1859, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 293,1849 (erro: 3,41ppm).



4-(4-metoxifenoxi)-1-(4-benzilpiperazin-1-il)butan-1-ona (8b): $R_f = 0,46$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,27 – 7,15 (m, 5H), 6,74 (s, 4H), 3,88 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,67 (s, 3H), 3,55 (t, 2H), 3,44 – 3,35 (m, 4H), 2,42 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,31 (dd, $J = 10,6, 6,2$ Hz, 4H), 2,01 (dd, $J = 13,3, 6,8$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ 169,8, 152,7, 152,0, 136,6, 128,0, 127,2, 126,2, 114,3, 113,6, 66,5, 61,8, 54,7, 52,0, 51,7, 44,4, 40,6, 28,3, 24,0. EMAR: $[M+H]^+ m/z$ calculado para $C_{22}H_{29}N_2O_3$: 369,2172, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 369,2170 (erro: 0,54ppm).



4-(4-metoxifenoxi)-1-(4-etilpiperazin-1-il)butan-1-ona (8c): $R_f = 0,33$ (DCM:MeOH 9:1), óleo amarelado. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 6,76 (s, 4H), 3,91 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,62 – 3,54 (m, 2H), 3,49 – 3,40 (m, 2H), 2,51 – 2,39 (m, 2H), 2,33 (d, $J = 4,9$ Hz, 4H), 2,09 – 2,00 (m, 2H), 1,02 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 170,84, 153,39, 152,69, 115,34, 114,65, 67,57, 55,75, 52,93, 52,14, 45,39, 41,51, 29,43, 25,04, 11,86. EMAR: $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3$: 307,2016, m/z encontrado para $[\text{M}+\text{H}]^+$: 307,2002 (erro: 4,55ppm).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdulrazzaq, Y. M.; Bastaki, S. M. A.; Adeghate, E. Histamine H3 receptor antagonists – Roles in neurological and endocrine diseases and diabetes mellitus, **Biomed. Pharmacother.**, v.150, n.112947, ISSN 0753-3322, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112947>.

Agami, C.; Couty, F. The reactivity of the N-Boc protecting group: an underrated feature. **Tetrahedron.**, v.58, n.14, p.2701–2724, 2002. DOI: [10.1016/s0040-4020\(02\)00131-x](https://doi.org/10.1016/s0040-4020(02)00131-x).

Ahuja, C. S.; Khazaei, M.; Chan, P.; O'Higgins, M.; Fehlings, G. M. Making Neurons from Human Stem Cells. **Front. Young Minds.**, v.6, n.27, p.1-9, 2018. DOI: [10.3389/frym.2018.00027](https://doi.org/10.3389/frym.2018.00027).

Akyuz, E.; Polat, A. K.; Eroglu, E.; Kullu, I.; Angelopoulou, E.; Paudel, Y. N. Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. **Life Sci.**, v.265, n.118826, p.1-108, 2021. DOI: [10.1016/j.lfs.2020.118826](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118826).

Alachkar, A.; Łażewska, D.; Kieć-Kononowicz, K.; Sadek, B. The Histamine H3 Receptor Antagonist E159 Reverses Memory Deficits Induced by Dizocilpine in Passive Avoidance and Novel Object Recognition Paradigm in Rats. **Front Pharmacol.**, v.8, n.709, p.1-12, 2017. DOI: [10.3389/fphar.2017.00709](https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00709).

Alhusaini, M.; Eissa, N.; Saad, A. K.; Beiram, R.; Sadek, B. Revisiting Preclinical Observations of Several Histamine H3 Receptor Antagonists/Inverse Agonists in Cognitive Impairment, Anxiety, Depression, and Sleep-Wake Cycle Disorder. **Front Pharmacol.**, v.13, n.861094, 2022. DOI: [10.3389/fphar.2022.861094](https://doi.org/10.3389/fphar.2022.861094).

Alves–Rodrigues, A.; Timmerman, H.; Willems, E.; Lemstra, S.; Zuiderveld, O. P.; Leurs, R. Pharmacological characterisation of the histamine H₃ receptor in the rat hippocampus. **Brain Res.**, v.788 (1-2), p.179–186, 1998. DOI: [10.1016/s0006-8993\(97\)01537-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01537-0).

Anagnostaras, S. G.; Murphy, G. G.; Hamilton, S. E.; Mitchell, S. L.; Rahnema, N. P.; Nathanson, N. M.; Silva, A. J. Selective cognitive dysfunction in acetylcholine M1 muscarinic receptor mutant mice. **Nat. Neurosci.**, v.6, n.1, p.51–58, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn992>.

Andrade, O. A.; Zafar, G. A. Physostigmine. **StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls**, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545261/>>. Acesso em: 01 de dez. de 2023.

Aquino-Miranda, G.; Arias-Montaña, J. A. Neuromodulación e histamina: regulación de la liberación de neurotransmisores por receptores H3. **Salud Ment.**, v.35, n.4, p.345-352, 2012. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=58224380010>>.

Aranha, C. M. S. Q. **Arilalquilpiperazinas como agentes multialvo moduladores de receptores histaminérgicos, dopaminérgicos e da acetilcolinesterase**. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, p.209, 2020.

Aranha, C. M. S. Q.; Reiner-Link, D.; Leitzbach, L. R.; Lopes, F. B.; Stark, H.; Fernandes, J. P. S. Multitargeting approaches to cognitive impairment: Synthesis of aryl-alkylpiperazines and assessment at cholinesterases, histamine H₃ and dopamine D₃ receptors. **Bioorg. Med. Chem.**, v.78, n.117132, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2022.117132>.

Araújo, C. R. M.; Santos, V. L. dos A.; Gonsalves A. A. Acetilcolinesterase - AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico. **Rev. Virtual Quim.**, v.8, n.6, p.1818-1834, 2016. DOI: [10.21577/1984-6835.20160122](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20160122).

Arnott, J. A.; Planey, S. L. The influence of lipophilicity in drug discovery and design. **Expert Opin Drug Discov.**, v.7, n.10, p.863–875, 2012. DOI: [10.1517/17460441.2012.714363](https://doi.org/10.1517/17460441.2012.714363).

Arvanitakis, Z.; Shah, R. C.; Bennett, D. A. Diagnosis and Management of Dementia: Review. **JAMA.**, v.322, n.16, p.1589-1599, 2019. DOI: [10.1001/jama.2019.4782](https://doi.org/10.1001/jama.2019.4782).

Azman, M.; Sabri, A. H.; Anjani, Q. K.; Mustaffa, M. F.; Hamid, K. A. Intestinal Absorption Study: Challenges and Absorption Enhancement Strategies in Improving Oral Drug Delivery. **Pharmaceuticals (Basel).**, v.15, n.8, p.975, 2022. DOI: [10.3390/ph15080975](https://doi.org/10.3390/ph15080975).

Bacciottini, L.; Passani, M. B.; Mannaioni, P. F.; Blandina, P. Interactions between histaminergic and cholinergic systems in learning and memory. **Behav. Brain Res.**, v.124, n.2, p.183-194, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00230-3](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00230-3).

Bacqué-Cazenave, J.; Bharatiya, R.; Barrière, G.; Delbecque, J. P.; Bouguiyoud, N.; Di Giovanni, G.; Cattaert, D.; De Deurwaerdère, P. Serotonin in Animal Cognition and Behavior. **Int J Mol Sci.**, v.21, n.5, p.1649, 2020. DOI: [10.3390/ijms21051649](https://doi.org/10.3390/ijms21051649).

Bajda, M.; Kuder, K. J.; Łażewska, D.; Kieć-Kononowicz, K.; Więckowska, A.; Ignasik, M.; Guzior, N.; Jończyk, J.; Malawska, B. Dual-acting diether derivatives of piperidine and homopiperidine with histamine H₃ receptor antagonistic and anticholinesterase activity. **Arch Pharm (Weinheim)**, v.345, n.8, p.591-7, 2012. DOI: [10.1002/ardp.201200018](https://doi.org/10.1002/ardp.201200018).

Bajda, M.; Łątka, K.; Hebda, M.; Jończyk, J.; Malawska, B. Novel carbamate derivatives as selective butyrylcholinesterase inhibitors. **Bioorg Chem.**, v.78, p.29-38, 2018. DOI: [10.1016/j.bioorg.2018.03.003](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.03.003).

Bajda, M.; Łażewska, D.; Godyń, J.; Zaręba, P.; Kuder, K.; Hagenow, S.; Łątka, K.; Stawarska, E.; Stark, H.; Kieć-Kononowicz, K.; Malawska, B. Search for new multi-target compounds against Alzheimer's disease among histamine H₃ receptor ligands. **Eur J Med Chem.**, v.185:111785, 2020. DOI: [10.1016/j.ejmech.2019.111785](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111785).

Baker, A.; Graz, M.; Saunders, R.; Evans, G. J. S.; Pitotti, I.; Wirth, T. Flow Alkylation of Thiols, Phenols, and Amines Using a Heterogenous Base in a Packed-Bed Reactor. **J. Flow Chem.**, v.5, n.2, p.65–68, 2015. DOI: [10.1556/1846.2015.00009](https://doi.org/10.1556/1846.2015.00009).

Balestrino, R.; Schapira, A. H. V. Parkinson disease. **Eur J Neurol.**, v.27, n.1, p.27-42, 2020. DOI: [10.1111/ene.14108](https://doi.org/10.1111/ene.14108).

Barbier, A. J.; Berridge, C.; Dugovic, C.; Laposky, A. D.; Wilson, S. J.; Boggs, J.; Aluisio, L.; Lord, B.; Mazur, C.; Pudiak, C. M.; Langlois, X.; Xiao, W.; Apodaca, R.; Carruthers, N. I.; Lovenberg, T. W. Acute wake-promoting actions of JNJ-5207852, a novel, diamine-based H₃ antagonist. **Br J Pharmacol.**, v.143, n.5, p.649-61, 2004. DOI: [10.1038/sj.bjp.0705964](https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705964).

Barret, R. **Medicinal Chemistry** - Importance and Evaluation of the pKa. Therapeutical Chemistry, 1^{ed}. Amsterdã: Elsevier, 2018. p.21-51. DOI:[10.1016/b978-1-78548-288-5.50002-0](https://doi.org/10.1016/b978-1-78548-288-5.50002-0).

Bazzari, A. H.; Parri, H. R. Neuromodulators and Long-Term Synaptic Plasticity in Learning and Memory: A Steered-Glutamatergic Perspective. **Brain Sci.**, v.9, n.11, p.1-34, 2019. DOI:[10.3390/brainsci9110300](https://doi.org/10.3390/brainsci9110300).

Benet, L. Z.; Hosey, C. M.; Ursu, O.; Oprea, T. I. BDDCS, the Rule of 5 and drugability. **Adv Drug Deliv Rev.**, v.101, p.89-98, 2016. DOI:[10.1016/j.addr.2016.05.007](https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007).

Bento, A. P.; Bickelhaupt, F. M. Nucleophilicity and leaving-group ability in frontside and backside S(N)2 reactions. **J Org Chem.**, v.73, n.18, p.7290-9, 2008. DOI:[10.1021/jo801215z](https://doi.org/10.1021/jo801215z).

Berger, T. W.; Song, D.; Chan, R. H.; Marmarelis, V. Z. The Neurobiological Basis of Cognition: Identification by Multi-Input, Multioutput Nonlinear Dynamic Modeling: A method is proposed for measuring and modeling human long-term memory formation by mathematical analysis and computer simulation of nerve-cell dynamics. **Proc IEEE.**, v.98, n.3, p.356-374, 2010. DOI:[10.1109/JPROC.2009.2038804](https://doi.org/10.1109/JPROC.2009.2038804).

Birks, J. S.; Chong, L. Y.; Evans, J. G. Rivastigmine for Alzheimer's disease. **Cochrane Database Syst Rev.**, v.9, n.CD001191, p.1-151, 2015. DOI:[10.1002/14651858](https://doi.org/10.1002/14651858).

Birks, J. S.; Harvey, R. J. Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. **Cochrane Database Syst Rev.**, v.6, n.CD001190. p.1-328, 2018. DOI:<https://doi.org/10.1002/14651858.CD001190.pub3>.

Blandina, P.; Giorgetti, M.; Cecchi, M.; Leurs, R.; Timmerman, H.; Giovannini, M. G. Histamine H3 receptor inhibition of K(+)-evoked release of acetylcholine from rat cortex in vivo. **Inflamm Res.**, v.45 Suppl. 1:S54-5, 1996. DOI: [10.1007/BF03354086](https://doi.org/10.1007/BF03354086).

Bodanszky, M. **Peptide Chemistry: A Practical Textbook**; 1^{ed}. Springer: New York, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1002/pol.1990.140280610>.

Bohnen, N. I.; Yarnall, A. J.; Weil, R. S.; Moro, E.; Moehle, M. S.; Borghammer, P.; Bedard, M. A.; Albin, R. L. Cholinergic system changes in Parkinson's disease: emerging therapeutic approaches. **Lancet Neurol.**, v.21, n.4, p.381–392, 2022. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00377-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00377-X).

Bohnen, N. I.; Grothe, M. J.; Ray, N. J.; Müller, M. L. T. M.; Teipel, S. J. Recent advances in cholinergic imaging and cognitive decline-Revisiting the cholinergic hypothesis of dementia. **Curr Geriatr Rep.**, v.7, n.1, p.1-11, 2018. DOI: [10.1007/s13670-018-0234-4](https://doi.org/10.1007/s13670-018-0234-4).

Boobis, A.; Gundert-Remy, U.; Kremers, P.; Macheras, P.; Pelkonen, O. In silico prediction of ADME and pharmacokinetics. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v.17, n.4-5, p.183–193, 2002. DOI: [10.1016/s0928-0987\(02\)00185-9](https://doi.org/10.1016/s0928-0987(02)00185-9).

Brown, D. A. Acetylcholine and cholinergic receptors. **Brain Neurosci. Adv.**, v.3: 2398212818820506, p.1-10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1177/2398212818820506>.

Bruner, E.; Battaglia-Mayer, A.; Caminiti, R. The parietal lobe evolution and the emergence of material culture in the human genus. **Brain Struct Funct.**, v.228, n.1, p.145-167, 2023. DOI: [10.1007/s00429-022-02487-w](https://doi.org/10.1007/s00429-022-02487-w).

Butcher, K. J.; Hurst, J. Aromatic amines as nucleophiles in the Bargellini reaction. **Tetrahedron Lett.**, v.50, n.21, p.2497–2500, 2009. DOI: [10.1016/j.tetlet.2009.03.044](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.03.044).

Carey, F. A.; Sundberg, R. J. ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY – Part B: Reactions and Synthesis - **SN1 and SN2 reactions**. 5^a ed. Elsevier: Amsterdã, 2017. DOI: [10.13140/RG.2.2.27476.50564](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.27476.50564).

Chan, L. C.; Cox, B. G. Kinetics of Amide Formation through Carbodiimide/N-Hydroxybenzotriazole (HOBt) Couplings. **J. Org. Chem.**, v.72, n.23, p.8863–8869, 2007. DOI: [10.1021/jo701558y](https://doi.org/10.1021/jo701558y).

Chauhan, P.; Rathawa, A.; Jethwa, K.; Mehra, S. **The Anatomy of the Cerebral Cortex**. In: Pluta R, editor. Cerebral Ischemia [Internet]. 1^aed. Brisbane (AU): Exon Publications, Capítulo1, 2021. PMID: 34905314. DOI: [10.36255/exonpublications.cerebralischemia.2021.cerebralcortex](https://doi.org/10.36255/exonpublications.cerebralischemia.2021.cerebralcortex).

Cheng, L.; Liu, J.; Chen, Z. The Histaminergic System in Neuropsychiatric Disorders. **Biomolecules**, v.11, n.9, p.1345, 2021. DOI: [10.3390/biom11091345](https://doi.org/10.3390/biom11091345).

Chen, Z. R.; Huang, J. B.; Yang, S. L.; Hong, F. F. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. **Mol.**, v.27, n.6, p.1816, 2022. DOI: [10.3390/molecules27061816](https://doi.org/10.3390/molecules27061816).

Cherai et, Z.; Ouarna, S.; Hessainia, S.; Berredjem, M.; Aouf, N. E. N-tert-Butoxycarbonylation of Structurally Diverse Amines and Sulfamides under Water-Mediated Catalyst-Free Conditions. **ISRN Org Chem.**, ID.404235, p.1-8, 2012. DOI: [10.5402/2012/404235](https://doi.org/10.5402/2012/404235).

Cho, W.; Maruff, P.; Connell, J.; Gargano, C.; Calder, N.; Doran, S.; Fox-Bosetti, S.; Hassan, A.; Renger, J.; Herman, G.; Lines, C.; Verma A. Additive effects of a cholinesterase inhibitor and a histamine inverse agonist on scopolamine deficits in humans. **Psychopharmacology (Berl)**., v.218, n.3, p.513-24, 2011. DOI: [10.1007/s00213-011-2344-y](https://doi.org/10.1007/s00213-011-2344-y).

Cho, Y. T.; Ernst, M.; Fudge, J. L. Cortico-amygdala-striatal circuits are organized as hierarchical subsystems through the primate amygdala. **J Neurosci.**, v.33, n.35, p.14017-30, 2013. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.0170-13.2013](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0170-13.2013).

Chopko, T. C.; Lindsley, C. W. Classics in Chemical Neuroscience: Risperidone. **ACS Chem Neurosci.**, v.9, n.7, p.1520-1529, 2018. DOI: [10.1021/acscchemneuro.8b00159](https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00159).

Christ, H. A.; Bourgat, Y.; Menzel, H. Optimization of Critical Parameters for Carbodiimide Mediated Production of Highly Modified Chitosan. **Polym. Chem.**, v.13, n.16, p.2702, 2021. DOI: [10.3390/polym13162702](https://doi.org/10.3390/polym13162702).

Clark, D. E. What has polar surface area ever done for drug discovery? **Future Med Chem.**, v.3, n.4, p.469–484, 2011. DOI: [10.4155/fmc.11.1](https://doi.org/10.4155/fmc.11.1).

Colović, M. B.; Krstić, D. Z.; Lazarević-Pašti, T. D.; Bondžić, A. M.; Vasić, V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Curr Neuropharmacol.**, v.11, n.3, p.315–335, 2013. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570159X11311030006>.

Corrêa, M.F. **Síntese e avaliação biológica de compostos da série lins01 como agentes pró-cognitivos: uma abordagem multialvo**. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional da Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, p.230, 2021.

Corrêa, M. F.; Balico-Silva, A. L.; Kiss, D. J.; Fernandes, G. A. B.; Maraschin, J. C.; Parreiras-E-Silva, L. T.; Varela, M. T.; Simões, S. C.; Bouvier, M.; Keserű, G. M.; Costa-Neto, C. M.; Fernandes, J. P. S. Novel potent (dihydro)benzofuranyl piperazines as human histamine receptor ligands - Functional characterization and modeling studies on H₃ and H₄ receptors. **Bioorg Med Chem.**, v.30, n.115924, 2021. DOI: [10.1016/j.bmc.2020.115924](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115924).

Corrêa, M. F.; Barbosa, Á. J. R.; Fernandes, G. A. B.; Baker, J. G.; Fernandes, J. P. S. Pharmacological and SAR analysis of the LINS01 compounds at the human histamine H₁, H₂, and H₃ receptors. **Chem Biol Drug Des.**, v.93, n.1, p.89-95, 2019. DOI: [10.1111/cbdd.13387](https://doi.org/10.1111/cbdd.13387).

Corrêa, M. F.; Fernandes, J. P. S. QSAR Modeling of Histamine H₃R Antagonists/inverse Agonists as Future Drugs for Neurodegenerative Diseases. **Curr Neuropharmacol.**, v.16, n.6, p.749-757, 2018. DOI: [10.2174/1570159X15666170818100644](https://doi.org/10.2174/1570159X15666170818100644).

Corrêa, M. F.; Varela, M. T.; Balbino, A. M.; Torrecilhas, A. C.; Landgraf, R. G.; Troncone, L. R. P.; Fernandes, J. P. S. 1-[(2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-yl) methyl] piperazines as novel anti-inflammatory compounds: Synthesis and evaluation on H₃ R/H₄ R. **Chem. Biol. Drug Des.**, v.90, n.2, p.317–322, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/cbdd.12947>.

Corrêa, M. F.; Fernandes, J. P. S. Histamine H₄ receptor ligands: future applications and state of art. **Chem. Biol. Drug Des.**, v.85, n.4, p.461–480, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/cbdd.12431>.

Costa, D. C.; Ferreira, J. V.; Correa, L. C.; Hage-Melim, L. I. S. Bioactive compounds and their anti-alzheimer property targets: A literature review. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v.2, n.2, p.133-156, 2019. DOI: [10.5935/2595-4407/rac.immes.v2n2p133-156](https://doi.org/10.5935/2595-4407/rac.immes.v2n2p133-156).

Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Sci Rep.**, v.7, n.1:42717, p.1-13, 2017. DOI: [10.1038/srep42717](https://doi.org/10.1038/srep42717).

Daina, A.; Zoete, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. **ChemMedChem.**, v.11, n.11, p.1117–1121, 2016. DOI: [10.1002/cmdc.201600182](https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182).

Darehkordi, A.; Kazemi, E. Iodine/potassium iodide catalyst for the synthesis of trifluoromethylated quinazolines via intramolecular cyclization of 2,2,2-trifluoro-N-benzyl-N'-arylacetimidamides. **Mol Divers.**, v.24, n.1, p.131-139, 2020. DOI: [10.1007/s11030-019-09933-8](https://doi.org/10.1007/s11030-019-09933-8).

Darras, F. H.; Pockes, S.; Huang, G.; Wehle, S.; Strasser, A.; Wittmann, H. J.; Nimczick, M.; Sotriffer, C. A.; Decker, M. Synthesis, biological evaluation, and computational studies of Tri- and tetracyclic nitrogen-bridgehead compounds as potent dual-acting AChE inhibitors and hH3 receptor antagonists. **ACS Chem Neurosci.**, v.5, n.3, p.225-42, 2014. DOI: [10.1021/cn4002126](https://doi.org/10.1021/cn4002126).

Dayal, B.; Salen, G.; Toome, B.; Tint, G. S.; Shefer, S.; Padia, J. Lithium hydroxide/aqueous methanol: mild reagent for the hydrolysis of bile acid methyl esters. **Steroids.**, v.55, n.5, p.233–237, 1990. DOI: [10.1016/0039-128x\(90\)90021-3](https://doi.org/10.1016/0039-128x(90)90021-3).

Delaney, J. S. ESOL: Estimating Aqueous Solubility Directly from Molecular Structure. **Chem. Inf. Comp. Sci.**, v.44, n.3, p.1000–1005, 2004. DOI: [10.1021/ci034243x](https://doi.org/10.1021/ci034243x).

Dewick, P. M. **Essentials of Organic Chemistry for Students of Pharmacy, Medicinal Chemistry and Biological Chemistry**. 1^aed. Chichester: Wiley, 2013. p.183-224. DOI: <https://doi.org/10.1021/ed085p204>.

Dhakal, A.; Bobrin, B. D. Cognitive Deficits. **StatPearls [Internet]. TreasureIsland (FL): StatPearls**, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559052/>. Acesso em: 01 de dez. de 2023.

Domínguez-Borràs, J.; Vuilleumier, P. Amygdala function in emotion, cognition, and behavior. **Handb Clin Neurol.**, v.187, p.359-380, 2022. DOI: [10.1016/B978-0-12-823493-8.00015-8](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823493-8.00015-8).

Douglas, C. L.; Baghdoyan, H. A.; Lydic, R. Postsynaptic muscarinic M1 receptors activate prefrontal cortical EEG of C57BL/6J mouse. **J. Neurophysiol.**, v.88, n.6, p.3003–3009, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00318.2002>.

Du, Z.; Wei, X.; Zhang, W.; Zhang, Y.; Xue, Q. Catalyst-Free and Highly Selective N, N-Diallylation of Anilines in Aqueous Phase. **J Chem.**, ID 989285, p.1–5, 2013. DOI: [10.1155/2013/989285](https://doi.org/10.1155/2013/989285).

Duch, C.; Ryglewski, S. Structure and function of neuronal dendrites. **e-Neuroforum.**, v.4, n.7, p.71-81, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1515/s13295-016-0032-4>.

Dvir, H.; Silman, I.; Harel, M.; Rosenberry, T. L.; Sussman, J. L. Acetylcholinesterase: from 3D structure to function. **Chem Biol Interact.**, v.187, n.1-3, p.10-22, 2010. DOI: [10.1016/j.cbi.2010.01.042](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.042).

Dy, M.; Schneider, E. Histamine-cytokine connection in immunity and hematopoiesis. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v.15, n.5, p.393–410, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2004.06.003>.

Echeverria, V.; Cristhian Mendoza, C.; larkov, A. Nicotinic acetylcholine receptors and learning and memory deficits in Neuroinflammatory diseases. **Front. Neurosci.**, v.17, p.1-17, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1179611>

Engelhardt, E.; Tocquer, C.; André, C.; Moreira, D. M.; Okamoto, I. H.; Cavalcanti, J. L. S. Working Group on Alzheimer's Disease and Vascular Dementia of the Brazilian Academy of Neurology. Vascular dementia: Cognitive, functional and behavioral assessment. Recommendations of the Scientific Department of Cognitive Neurology and Aging of the Brazilian Academy of Neurology. Part II. **Dement Neuropsychol.**, v.5, n.4, p.264-274, 2011. DOI: [10.1590/S1980-57642011DN05040004](https://doi.org/10.1590/S1980-57642011DN05040004).

Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug

transport properties. **J. Med. Chem.**, v.43, n.20, p.3714–3717, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm000942e>.

Esbenshade, T. A.; Browman, K. E.; Bitner, R. S.; Strakhova, M.; Cowart, M. D.; Brioni, J. D. The histamine H₃ receptor: an attractive target for the treatment of cognitive disorders. **Br. J. Pharmacol.**, v.154, p.1166–1181, 2008. DOI: [10.1038/bjp.2008.147](https://doi.org/10.1038/bjp.2008.147).

Féger, J.; Hirsch, E. C. In search of innovative therapeutics for neuropsychiatric disorders: the case of neurodegenerative diseases. **Ann Pharm Fr.**, v.73, n.1, p.3-12, 2015. DOI: [10.1016/j.pharma.2014.10.001](https://doi.org/10.1016/j.pharma.2014.10.001).

Fernandes, J. P.; Carvalho, B. S.; Luchez, C. V.; Politi, M. J.; Brandt, C. A. Optimization of the ultrasound-assisted synthesis of allyl 1-naphthyl ether using response surface methodology. **Ultrason Sonochem.**, v.18, n.2, p.489-93, 2011. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2010.10.003](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.10.003).

Fernández de Sevilla, D.; Núñez, A; Buño, W. Muscarinic receptors, from synaptic plasticity to its role in network activity. **Neuroscience.**, v.456, p.1-11 2020. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2020.04.005](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.04.005).

Ferreira, G. S.; Dijkstra, F. M.; Veening-Griffioen, D. H.; Boon, W. P. C.; Schellekens, H.; Moors, E. H. M.; van Meer, P. J. K.; Stuurman, F. E.; van Gerven, J. M. A. Translatability of preclinical to early clinical tolerable and pharmacologically active dose ranges for central nervous system active drugs. **Transl. Psychiatry.**, v.13, n.74, p.1-12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02353-1>.

Ferreira-Vieira, T. H.; Guimaraes, I. M.; Silva, F. R.; Ribeiro, F. M. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. **Curr Neuropharmacol.**, v.14, n.1, p.101-15, 2016. DOI: [10.2174/1570159x13666150716165726](https://doi.org/10.2174/1570159x13666150716165726).

Flores-Clemente, C.; Nicolás-Vázquez, M. I.; Mera Jiménez, E.; Hernández-Rodríguez, M. Inhibition of Astrocytic Histamine N-Methyltransferase as a Possible Target for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Biomolecules.**, v.11, n.10, p.1408, 2021. DOI: [10.3390/biom11101408](https://doi.org/10.3390/biom11101408).

Flores-Holguín, N.; Frau, J.; Glossman-Mitnik, D. In Silico Pharmacokinetics, ADMET Study and Conceptual DFT Analysis of Two Plant Cyclopeptides Isolated From

Rosaceae as a Computational Peptidology Approach. **Front Chem.**, v.9, n.708364, p.1-13, 2021. DOI: [10.3389/fchem.2021.708364](https://doi.org/10.3389/fchem.2021.708364).

Fox, G. B.; Esbenshade, T. A.; Pan, J. B.; Radek, R. J.; Krueger, K. M.; Yao, B. B.; Browman, K. E.; Buckley, M. J.; Ballard, M. E.; Komater, V. A.; Miner, H.; Zhang, M.; Faghih, R.; Rueter, L. E.; Bitner, R. S.; Drescher, K. U.; Wetter, J.; Marsh, K.; Lemaire, M.; Porsolt, R. D.; Bennani, Y. L.; Sullivan, J. P.; Cowart, M. D.; Decker, M. W.; Hancock, A. A. Pharmacological properties of ABT-239 [4-(2-{2-[(2R)-2-Methylpyrrolidinyl]ethyl}-benzofuran-5-yl)benzonitrile]: II. Neurophysiological characterization and broad preclinical efficacy in cognition and schizophrenia of a potent and selective histamine H₃ receptor antagonist. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.313, n.1, p.176-90, 2005. DOI: [10.1124/jpet.104.078402](https://doi.org/10.1124/jpet.104.078402).

Frieling, T.; Cooke, H. J.; Wood, J. D. Histamine receptors on submucous neurons in guinea pig colon. **Am J Physiol.**, v.264: G74–G80, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1993.264.1.g74>.

Gabrič, A.; Hodnik, Ž.; Pajk, S. Oxidation of Drugs during Drug Product Development: Problems and Solutions. **Pharmaceutics**, v.14, n.2, p.325, 2022. DOI: [10.3390/pharmaceutics14020325](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14020325).

Ganeshpurkar, A.; Kumar, A.; Krishnamurthy, S.; Singh, S. K. Discovery of novel series of 2-substituted benzo[d]oxazol-5-amine derivatives as multi-target directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease. **Eur. J. Med. Chem.**, v.182, n.111613, p.1-20, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111613>.

Gantner, F.; Sakai, K.; Tusche, M. W.; Cruikshank, W. W.; Center, D. M.; Bacon, K. B. Histamine H₄ and H₂ receptors control histamine-induced interleukin-16 release from human CD8(+) T cells. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.303, n.1, p.300-7, 2002 DOI: [10.1124/jpet.102.036939](https://doi.org/10.1124/jpet.102.036939).

Gao, H.; Jiang, Y.; Zhan, J.; Sun, Y. Pharmacophore-based drug design of AChE and BChE dual inhibitors as potential anti-Alzheimer's disease agents. **Bioorg. Chem.**, n.114:105149, 2021. DOI: [10.1016/j.bioorg.2021.105149](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105149).

Gbayo, K.; Isanbor, C.; Lobb, K.; Oloba-Whenu, O. Mechanism of nucleophilic substitution reactions of 4-(4'-nitro) phenylnitrobenzofurazan ether with aniline in acetonitrile. **Phys. Sci. Rev.**, v.2, n.10, 2017. DOI: [10.1515/psr-2016-0120](https://doi.org/10.1515/psr-2016-0120).

George, N.; Ofori, S.; Parkin, S.; Awuah, S. G. Mild deprotection of the *N*-tert-butylloxycarbonyl (*N*-Boc) group using oxalyl chloride. **RSC Adv.**, v.10, n.40, p.24017-24026, 2020. DOI: [10.1039/D0RA04110F](https://doi.org/10.1039/D0RA04110F).

Ghamari, N.; Dastmalchi, S.; Zarei, O.; Arias-Montaña, J. A.; Reiner, D.; Ustun-Alkan, F.; Stark, H.; Hamzeh-Mivehroud, M. In silico and in vitro studies of two non-imidazole multiple targeting agents at histamine H₃ receptors and cholinesterase enzymes. **Chem Biol Drug Des.**, v.95, n.2, p.279-290, 2020. DOI: [10.1111/cbdd.13642](https://doi.org/10.1111/cbdd.13642).

Ghosh, A. K.; Shanabi, D. Synthesis of amide derivatives for electron deficient amines and functionalized carboxylic acids using EDC and DMAP and a catalytic amount of HOBt as the coupling reagents. **Tetrahedron Lett.**, v.63, n.152719, p.1-5, 2021. DOI: [10.1016/j.tetlet.2020.152719](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.152719).

Goaillard, J. M.; Moubarak, E.; Tapia, M.; Tell, F. Diversity of Axonal and Dendritic Contributions to Neuronal Output. **Front Cell Neurosci.**, v.13, n.570, p.1-21, 2020. DOI: [10.3389/fncel.2019.00570](https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00570).

Godyń, J.; Zaręba, P.; Stary, D.; Kaleta, M.; Kuder, K. J.; Latacz, G.; Mogilski, S.; Reiner-Link, D.; Frank, A.; Doroz-Płonka, A.; Olejarz-Maciej, A.; Sudoł-Tałaj, S.; Nolte, T.; Handzlik, J.; Stark, H.; Więckowska, A.; Malawska, B.; Kieć-Kononowicz, K.; Łażewska, D.; Bajda, M. Benzophenone Derivatives with Histamine H₃ Receptor Affinity and Cholinesterase Inhibitory Potency as Multitarget-Directed Ligands for Possible Therapy of Alzheimer's Disease. **Mol.**, v.28, n.1, p.238, 2022. DOI: [10.3390/molecules28010238](https://doi.org/10.3390/molecules28010238).

Gogolla, N. The insular cortex. **Current Biology**, v.27, n.12, p.R580-R586, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.010>.

Gorelick, P. B. Prevention of cognitive impairment: scientific guidance and windows of opportunity. **J Neurochem.**, v.144, n.5, p.609-616, 2018. DOI: [10.1111/jnc.14113](https://doi.org/10.1111/jnc.14113).

Graef, S.; Schönknecht, P.; Sabri, O.; Hegerl, U. Cholinergic receptor subtypes and their role in cognition, emotion, and vigilance control: an overview of preclinical and clinical findings. **Psychopharmacology (Berl)**., v.215, n.2, p.205-29, 2011. DOI: [10.1007/s00213-010-2153-8](https://doi.org/10.1007/s00213-010-2153-8).

Ha, Z. Y.; Mathew, S.; Yeong, K. Y. Butyrylcholinesterase: A Multifaceted Pharmacological Target and Tool. **Curr Protein Pept Sci.**, v.21, n.1, p.99–109, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389203720666191107094949>.

Haam, J.; Yakel, J. L. Cholinergic modulation of the hippocampal region and memory function. **J Neurochem.**, v.142, Suppl.2, p.111-121, 2017. DOI: [10.1111/jnc.14052](https://doi.org/10.1111/jnc.14052).

Haas, H. L.; Sergeeva, O. A.; Selbach, O. Histamine in the nervous system. **Physiol Rev.**, v.88, n.3, p.1183-241, 2008. DOI: [10.1152/physrev.00043.2007](https://doi.org/10.1152/physrev.00043.2007).

Hamlin, T. A.; Swart, M.; Bickelhaupt, F. M. Nucleophilic Substitution (S_N2): Dependence on Nucleophile, Leaving Group, Central Atom, Substituents, and Solvent. **ChemPhysChem.**, v.19, n.11, p.1315-1330, 2018. DOI: [10.1002/cphc.201701363](https://doi.org/10.1002/cphc.201701363).

Hampel, H.; Mesulam, M. M.; Cuello, A. C.; Farlow, M. R.; Giacobini, E.; Grossberg, G. T.; Khachaturian, A. S.; Vergallo, A.; Cavedo, E.; Snyder, P. J.; Khachaturian, Z. S. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease. **Brain.**, v.141, n.7, p.1917–1933, 2018. DOI: [10.1093/brain/awy132](https://doi.org/10.1093/brain/awy132).

Hansen, T.; Jasper, R. J.; Bickelhaupt, M. F.; Hamlin, T. A. "How Solvation Influences the S_N2 versus E2 Competition". **J. Org. Chem.**, v.87, n.3, p.1805-1813, 2022. DOI: [10.1021/acs.joc.1c02354](https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02354).

Hansen, J. Y.; Shafiei, G.; Markello, R. D.; Smart, K.; Cox, S. M. L.; Nørgaard, M.; Beliveau, V.; Wu, Y.; Gallezot, J. D.; Aumont, É.; Servaes, S.; Scala, S. G.; DuBois, J. M.; Wainstein, G.; Bezgin, G.; Funck, T.; Schmitz, T. W.; Spreng, R. N.; Galovic, M.; Koepp, M. J.; Misic, B. Mapping neurotransmitter systems to the structural and functional organization of the human neocortex. **Nat. Neurosci.**, v.25, n.11, p.1569–1581, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41593-022-01186-3>.

Harvey, P. D. Domains of cognition and their assessment. **Dialogues Clin Neurosci.**, v.21, n.3, p.227-237, 2019. DOI: [10.31887/DCNS.2019.21.3/pharvey](https://doi.org/10.31887/DCNS.2019.21.3/pharvey).

Harwell, V.; Fasinu, P. S. Pitolisant and Other Histamine-3 Receptor Antagonists-An Update on Therapeutic Potentials and Clinical Prospects. **Medicines (Basel)**., v.7, n.55, p.1-16, 2020. DOI: [10.3390/medicines7090055](https://doi.org/10.3390/medicines7090055).

Haslam, E. Recent developments in methods for the esterification and protection of the carboxyl group. **Tetrahedron**., v.36, n.17, p.2409–2433, 1980. DOI: [10.1016/0040-4020\(80\)80219-5](https://doi.org/10.1016/0040-4020(80)80219-5).

Hassan, H. A.; Allam, A. E.; Abu-Baih, D. H.; Mohamed, M. F. A.; Abdelmohsen, U. R.; Shimizu, K.; Desoukey, S. Y.; Hayallah, A. M.; Elrehany, M. A.; Mohamed, K. M.; Kamel, M. S. Isolation and characterization of novel acetylcholinesterase inhibitors from *Ficus benghalensis* L. leaves. **RSC Adv.**, v.10, n.60, p.36920-36929., 2020. DOI: [10.1039/d0ra06565j](https://doi.org/10.1039/d0ra06565j).

Hasselmo, M.; Sarter, M. Modes and Models of Forebrain Cholinergic Neuromodulation of Cognition. **Neuropsychopharmacol.**, v.36, p.52–73, 2011. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.104>.

Hayami, J.; Tanaka, N.; Kaji, A. SN2 Reactions in Dipolar Aprotic Solvents. Chlorine Isotopic Exchange Reactions of 2-Arylethyl Chlorides, Chloromethyl Aryl Ethers, and Chloromethyl Aryl Sulfides in Acetonitrile. **BCSJ**., v.44, n.11, p.3091–3095, 1971. DOI: [10.1246/bcsj.44.3091](https://doi.org/10.1246/bcsj.44.3091).

Hayashi, K.; Ichimaru, Y.; Sugiura, K.; Maeda, A.; Harada, Y.; Kojima, Y.; Nakayama, K.; Imai, M. Efficiency of Lithium Cations in Hydrolysis Reactions of Esters in Aqueous Tetrahydrofuran. **Chem. Pharm. Bull.**, v.69, n.6 p.581-584, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1248/cpb.c21-00013>.

Hijazin, C. A. H.; Simões, A. T.; Silveira, D. R. Hidrólise ácida, alcalina e enzimática. **Revista Atitude**., v.4, n.7, p.89-83, 2010. Disponível em: <https://tratamentodeagua.com.br/artigo/hidrolise-acida-alcalina-e-enzimatica/>. Acesso em: 14 fev. 2024.

Hino, N.; Marumo, T.; Kotani, M.; Shimazaki, T.; Kaku-Fukumoto, A.; Hikichi, H.; Karasawa, J.; Tomishima, Y.; Komiyama, H.; Tatsuda, E.; Nozawa, D.; Nakamura, T.; Chaki, S. A Novel Potent and Selective Histamine H3 Receptor Antagonist Enerisant: In Vitro Profiles, In Vivo Receptor Occupancy, Wake-Promoting and Pro-

cognitive Effects in Rodents. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.375, n.2, p.276-285, 2020. DOI: [10.1124/jpet.120.000185](https://doi.org/10.1124/jpet.120.000185).

Hirano, K.; Morishita, Y.; Minami, M.; Nomura, H. The impact of pitolisant, an H3 receptor antagonist/inverse agonist, on perirhinal cortex activity in individual neuron and neuronal population levels. **Sci Rep.**, v.12, n.7015, p.1-11, 2022. DOI: [10.1038/s41598-022-11032-y](https://doi.org/10.1038/s41598-022-11032-y).

House, J. E. **Inorganic Chemistry**, 3^a ed. Elsevier: Amsterdã, 2013. p.273-312. doi:[10.1016/b978-0-12-385110-9.00009-1](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-385110-9.00009-1).

Hutchins, J. E. C.; Fife, T. H. Fast intramolecular nucleophilic attack by phenoxide ion on carbamate ester groups. **J. Am. Chem. Soc.**, v.95, n.7, p.2282–2286, 1973. DOI: [10.1021/ja00788a030](https://doi.org/10.1021/ja00788a030).

Inoue, Y.; Uchiyama, M.; Umeuchi, H.; Onishi, K.; Ogo, H.; Kitajima, I.; Matsushita, I.; Nishino, I.; Uchimura, N. (2022). Optimal dose determination of enerisant (TS-091) for patients with narcolepsy: two randomized, double-blind, placebo-controlled trials. **BMC psychiatry.**, v.22, n.141, p.1-13, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12888-022-03785-7>.

Ishiwata, K.; Kawamura, K.; Yanai, K.; Hendrikse, N. H. In vivo evaluation of P-glycoprotein modulation of 8 PET radioligands used clinically. **J Nucl Med.**, v.48, n.1, p.81-87, 2007. PMID: [17204702](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17204702/)

Ishola, A.; Oyinloye, B.; Basiru, A.; Kappo, A. P. Molecular Docking Studies of Flavonoids from *Andrographis paniculata* as Potential Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Monoamine Oxidase Inhibitors Towards the Treatment of Neurodegenerative Diseases. **Biointerface Res. Appl. Chem.**, v.11, n.3, p.9871 – 9879, 2021. DOI: [10.33263/BRIAC113.98719879](https://doi.org/10.33263/BRIAC113.98719879).

Jackisch, R.; Förster, S.; Kammerer, M.; Rothmaier, A. K.; Ehret, A.; Zentner, J.; Feuerstein, T. J. Inhibitory potency of choline esterase inhibitors on acetylcholine release and choline esterase activity in fresh specimens of human and rat neocortex. **J Alzheimers Dis.**, v.16, n.3, p.635-47, 2009. DOI: [10.3233/JAD-2009-1008](https://doi.org/10.3233/JAD-2009-1008).

Jacobson, S. A.; Sabbagh, M. N. Donepezil: Potential neuroprotective and disease-modifying effects. **Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.**, v.4, n.10,

p.1363-1369, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1517/17425255.4.10.1363>.

Jauhar, S.; Johnstone, M.; McKenna, P. J. Schizophrenia. **Lancet.**, v.399, n.10323, p.473-486, 2022. DOI: [10.1016/S0140-6736\(21\)01730-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01730-X).

Jończyk, J.; Lodarski, K.; Staszewski, M.; Godyń, J.; Zaręba, P.; Soukup, O.; Janockova, J.; Korabecny, J.; Sałat, K.; Malikowska-Racia, N.; Hebda, M.; Szałaj, N.; Filipek, B.; Walczyński, K.; Malawska, B.; Bajda, M. Search for multifunctional agents against Alzheimer's disease among non-imidazole histamine H₃ receptor ligands. In vitro and in vivo pharmacological evaluation and computational studies of piperazine derivatives. **Bioorg Chem.**, v.90, n.103084, p.1-14, 2019. DOI: [10.1016/j.bioorg.2019.103084](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103084).

Jones, S. E.; Harvey, P. D. Cross-diagnostic determinants of cognitive functioning: the muscarinic cholinergic receptor as a model system. **Transl Psychiatry.**, v.13, n.100, p.1-9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038%2Fs41398-023-02400-x>.

Joshi, Y. B. Cholinergic Functioning, Cognition, and Anticholinergic Medication Burden in Schizophrenia. **Curr. Top. Behav. Neurosci.**, v.63, p.393-406, 2023. DOI: [10.1007/7854_2022_400](https://doi.org/10.1007/7854_2022_400).

Kandel, E. R.; Dudai, Y.; Mayford, M. R. The molecular and systems biology of memory. **Cell.**, v.157, n.1, p.163-86, 2014. DOI: [10.1016/j.cell.2014.03.001](https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.001).

Kareem, R. T.; Abedinifar, F.; Mahmood, E. A.; Ebadi, A. G.; Rajabi, F.; Vessally, E. "The recent development of donepezil structure-based hybrids as potential multifunctional anti-Alzheimer's agents: highlights from 2010 to 2020". **RSC Adv.**, v.11, n.49, p.30781-30797, 2021. DOI: [10.1039/d1ra03718h](https://doi.org/10.1039/d1ra03718h).

Kasal, P.; Jindřich, J. Kinetics of Nucleophilic Substitution of Compounds Containing Multiple Leaving Groups Bound to a Neopentyl Skeleton. **ACS Omega.**, v.7, n.23, p.20137–20144, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021%2Facsomega.2c01965>.

Khachatryan, D. S. A. L.; Razinov, A. L.; Kolotaev, A. V.; Belus', S. K.; Matevosyan, K. R. Alkylation of NH-, OH-, and SH-acids in the presence of potassium carbonate. **Russ. Chem. Bull.**, v.64, n.2, p.395–404, 2015. DOI: [10.1007/s11172-015-0875-9](https://doi.org/10.1007/s11172-015-0875-9).

Khera, T.; Rangasamy, V. Cognition and Pain: A Review. **Front Psychol.**, v.12, n.673962, p.1-11, 2021. DOI: [10.3389/fpsyg.2021.673962](https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.673962).

Khorana, H. G. The Chemistry of Carbodiimides. **Chem. Rev.**, v.53, n.2, p.145-166, 1953. DOI: [10.1021/cr60165a001](https://doi.org/10.1021/cr60165a001).

Kim, D. W.; Ahn, D. S.; Oh, Y. H.; Lee, S.; Kil, H. S.; Oh, S. J.; Lee, S. J.; Kim, J. S.; Ryu, J. S.; Moon, D. H.; Chi, D. Y. A New Class of SN2 Reactions Catalyzed by Protic Solvents: Facile Fluorination for Isotopic Labeling of Diagnostic Molecules. **J. Am. Chem. Soc.**, v.128, n.50, p.16394-16397, 2006. DOI: [10.1021/ja0646895](https://doi.org/10.1021/ja0646895).

Kim, D. W.; Song, C. E.; Chi, D. Y. Significantly Enhanced Reactivities of the Nucleophilic Substitution Reactions in Ionic Liquid. **J. Org. Chem.**, v.68, n.11, p.4281–4285, 2003. DOI: [10.1021/jo034109b](https://doi.org/10.1021/jo034109b).

Klein, M. O.; Battagello, D. S.; Cardoso, A. R.; Hauser, D. N.; Bittencourt, J. C.; Correa, R. G. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. **Cell. Mol. Neurobiol.**, v.39, n.1, p.31-59, 2019. DOI: [10.1007/s10571-018-0632-3](https://doi.org/10.1007/s10571-018-0632-3).

Köhler, C. A.; da Silva, W. C.; Benetti, F.; Bonini, J. S. Histaminergic Mechanisms for Modulation of Memory Systems. **Neural Plast.**, v.2011, ID 328602, p.1–16, 2011. DOI: [10.1155/2011/328602](https://doi.org/10.1155/2011/328602).

Kolb, B.; Mychasiuk, R.; Muhammad, A.; Li, Y.; Frost, D. O.; Gibb, R. Experience and the developing prefrontal cortex. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.109, Suppl.2, p.17186-93, 2012. DOI: [10.1073/pnas.1121251109](https://doi.org/10.1073/pnas.1121251109).

Kryger, G.; Silman, I.; Sussman, J. L. Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept): Implications for the design of new anti-Alzheimer drugs. **Struct.**, v.7, n.3, p.297-307, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(99\)80040-9](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(99)80040-9).

Kummerle, A. E. Butirilcolinesterase - BuChE: Um potencial alvo para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da Doença de Alzheimer. **Rev. Virtual Quim.**, v. 13 n. 1, p.1-37, 2021. DOI: <https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/RVq111120-a1.pdf>.

Kuder, K. J.; Łażewska, D.; Kaleta, M.; Latacz, G.; Kottke, T.; Olejarz, A.; Karcz, T.; Fruziński, A.; Szczepańska, K.; Karolak-Wojciechowska, J.; Stark, H.; Kieć-Kononowicz, K. Synthesis and biological activity of novel tert-amylphenoxyalkyl (homo)piperidine derivatives as histamine H₃R ligands. **Bioorg Med Chem.**, v.25, n.10, p.2701-2712, 2017. DOI: [10.1016/j.bmc.2017.03.031](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.03.031).

Lamb, Y. N. Pitolisant: A Review in Narcolepsy with or without Cataplexy. **CNS Drugs.**, v.34, n.2, p.207-218, 2020. DOI: [10.1007/s40263-020-00703-x](https://doi.org/10.1007/s40263-020-00703-x).

Lamie, P. F.; Abdel-Fattah, M. M.; Philoppes, J. N. Design and synthesis of new indole drug candidates to treat Alzheimer's disease and targeting neuro-inflammation using a multi-target-directed ligand (MTDL) strategy. **J Enzyme Inhib Med Chem.**, v.37, n.1, p.2660-2678, 2022 DOI: [10.1080/14756366.2022.2126464](https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2126464).

Łażewska, D.; Bajda, M.; Kaleta, M.; Zaręba, P.; Doroz-Płonka, A.; Siwek, A.; Alachkar, A.; Mogilski, S.; Saad, A.; Kuder, K.; Olejarz-Maciej, A.; Godyń, J.; Stary, D.; Sudoł, S.; Więcek, M.; Latacz, G.; Walczak, M.; Handzlik, J.; Sadek, B.; Malawska, B.; Kieć-Kononowicz, K. Rational design of new multitarget histamine H₃ receptor ligands as potential candidates for treatment of Alzheimer's disease. **Eur J Med Chem.**, v.207:112743, p.1-19, 2020. DOI: [10.1016/j.ejmech.2020.112743](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112743).

Łażewska, D.; Jończyk, J.; Bajda, M.; Szałaj, N.; Więckowska, A.; Panek, D.; Moore, C.; Kuder, K.; Malawska, B.; Kieć-Kononowicz, K. Cholinesterase inhibitory activity of chlorophenoxy derivatives-Histamine H₃ receptor ligands. **Bioorg Med Chem Lett.**, v.26, n.16, p.4140–4145, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.04.054>.

Łażewska, D.; Kaleta, M.; Schwed, J. S.; Karcz, T.; Mogilski, S.; Latacz, G.; Olejarz, A.; Siwek, A.; Kubacka, M.; Lubelska, A.; Honkisz, E.; Handzlik, J.; Filippek, B.; Stark, H.; Kieć-Kononowicz, K. Biphenyloxy-alkyl-piperidine and azepane derivatives as histamine H₃ receptor ligands. **Bioorg Med Chem.**, v.25, n.20, p.5341-5354, 2017. DOI: [10.1016/j.bmc.2017.07.058](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.07.058).

Łażewska, D.; Kaleta, M.; Zaręba, P.; Godyń, J.; Dubiel, M.; Honkisz-Orzechowska, E.; Doroz-Płonka, A.; Więckowska, A.; Stark, H.; Kieć-Kononowicz, K. Multitargeting Histamine H₃ Receptor Ligands among Acetyl- and Propionyl-Phenoxyalkyl Derivatives. **Mol.**, v.28, n.5, p.2349, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28052349>.

Leggio, A.; Bagalà, J.; Belsito, E. L.; Comandè, A.; Greco, M.; Liguori, A. Formation of amides: one-pot condensation of carboxylic acids and amines mediated by TiCl₄. **Chem. Cent. J.**, v.11, n.87, p.1-12, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0318-9>.

Levin, E. D. Nicotinic receptor subtypes and cognitive function. **J Neurobiol.**, v.53, n.4, p.633–640, 2002. DOI: [10.1002/neu.10151](https://doi.org/10.1002/neu.10151)

Li, Q.; He, S.; Chen, Y.; Feng, F.; Qu, W.; Sun, H. Donepezil-based multi-functional cholinesterase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. **Eur J Med Chem.**, v.158, p.463–477, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.09.031>.

Li, X.; Li, X.; Liu, F.; Li, S.; Shi, D. Rational Multitargeted Drug Design Strategy from the Perspective of a Medicinal Chemist. **J Med Chem.**, v.64, n.15, p.10581-10605, 2021. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.1c00683](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00683).

Lieberman, P. The basics of histamine biology. **Ann Allergy Asthma Immunol.**, v.106, n.2, S2–S5, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anai.2010.08.005>.

Lin, J. H.; Yamazaki, M. Role of P-Glycoprotein in Pharmacokinetics. **Clin Pharmacokinet.**, v.42, n.1, p.59–98, 2003. DOI: <https://doi.org/10.2165/00003088-200342010-00003>.

Liu, H. Y.; Lu, Y.; Li, Y.; Li, J. H. Photocatalytic Decarboxylative [2 + 2 + m] Cyclization of 1,7-Enynes Mediated by Tricyclohexylphosphine and Potassium Iodide. **Org Lett.**, v.22, n.22, p.8819-8823, 2020. DOI: [10.1021/acs.orglett.0c03182](https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c03182).

Lopes, F. B. **Potenciais Agentes Multialvo para o Tratamento de Neurodegenerações: Inibidores Duais H₃R/ChEs com Propriedades Quelantes Associadas.** Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, p.213, 2023.

Lopes, F. B.; Aranha, C. M. S. Q.; Corrêa, M. F.; Fernandes, G. A. B.; Okamoto, D. N.; Simões, L. P. M.; Junior, N. M. N.; Fernandes, J. S. P. Evaluation of the histamine H₃ receptor antagonists from LINS01 series as cholinesterases inhibitors: Enzymatic and modeling studies. **Chem Biol Drug Des.**, v.100, n.5, p.722-729, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/cbdd.14139>.

Lopes, F. B.; Aranha, C. M. S. Q.; Fernandes, J. P. S. Histamine H₃ receptor and cholinesterases as synergistic targets for cognitive decline: strategies to the rational design of multitarget ligands. **Chem Biol Drug Des.**, v.98, n.2, p.212-225, 2021. DOI: [10.1111/cbdd.13866](https://doi.org/10.1111/cbdd.13866).

López-Soria, J. M.; Pérez, S. J.; Hernández, J. N.; Ramírez, M. A.; Martín, V. S.; Padrón, J. I. A practical, catalytic and selective deprotection of a Boc group in N,N'-diprotected amines using iron(iii)-catalysis. **RSC Advances.**, v.5, n.9, p.6647–6651, 2015. DOI: [10.1039/c4ra12143k](https://doi.org/10.1039/c4ra12143k).

Lotfi, E.; Akbarzadeh-T, M. R. Brain emotional learning-based pattern recognizer. **Int. J. Mach. Learn. Cybern.**, v.44, n.5, p.402-421, 2013. DOI: [10.1080/01969722.2013.789652](https://doi.org/10.1080/01969722.2013.789652).

Lorenzi, S.; Mor, M.; Bordi, F.; Rivara, S.; Rivara, M.; Morini, G.; Bertoni, S.; Ballabeni, V.; Barocelli, E.; Plazzi, P. V. Validation of a histamine H₃ receptor model through structure–activity relationships for classical H₃ antagonists. **Bioorganic Med. Chem. Lett.**, v.13, n.19, p.5647–5657, 2005. DOI: [10.1016/j.bmc.2005.05.072](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.05.072).

Lovinger, D. M. Communication networks in the brain: neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. **Alcohol Res Health.**, v.31, n.3, p. 196-214, 2008. PMID: 23584863; PMCID: [PMC3860493](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC3860493/).

Ludwig, P. E.; Reddy, V.; Varacallo, M. Neuroanatomy, Neurons. **StatPearls [Internet]. TreasureIsland (FL): StatPearls**, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441977/>>. Acesso em: 14 de nov. de 2023.

Markousis-Mavrogenis, G.; Bacopoulou, F.; Kolovou, G.; Pons, M. R.; Giannakopoulou, A.; Papavasiliou, A.; Kitas, G. D.; Chrousos, G. P.; Mavrogeni, S. I. Pathophysiology of cognitive dysfunction and the role of combined brain/heart

magnetic resonance imaging (Review). **Exp Ther Med.**, v.24, n.3, p.1-10, 2022. DOI: [10.3892/etm.2022.11506](https://doi.org/10.3892/etm.2022.11506).

Mastitski, A.; Abramov, A.; Kruve, A.; Järv, J. Potassium iodide catalysis in the alkylation of protected hydrazines. **Proc. Estonian Acad. Sci.**, v.66, n.1, p.10–17, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3176/proc.2017.1.03>.

Mathew, M.; Subramanian, S. In vitro screening for anti-cholinesterase and antioxidant activity of methanolic extracts of ayurvedic medicinal plants used for cognitive disorders. **PLoS One.**, v.9, n.1, e86804, 2014. DOI: [10.1371/journal.pone.0086804](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086804).

Matos, K. S. **Estudos computacionais e experimentais da permeabilidade celular de candidatos a fármacos**. 2017. Tese (Doutorado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, p. 119, 2017. DOI: [10.11606/T.76.2017.tde-11052017-140338](https://doi.org/10.11606/T.76.2017.tde-11052017-140338). Acesso em: 2023-12-06.

Mazzoni, A.; Young, H. A.; Spitzer, J. H.; Visintin, A.; Segal, D. M. Histamine regulates cytokine production in maturing dendritic cells, resulting in altered T cell polarization. **J Clin Invest.**, v.108, n.12, p.1865–1873, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI13930>.

McEneny-King, A.; Edginton, A. N.; Rao, P. P. N. Investigating the binding interactions of the anti-Alzheimer's drug donepezil with CYP3A4 and P-glycoprotein. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v.25, n.2, p.297–301, 2015. DOI: [10.1016/j.bmcl.2014.11.046](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.11.046).

Medhurst, A. D.; Atkins, A. R.; Beresford, I. J.; Brackenborough, K.; Briggs, M. A.; Calver, A. R.; Cilia, J.; Cluderay, J. E.; Crook, B.; Davis, J. B.; Davis, R. K.; Davis, R. P.; Dawson, L. A.; Foley, A. G.; Gartlon, J.; Gonzalez, M. I.; Heslop, T.; Hirst, W. D.; Jennings, C.; Jones, D. N.; Lacroix, L. P.; Martyn, A.; Ociepka, S.; Ray, A.; Regan, C. M.; Roberts, J. C.; Schogger, J.; Southam, E.; Stean, T. O.; Trail, B. K.; Upton, N.; Wadsworth, G.; Wald, J. A.; White, T.; Witherington, J.; Woolley, M. L.; Worby, A.; Wilson, D. M. GSK189254, a novel H3 receptor antagonist that binds to histamine H3 receptors in Alzheimer's disease brain and improves cognitive performance in preclinical models. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.321, n.3, p.1032-45, 2007. DOI: [10.1124/jpet.107.120311](https://doi.org/10.1124/jpet.107.120311).

Meguro, K.; Yanai, K.; Sakai, N.; Sakurai, E.; Maeyama, K.; Sasaki, H.; Watanabe, T. Effects of thioperamide, a histamine H₃ antagonist, on the step-through passive avoidance response and histidine decarboxylase activity in senescence-accelerated mice. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.50, n.3, p.321–325, 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)00248-u](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)00248-u).

Mehta, P.; Miszta, P.; Filipek, S. Molecular Modeling of Histamine Receptors-Recent Advances in Drug Discovery. **Mol.**, v.26, n.6, p.1-25, 2021. DOI: [10.3390/molecules26061778](https://doi.org/10.3390/molecules26061778).

Meyer, A. M.; Podolski, N.; Pickert, L.; Polidori, M. C. Präventive Geriatrie: kognitiven Abbau verhindern [Strategies to prevent age-related cognitive decline]. **Dtsch Med Wochenschr.**, v.145, n.3, p.146-150, 2020. DOI: [10.1055/a-0955-9587](https://doi.org/10.1055/a-0955-9587).

Mohsin, N.; Ahmad, M. Donepezil: A review of the recent structural modifications and their impact on anti-Alzheimer activity. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.56, n.24, p.1-16, 2020. DOI: [10.1590/s2175-97902019000418325](https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000418325).

Moriguchi, T.; Takai, J. Histamine and histidine decarboxylase: Immunomodulatory functions and regulatory mechanisms. **Genes Cells.**, v.25, n.7, p.443-449, 2020. DOI: [10.1111/gtc.12774](https://doi.org/10.1111/gtc.12774).

Mushtaq, G.; Greig, N. H.; Khan, J. A.; Kamal, M. A. Status of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus. **CNS Neurol Disord Drug Targets.**, v.13, n.8, p.1432-9, 2014. DOI: [10.2174/1871527313666141023141545](https://doi.org/10.2174/1871527313666141023141545).

Muzio, M. R.; Cascella, M. Histology, Axon. **StatPearls [Internet]. TreasureIsland (FL): StatPearls,** 2023. Disponível: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554388/>. Acesso em: 06 de dez. de 2023.

Myslivecek, J.; Farari, V.; Valuskova, P. M 4 Muscarinic Receptors and Locomotor Activity Regulation. **Physiol. Res.**, v.66 (Suppl. 4): S443-S455, 2017. DOI: <https://doi.org/10.33549/physiolres.933796>

Nakamura, T.; Naganuma, F.; Kudomi, U.; Roh, S.; Yanai, K.; Yoshikawa, T. Oral histidine intake improves working memory through the activation of histaminergic

nervous system in mice. **Biochem Biophys Res Commun.**, v.609, p.141-148, 2022. DOI: [10.1016/j.bbrc.2022.04.016](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.04.016).

Nazarova, V. A.; Sokolov, A. V.; Chubarev, V. N.; Tarasov, V. V.; Schiöth, H. B. Treatment of ADHD: Drugs, psychological therapies, devices, complementary and alternative methods as well as the trends in clinical trials. **Front Pharmacol.**, v.13:1066988, p.1-19, 2022. DOI: [10.3389/fphar.2022.1066988](https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1066988).

Nikolic, K.; Filipic, S.; Agbaba, D.; Stark, H. Procognitive properties of drugs with single and multitargeting H₃ receptor antagonist activities. **CNS Neurosci. Ther.**, v.20, n.7, p.613-23, 2014. DOI: [10.1111/cns.12279](https://doi.org/10.1111/cns.12279).

Nikolic, K.; Mavridis, L.; Djikic, T.; Vucicevic, J.; Agbaba, D.; Yelekci, K.; Mitchell, J. B. Drug Design for CNS Diseases: Polypharmacological Profiling of Compounds Using Cheminformatic, 3D-QSAR and Virtual Screening Methodologies. **Front Neurosci.**, v.10, n.265, p.1-21, 2016. DOI: [10.3389/fnins.2016.00265](https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00265).

Ning, M. S.; Price, S. E.; Ta, J. A.; Davies, K. M. Nucleophilic reactivity of thiolate, hydroxide and phenolate ions towards a model O-arylated diazeniumdiolate prodrug in aqueous and cationic surfactant media. **J Phys Org Chem.**, v.23, n.3, p.220-226, 2010. DOI: [10.1002/poc.1607](https://doi.org/10.1002/poc.1607).

Nirogi, R.; Benade, V.; Daripelli, S.; Subramanian, R.; Kamuju, V.; Bhyrapuneni, G.; Muddana, N. R.; Mekala, V. R.; Petlu, S.; Jayarajan, P.; Badange, R.; Shinde, A.; Jasti, V. Samelisant (SUVN-G3031), a potent, selective and orally active histamine H₃ receptor inverse agonist for the potential treatment of narcolepsy: pharmacological and neurochemical characterisation. **Psychopharmacol.**, v.238, n.6, p.1495–1511, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05779-x>.

Nomura, H.; Shimizume, R.; Ikegaya, Y. Histamine: A Key Neuromodulator of Memory Consolidation and Retrieval. **Curr. Behav. Neurosci.**, v.59, p.329-353, 2022. DOI: [10.1007/7854_2021_253](https://doi.org/10.1007/7854_2021_253).

Onodera, K.; Miyazaki, S.; Imaizumi, M.; Stark, H.; Schunack, W. Improvement by FUB 181, a novel histamine H₃-receptor antagonist, of learning and memory in the elevated plus-maze test in mice. **Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, v.357, n.5, p.508–513, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1007/pl00005200>.

Ouellette, R. J.; Rawn, J. D. **Organic chemistry study guide: key concepts, problems, and solutions**. 1^aed. Amsterdã: Elsevier, 2015. p.615. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2013-0-19078-2>.

Ouellette, R. J.; Rawn, J. D. **Organic Chemistry** - Haloalkanes and alcohols Nucleophilic Substitution and Elimination Reactions. 2^a ed. Amsterdã: Elsevier, 2018. p.255–298. doi:[10.1016/b978-0-12-812838-1.50009-8](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812838-1.50009-8).

Owens, M. T.; Tanner, K. D. Teaching as Brain Changing: Exploring Connections between Neuroscience and Innovative Teaching. **CBE Life Sci Educ.**, v.16, n.2, p.fe2.1-9, 2017. DOI: [10.1187/cbe.17-01-0005](https://doi.org/10.1187/cbe.17-01-0005).

Pájaro, Y.; Sathicq, Á.; Puello-Polo, E.; Pérez, A.; Romanelli, G.; Trilleras, J. n Efficient K₂CO₃-Promoted Synthesis of 1-Bromo-2-aryloxyethane Derivatives and Evaluation of Larval Mortality against *Aedes aegypti*". **J. Chem.**, v.2017, ID.6175315, p.1–7, 2017. DOI:[10.1155/2017/6175315](https://doi.org/10.1155/2017/6175315).

Panayi, F.; Sors, A.; Bert, L.; Martin, B.; Rollin-Jego, G.; Billiras, R.; Carrié, I.; Albinet, K.; Danober, L.; Rogez, N.; Thomas, J. Y.; Pira, L.; Bertaina-Anglade, V.; Lestage, P. In vivo pharmacological profile of S 38093, a novel histamine H₃ receptor inverse agonist. **Eur J Pharmacol.**, v.803, p.1-10, 2017. DOI: [10.1016/j.ejphar.2017.03.008](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.03.008).

Panula, P. Histamine receptors, agonists, and antagonists in health and disease. **Handb Clin Neurol.**, v.180, p.377-387, 2021. DOI:[10.1016/B978-0-12-820107-7.00023-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820107-7.00023-9).

Pardridge, W. M. Drug transport across the blood-brain barrier. **J Cereb Blood Flow Metab.**, v.32, n.11, p.1959-72, 2012. DOI: [10.1038/jcbfm.2012.126](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.126).

Park, J. H.; Choi, J. K.; Lee, E.; Lee, J. K.; Rhim, H.; Seo, S. H.; Kim, Y.; Doddareddy, M. R.; Pae, A. N.; Kang, J.; Roh, E. J. Lead discovery and optimization of T-type calcium channel blockers. **Bioorg Med Chem.**, v.15, n.3, p.1409-19, 2007. DOI: [10.1016/j.bmc.2006.11.004](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.11.004).

Parsons, M. E.; Ganellin, C. R. Histamine and its receptors. **Br J Pharmacol.**, v.147, suppl.1, p.S127–S135, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706440>.

Passani, M. B.; Blandina, P. Histamine receptors in the CNS as targets for therapeutic intervention. **Trends Pharmacol Sci.**, v.32, n.4, p.242–249, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2011.01.003>.

Passos, G. A. R.; Silvado, C. E. S.; Borba, L. A. B. Drug resistant epilepsy of the insular lobe: A review and update article. **Surg Neurol Int.**, v.13, n.197, p.1-12, 2022. DOI: [0.25259/SNI_58_2022](https://doi.org/10.25259/SNI_58_2022).

Patel, D. R.; Feucht, C. Basic Concepts of Neurotransmission. **Pediatr Clin North Am.**, v.58, n.1, p.21-31, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2010.11.004>.

Pepeu, G.; Giovannini, M. G. Cholinesterase inhibitors and beyond. **Curr Alzheimer Res.**, v.6, n.2, p.86-96, 2009. DOI: [10.2174/156720509787602861](https://doi.org/10.2174/156720509787602861).

Pessoa, L.; Hof, P. R. From Paul Broca's great limbic lobe to the limbic system. **J Comp Neurol.**, v.523, n.17, p.2495-500, 2015. DOI: [10.1002/cne.23840](https://doi.org/10.1002/cne.23840).

Petroianu, G.; Arafat, K.; Sasse, B. C.; Stark, H. Multiple enzyme inhibitions by histamine H₃ receptor antagonists as potential procognitive agents. **Pharmazie.**, v.61, n.3, p.179-82, 2006. PMID: [16599255](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16599255/).

Picciotto, M. R.; Caldarone, B. J.; King, S. L.; Zachariou, V. Nicotinic receptors in the brain. Links between molecular biology and behavior. **Neuropsychopharmacology.**, v.22, n.5, p.451–465, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0893-133x\(99\)00146-3](https://doi.org/10.1016/s0893-133x(99)00146-3).

Picciotto, M. R.; Caldarone, B. J.; Brunzell, D. H.; Zachariou, V.; Stevens, T. R.; King, S. L. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit knockout mice: physiological and behavioral phenotypes and possible clinical implications. **Pharmacol.Ther.**, v.92, n.2-3, p.89–108, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(01\)00161-9](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(01)00161-9).

Picciotto, M. R. Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. **Trends Pharmacol Sci.**, v.24, n.9, p.493–499, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(03\)00230-x](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(03)00230-x).

Picciotto, M. R.; Higley, M. J.; Mineur, Y. S. Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. **Neuron.**, v.76, n.1, p.116-29, 2012. DOI: [10.1016/j.neuron.2012.08.036](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.08.036).

Pinto, A. L. N. **Anti-histamínicos H3: Uma nova classe terapêutica**. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa. Porto, p.73, 2012.

Poli, E.; Coruzzi, G.; Bertaccini, G. Histamine H₃ receptors regulate acetylcholine release from the guinea pig ileum myenteric plexus. **Life Sci.**, v.48, n.13, p.PL63–PL68, 1991. DOI: [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(91\)90531-f](https://doi.org/10.1016/0024-3205(91)90531-f).

Poulin, B.; Butcher, A.; McWilliams, P.; Bourgognon, J. M.; Pawlak, R.; Kong, K. C.; Bottrill, A.; Mistry, S.; Wess, J.; Rosethorne, E. M.; Charlton, S. J.; Tobin, A. B. The M3-muscarinic receptor regulates learning and memory in a receptor phosphorylation/arrestin-dependent manner. **Proc Natl Acad Sci U S A.**, v.107, n.20, p.9440-5, 2010. DOI: [10.1073/pnas.0914801107](https://doi.org/10.1073/pnas.0914801107).

Pourshojaei, Y.; Abiri, A.; Eskandari, K.; Haghighijoo, Z.; Edraki, N.; Asadipour, A. Phenoxyethyl Piperidine/Morpholine Derivatives as PAS and CAS Inhibitors of Cholinesterases: Insights for Future Drug Design. **Sci. Rep.**, v.9, n.1: 19855, 2019. DOI: [10.1038/s41598-019-56463-2](https://doi.org/10.1038/s41598-019-56463-2).

Prati, F.; Cavalli, A.; Bolognesi, M. L. Navigating the Chemical Space of Multitarget-Directed Ligands: From Hybrids to Fragments in Alzheimer's Disease. **Mol.**, v.21, n.466, p.1-12, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21040466>.

Provensi, G.; Costa, A.; Izquierdo, I.; Blandina, P.; Passani, M. B. Brain histamine modulates recognition memory: possible implications in major cognitive disorders. **Br J Pharmacol.**, v.177, n.3, p.539-556, 2020. DOI: [10.1111/bph.14478](https://doi.org/10.1111/bph.14478).

Purves, D.; Augustine, G. J.; Fitzpatrick, D.; Katz, L. D.; LaMantia, A. S.; McNamara, J. O.; Willms, M. S. **Neuroscience**. 2^a ed. Sunderland (MA): iaSinauer Associates, 2001. DOI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10799/>.

Rablen, P. R.; McLarney, B. D.; Karlow, B. J.; Schneider, J. E. How Alkyl Halide Structure Affects E2 and SN2 Reaction Barriers: E2 Reactions Are as Sensitive as

SN2 Reactions. **J. Org. Chem.**, v.79, n.3, p.867–879, 2014. DOI: [10.1021/jo4026644](https://doi.org/10.1021/jo4026644).

Raddatz, R.; Hudkins, R. L.; Mathiasen, J. R.; Gruner, J. A.; Flood, D. G.; Aimone, L. D.; Le, S.; Schaffhauser, H.; Duzic, E.; Gasior, M.; Bozyczko-Coyne, D.; Marino, M. J.; Ator, M. A.; Bacon, E. R.; Mallamo, J. P.; Williams, M. CEP-26401 (irdabisant), a potent and selective histamine H₃ receptor antagonist/inverse agonist with cognition-enhancing and wake-promoting activities. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.340, n.1, p.124-33, 2012. DOI: [10.1124/jpet.111.186585](https://doi.org/10.1124/jpet.111.186585).

Rapanelli, M.; Frick, L.; Pogorelov, V.; Ohtsu, H.; Bito, H.; Pittenger, C. Histamine H₃R receptor activation in the dorsal striatum triggers stereotypies in a mouse model of tic disorders. **Transl Psychiatry.**, v.7, n.1, e1013, 2017. DOI: [10.1038/tp.2016.290](https://doi.org/10.1038/tp.2016.290).

Reichel, A., Lienau, P. Pharmacokinetics in Drug Discovery: An Exposure-Centred Approach to Optimising and Predicting Drug Efficacy and Safety. **Handb Exp Pharmacol.**, v.232, p.235-60, 2016. DOI: [10.1007/164_2015_26](https://doi.org/10.1007/164_2015_26).

Reid, G. A.; Chilukuri, N.; Darvesh, S. Butyrylcholinesterase and the cholinergic system. **Neurosci.**, v.234, p.53-68, 2013. DOI: [10.1016/j.neuroscience.2012.12.054](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.12.054).

Riddy, D. M.; Cook, A. E.; Shackleford, D. M.; Pierce, T. L.; Mocaer, E.; Mannoury la Cour, C.; Sors, A.; Charman, W. N.; Summers, R. J.; Sexton, P. M.; Christopoulos, A.; Langmead, C. J. Drug-receptor kinetics and sigma-1 receptor affinity differentiate clinically evaluated histamine H₃ receptor antagonists. **Neuropharmacology.**, v.144, p.244-255, 2019. DOI: [10.1016/j.neuropharm.2018.10.028](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.10.028).

Robbins, T. W. Cognition: the ultimate brain function. **Neuropsychopharmacol.**, v.36, n.1, p.1-2, 2011. DOI: [10.1038/npp.2010.171](https://doi.org/10.1038/npp.2010.171).

Rolls, E. T. The cingulate cortex and limbic systems for emotion, action, and memory. **Brain Struct Funct.**, v.224, n.9, p.3001-3018, 2019. DOI: [10.1007/s00429-019-01945-2](https://doi.org/10.1007/s00429-019-01945-2).

Rosch, K. S.; Mostofsky, S. Development of the frontal lobe. **Handb Clin Neurol.**, v.163, p.351-367, 2019. DOI: [10.1016/B978-0-12-804281-6.00019-7](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804281-6.00019-7).

Sadek, B.; Saad, A.; Sadeq, A.; Jalal, F.; Stark, H. Histamine H₃ receptor as a potential target for cognitive symptoms in neuropsychiatric diseases. **Behav Brain Res.**, v.312, p.415–430, 2016. DOI: [10.1016/j.bbr.2016.06.051](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.051).

Sağlık, B. N.; Levent, S.; Osmaniye, D.; Çevik, U. A.; Çavuşoğlu, B. K.; Özkay, Y.; Koparal, A. S.; Kaplancıklı, Z. A. Design, Synthesis, and Biological Activity Evaluation of New Donepezil-Like Compounds Bearing Thiazole Ring for the Treatment of Alzheimer's Disease. **Cryst.**, v. 10, n.8, p.637, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/cryst10080637>.

Sam, C.; Bordoni, B. Physiology, Acetylcholine. **StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls**, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557825/>>. Acesso em: 10 de nov. de 2023.

Sangal, A. **Advanced organic chemistry**. 1^a ed. Meerut: KRISHINA Prakashan Media (P) Ltd: India, 2010, p.431-438. Disponível em: <<https://chemistlibrary.files.wordpress.com/2015/07/advanced-organic-chemistry-4ed-2000-part-a-structure-and-mechanisms-carey-sundberg.pdf>>. Acesso em: 14 de fev. de 2024.

Santos, G. S.; Sinoti, S. B. P.; de Almeida, F. T. C.; Silveira, D.; Simeoni, L. A.; Gomes-Copeland, K. K. P. Use of galantamine in the treatment of Alzheimer's disease and strategies to optimize its biosynthesis using the in vitro culture technique. **Plant Cell Tiss Organ Cult.**, v.143, p.13-29, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01911-5>.

Savjani, K. T.; Gajjar, A. K.; Savjani, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. **ISRN Pharmaceuticals.**, v.2012, ID:195727, p. 1–10, 2012. DOI: [10.5402/2012/195727](https://doi.org/10.5402/2012/195727).

Scammell, T. E.; Jackson, A. C.; Franks, N. P.; Wisden, W.; Dauvilliers, Y. Histamine: neural circuits and new medications. **Sleep.**, v.42, n.1, p.1-8, 2019. DOI: [10.1093/sleep/zsy183](https://doi.org/10.1093/sleep/zsy183).

Scarpa, M.; Hesse, S.; Bradley, S. J. M1 muscarinic acetylcholine receptors: A therapeutic strategy for symptomatic and disease-modifying effects in Alzheimer's

disease? *Advances in Pharmacology*, **Adv. Pharmacol.**, v.88 p.277-310, 2020. DOI: [10.1016/bs.apha.2019.12.003](https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.12.003).

Scarr, E.; Gibbons, A.; Neo, J.; Udawela, M.; Dean, B. Cholinergic connectivity: it's implications for psychiatric disorders. **Front Cell Neurosci.**, v.7, n.55 p.1-26, 2013. DOI: [10.3389/fncel.2013.00055](https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00055).

Sears, S. M.; Hewett, S. J. Influence of glutamate and GABA transport on brain excitatory/inhibitory balance. **Exp Biol Med (Maywood)**, v.246, n.9, p.1069-1083, 2021. DOI: [10.1177/1535370221989263](https://doi.org/10.1177/1535370221989263).

Seeger, T.; Fedorova, I.; Zheng, F.; Miyakawa, T.; Koustova, E.; Gomeza, J.; Basile, A. S.; Alzheimer, C.; Wess, J. M2 muscarinic acetylcholine receptor knock-out mice show deficits in behavioral flexibility, working memory, and hippocampal plasticity. **J Neurosci.**, v.24, n.45, p.10117-27, 2004. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.3581-04.2004](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3581-04.2004).

Shaker, B.; Ahmad, S.; Lee, J.; Jung, C.; Na, D. In silico methods and tools for drug discovery. **Comput. Biol. Med.**, v.137:104851, p.1-15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104851>.

Sharma, A.; Muresanu, D. F.; Patnaik, R.; Menon, P. K.; Tian, Z. R.; Sahib, S.; Castellani, R. J.; Nozari, A.; Lafuente, J. V.; Buzoianu, A. D.; Skaper, S. D.; Bryukhovetskiy, I.; Manzhulo, I.; Wiklund, L.; Sharma, H. S. Histamine H₃ and H₄ receptors modulate Parkinson's disease induced brain pathology. Neuroprotective effects of nanowired BF-2649 and clobenpropit with anti-histamine-antibody therapy. **Prog Brain Res.**, v.266, p.1–73, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2021.06.003>.

Sharma, G. S. D.; Eswaran, S. V. Substituent effect of the methoxy group: A matter of give and take. **Reson.**, v.2, n.3, p.73–75, 1997. DOI: [10.1007/bf02838971](https://doi.org/10.1007/bf02838971).

Sharma, K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). **Mol Med Rep.**, v.20, n.2, p.1479-1487, 2019. DOI: [10.3892/mmr.2019.10374](https://doi.org/10.3892/mmr.2019.10374).

Sharma, N.; Kumaria, P.; Sharmaa, P.; Bhagatb, N.; Bhagat, S. Ultrasound-Accelerated Amide Coupling Reactions Directed toward the Synthesis of 1-Acetyl-3-carboxamide- β -carboline Derivatives of Biological Importance. **SynOpen.**, v.1, p.8-10, 2017. DOI: [10.1055/s-0036-1588167](https://doi.org/10.1055/s-0036-1588167).

Sheffler, Z. M.; Reddy, V.; Pillarisetty, L. S. Physiology, Neurotransmitters. **StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls**, 2023. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539894/>>. Acesso em: 01 de dez. de 2023.

Shigeta, M.; Homma, A. Donepezil for Alzheimer's Disease: Pharmacodynamic, Pharmacokinetic, and Clinical Profiles. **CNS Drug Reviews.**, v.7, n.4, p.353–368, 2006. DOI:[10.1111/j.1527-3458.2001.tb0002](https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2001.tb0002).

Slack, R. J.; Russell, L. J.; Hall, D. A.; Luttmann, M. A.; Ford, A. J.; Saunders, K. A.; Hodgson, S. T.; Connor, H. E.; Browning, C.; Clark, K. L. Pharmacological characterization of GSK1004723, a novel, long-acting antagonist at histamine H(1) and H(3) receptors. **Br J Pharmacol.**, v.164, n.6, p.1627-41, 2011. DOI:[10.1111/j.1476-5381.2011.01285.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01285.x).

Smile, S. S.; Novanna, M.; Kannadasan, S.; Shanmugam, P. DMSO-allyl bromide: a mild and efficient reagent for atom economic one-pot *N*-allylation and bromination of 2°-aryl amines, 2-aryl aminoamides, indoles and 7-aza indoles. **RSC Adv.**, v.12, n.3, p.1834-1839, 2022 DOI: [10.1039/d1ra08588c](https://doi.org/10.1039/d1ra08588c).

Smith, M. B.; March, J. **March's advanced organic chemistry reactions, mechanisms, and structure**. 6^aed. Nova Jersey: Wiley-intersciencea john wiley & sons, inc., 2007. p.470-473. DOI: [10.1002/0470084960](https://doi.org/10.1002/0470084960).

Soliani, A.; Kubota, S. M.; Corrêa, M. F.; Cerutti, S. M.; Fernandes, J. P. S. Differential contribution of H₃R antagonism by LINS01 compounds on memory, anxiety-like behaviour and spontaneous locomotor activity in healthy rats. **Behav. Brain Res.**, v.377, n.112230, p.1-24, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112230>.

Sonawane, Rahul B.; Sonawane, Swapnali R.; Rasal, Nishant K.; Jagtap, Sangeeta V. Room-Temperature, Base-Mediated Selective Synthesis of 2-(Arylamino)ethanols and 2-Aryloxyethanols. **SynOpen.**, v.3, n.4, p.124–137, 2019. DOI:[10.1055/s-0039-1690334](https://doi.org/10.1055/s-0039-1690334).

Speranza, L.; di Porzio, U.; Viggiano, D.; de Donato, A.; Volpicelli, F. Dopamine: The Neuromodulator of Long-Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control. **Cells.**, v.10, n.4, p.735, 2021. DOI: [10.3390/cells10040735](https://doi.org/10.3390/cells10040735).

Spieler, D.; Namendorf, C.; Namendorf, T.; Von Cube, M.; Uhr, M. Donepezil, a cholinesterase inhibitor used in Alzheimer's disease therapy, is actively exported out of the brain by abcb1ab p-glycoproteins in mice. **J. Psychiatr. Res.**, v.124, p.29–33, 2020. DOI: [10.1016/j.jpsychires.2020.01](https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.01).

Stelitano, G.; Sammartino, J. C.; Chiarelli, L. R. Multitargeting Compounds: A Promising Strategy to Overcome Multi-Drug Resistant Tuberculosis. **Mol.**, v.25, n.1239, p.1-17, 2020. DOI: [10.3390/molecules25051239](https://doi.org/10.3390/molecules25051239).

Strakhova, M. I.; Nikkel, A. L.; Manelli, A. M.; Hsieh, G. C.; Esbenshade, T. A.; Brioni, J. D.; Bitner, R. S. Localization of histamine H₄ receptors in the central nervous system of human and rat. **Brain Res.**, v.1250, p.41–48., 2009. DOI: [10.1016/j.brainres.2008.11.018](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.11.018).

Strathern, L. Getting Graded: Teaching Principles of Chemical Synaptic Transmission Without Action Potentials. **J Undergrad Neurosci Educ.**, v.19, n.2, p.R28-30, 2021. PMID: [34552445](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34552445/).

Szczepańska, K.; Kuder, K.; Kiec-Kononowicz, K. Histamine H₃ Receptor Ligands in the Group of (Homo)piperazine Derivatives. **Curr Med Chem.**, v.25, n.14, p.1609-1626, 2018. DOI: [10.2174/0929867325666171123203550](https://doi.org/10.2174/0929867325666171123203550).

Tachikawa, H.; Igarashi, M.; Nishihira, J.; Ishibashi, T. Ab initio model study on acetylcholinesterase catalysis: potential energy surfaces of the proton transfer reactions. **J Photochem Photobiol B.**, v.79, n.1, p.11–23, 2005. DOI: [10.1016/j.jphotobiol.2004.11](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2004.11).

Talevi, A. Multi-target pharmacology: possibilities and limitations of the "skeleton key approach" from a medicinal chemist perspective. **Front Pharmacol.**, v.6, n.205, p.1-7, 2015. DOI: [10.3389/fphar.2015.00205](https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00205).

Teleanu, R. I.; Niculescu, A. G.; Roza, E.; Vladâcenco, O.; Grumezescu, A. M.; Teleanu, D. M. Neurotransmitters-Key Factors in Neurological and Neurodegenerative Disorders of the Central Nervous System. **Int J Mol Sci.**, v.23, n.11, p.1-24, 2022. DOI: [10.3390/ijms23115954](https://doi.org/10.3390/ijms23115954).

Testa, B.; Crivori, P.; Reist, M.; Carrupt, P.-A. The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: concepts and examples. **Perspect Drug Discov Des.**, v.19, n.1, p.179–211, 2000. DOI: [10.1023/a:1008741731244](https://doi.org/10.1023/a:1008741731244).

Thangam, E. B.; Jemima, E. A.; Singh, H.; Baig, M. S.; Khan, M.; Mathias, C. B.; Church, M. K.; Saluja, R. The Role of Histamine and Histamine Receptors in Mast Cell-Mediated Allergy and Inflammation: The Hunt for New Therapeutic Targets. **Front Immunol.**, v.9, n.1873, p.1-9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01873>.

Topolov, M. K.; Getova, D. P. Cognitive Impairment in Schizophrenia, Neurotransmitters, and the New Atypical Antipsychotic Aripiprazole. **Folia Med.**, v.58, n.1, p.12-18, 2016. DOI: [10.1515/folmed-2016-0002](https://doi.org/10.1515/folmed-2016-0002).

Tumiatti, V.; Minarini, A.; Bolognesi, M. L.; Milelli, A.; Rosini, M.; Melchiorre, C. Tacrine Derivatives and Alzheimers Disease. **Curr.Med.Chem.**, v.17, n.17, p.1825–1838, 2010. DOI: [10.2174/092986710791111206](https://doi.org/10.2174/092986710791111206).

Trofimiuk, E.; Wielgat, P.; Car, H. Selective H₃ Antagonist (ABT-239) Differentially Modifies Cognitive Function Under the Impact of Restraint Stress. **Front Syst Neurosci.**, v.14, n.614810, p.1-12, 2021. DOI: [10.3389/fnsys.2020.614810](https://doi.org/10.3389/fnsys.2020.614810).

Trzeciakowski, J. P. Inhibition of guinea pig ileum contractions mediated by a class of histamine receptor resembling the H₃ subtype. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.243, n.3, p.874–880, 1987. PMID: [2826760](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2826760/).

U.S. National Library of Medicine. A Study to Evaluate Safety, and Efficacy of SUVN-G3031 (Samelisant) in Patients with Narcolepsy with and without Cataplexy (SUVN-G3031). **ClinicalTrials.gov**, 2023. Disponível em: <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04072380> >. Acesso em: 07/02/2024.

Vachha, B. A.; Massoud, T. F.; Huang, S. Y. Anatomy of the Cerebral Cortex, Lobes, and Cerebellum. **Neuroimaging Clin N Am.**, v.32, n.3, p.463-473, 2022. DOI: [10.1016/j.nic.2022.04.008](https://doi.org/10.1016/j.nic.2022.04.008).

Van Staalduinen, E. K.; Zeineh, M. M. Medial Temporal Lobe Anatomy. **Neuroimaging Clin N Am.**, v.32, n.3, p.475-489, 2022. DOI: [10.1016/j.nic.2022.04.012](https://doi.org/10.1016/j.nic.2022.04.012).

Velloso, M. H. R.; Nogueira, C. M.; Araújo, D. P. Estudos de docking molecular da interação de Bis-purinas com acetilcolinesterase para o tratamento da Doença de Alzheimer. **Health and Biosc.**, v.1, n.2, p.101-118, 2020. Disponível em: <<https://periodicos.ufes.br/healthandbiosciences/article/view/31794>>. Acesso em: 14 fev, 2024.

Ventura, A. L. M.; Abreu, P. A.; Freitas, R. C. C.; Sathler, P. C.; Loureiro, N.; Castro, H. C. Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Arch Clin Psychiatry.**, v.37, n.2, p.66–72, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-60832010000200007>.

Vermeeren, P.; Hansen, T.; Grasser, M.; Silva, D. R.; Hamlin, T. A.; Bickelhaupt, F. M. S_N2 versus E2 Competition of F⁻ and PH₂⁻ Revisited. **J Org Chem.**, v.85, n.21, p.14087-14093, 2020. DOI: [10.1021/acs.joc.0c02112](https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c02112).

Viegas-Junior, C.; Danuello, A.; da Silva Bolzani, V.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Curr Med Chem.**, v.14, n.17, p.1829-52, 2017. DOI: [10.2174/092986707781058805](https://doi.org/10.2174/092986707781058805).

Vlasov, V. M. Effect of substituents in phenol and aniline nucleophiles on activation parameters in S_NAr reactions. **J. Phys. Org. Chem.**, v.22, n.8, p.756-760, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja00903a008>.

Von Bartheld, C. S.; Bahney, J.; Herculano-Houzel, S. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting. **J Comp Neurol.**, v.524, n.18, p.3865–3895, 2016. DOI: [10.1002/cne.24040](https://doi.org/10.1002/cne.24040).

Wang, D.; Noda, Y.; Zhou, Y.; Mouri, A.; Mizoguchi, H.; Nitta, A.; Chen, W.; Nabeshima, T. The Allosteric Potentiation of Nicotinic Acetylcholine Receptors by Galantamine Ameliorates the Cognitive Dysfunction in Beta Amyloid_{25–35} I.c.v.-Injected Mice: Involvement of Dopaminergic

Systems. **Neuropsychopharmacol.**; v.32, p.1261-1271, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301256>.

Wang, J; Hou, T. Recent Advances on Aqueous Solubility Prediction. **Comb. Chem. High Throughput Screen.**, v.14, n.5, p.328-38, 2011. DOI: [10.2174/138620711795508331](https://doi.org/10.2174/138620711795508331).

Wang, S. S.; Tam, J. P.; Wang, B. S.; Merrifield, R. B. Enhancement of peptide coupling reactions by 4-dimethylaminopyridine. **Int J Pept Protein Res.**, v.18, n.5, p.459-67, 1981. DOI: [10.1111/j.1399-3011.1981.tb03007.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1981.tb03007.x).

Wang, Y.; Meng, W.; Liu, Z.; An, Q.; Hu X. Cognitive impairment in psychiatric diseases: Biomarkers of diagnosis, treatment, and prevention. **Front Cell Neurosci.**, v.16, n.1046692, p.1-19, 2022. DOI: [10.3389/fncel.2022.1046692](https://doi.org/10.3389/fncel.2022.1046692).

Weisler, R. H.; Pandina, G. J.; Daly, E. J.; Cooper, K.; Gassmann-Mayer, C. 31001074-ATT2001 Study Investigators. Randomized clinical study of a histamine H₃ receptor antagonist for the treatment of adults with attention-deficit hyperactivity disorder. **CNS Drugs.**, v.26, n.5, p.421-34, 2012. DOI: [10.2165/11631990-000000000-00000](https://doi.org/10.2165/11631990-000000000-00000).

Wermuth, C. G. **The Practice of Medicinal Chemistry**. 3rded. Amsterdã: Elsevier, 2008. p. 549–571. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-374194-3.X0001-7>.

Wess, J. Novel insights into muscarinic acetylcholine receptor function using gene targeting technology. **Trends Pharmacol. Sci.**, v.24, n.8, p.414–420, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(03\)00195-0](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(03)00195-0).

Wildman, S. A.; Crippen, G. M. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. **J Chem Inf Comput Sci.**, v.39, n.5, p. 868–873, 1999. DOI: [10.1021/ci990307l](https://doi.org/10.1021/ci990307l).

Wiesner, J.; Kriz, Z.; Kuca, K.; Jun, D.; Koca, J. Acetylcholinesterases--the structural similarities and differences. **J Enzyme Inhib Med Chem.**, 2007 v.22, n.4, p.417-24, 2007. DOI: [10.1080/14756360701421294](https://doi.org/10.1080/14756360701421294).

Witkin, J. M.; Nelson, D. L. Selective histamine H₃ receptor antagonists for treatment of cognitive deficiencies and other disorders of the central nervous system. **Pharmacol Ther.**, v.103, n.1, p.1-20, 2004. DOI: [10.1016/j.pharmthera.2004.05.001](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2004.05.001).

Xing, S.; Li, Q.; Xiong, B.; Chen, Y.; Feng, F.; Liu, W.; Sun, H. Structure and therapeutic uses of butyrylcholinesterase: Application in detoxification, Alzheimer's disease, and fat metabolism. **Med Res Ver.**, v.41, n.2, p.858–901, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/med.21745>.

Xu, Y.; Yan, J.; Zhou, P.; Li, J.; Gao, H.; Xia, Y.; Wang, Q. Neurotransmitter receptors and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **Prog Neurobiol.**, v.97, n.1, p.1-13, 2012. DOI: [10.1016/j.pneurobio.2012.02.002](https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.02.002).

Yerdelen, K. O.; Koca, M.; Anil, B.; Sevindik, H.; Kasap, Z.; Halici, Z.; Turkeydin, K.; Gunesacar, G. Synthesis of donepezil-based multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. **Bioorg Med Chem Lett.**, v.25, n.23, p.5576-82, 2015. DOI: [10.1016/j.bmcl.2015.10.051](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.10.051).

Yin, Q.; Johnson, E. L.; Tang, L.; Auguste, K. I.; Knight, R.T.; Asano, E.; Ofen, N. Direct brain recordings reveal occipital cortex involvement in memory development. **Neuropsychologia.**, v.148, n.107625, p.1-26, 2020. DOI: [10.1016/j.neuropsychologia.2020.107625](https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2020.107625).

Yoshikawa, T.; Nakamura, T.; Yanai, K. Histaminergic neurons in the tuberomammillary nucleus as a control centre for wakefulness. **Br J Pharmacol.**, v.178, n.4, p.750-769, 2021. DOI: [10.1111/bph.15220](https://doi.org/10.1111/bph.15220).

Zachlod, D.; Kedo, O.; Amunts, K. Anatomy of the temporal lobe: From macro to micro. **Handb Clin Neurol.**, v.187, p.17-51, 2022. DOI: [10.1016/B978-0-12-823493-8.00009-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823493-8.00009-2).

Zhang, W.; Yamada, M.; Gomeza, J.; Basile, A. S.; Wess, J. Multiple muscarinic acetylcholine receptor subtypes modulate striatal dopamine release, as studied with M1-M5 muscarinic receptor knock-out mice. **J Neurosci.**, v.22, n.15, p.6347–6352, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-15-06347.2002>.

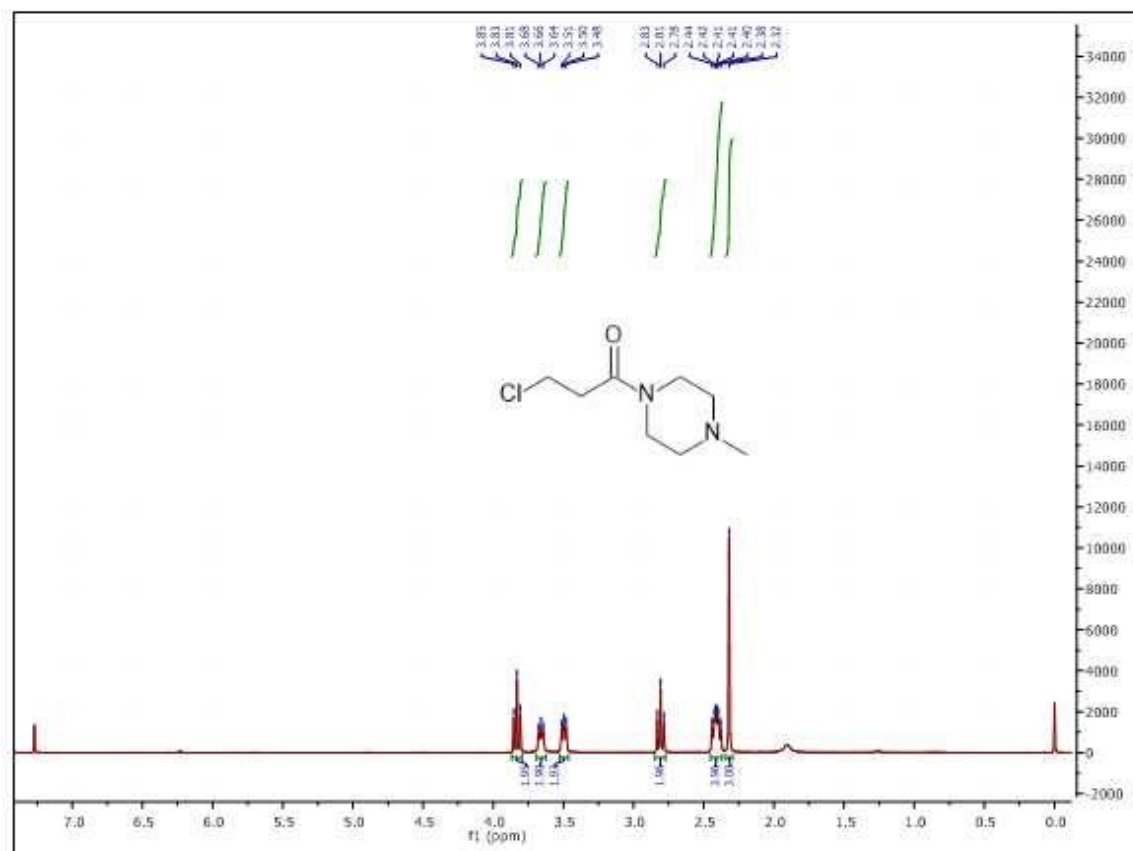
Zheng, Y.; Fan, L.; Fang, Z.; Liu, Z.; Chen, J.; Zhang, X.; Wang, Y.; Zhang, Y.; Jiang, L.; Chen, Z.; Hu, W. Postsynaptic histamine H₃ receptors in ventral basal forebrain cholinergic neurons modulate contextual fear memory. **Cell Rep.**, v.42, n.9:113073, p.1-23, 2023. DOI: [10.1016/j.celrep.2023.113073](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113073).

Zhong, S.; Ding, W.; Sun, L.; Lu, Y.; Dong, H.; Fan, X.; Liu, Z.; Chen, R.; Zhang, S.; Ma, Q.; Tang, F.; Wu, Q.; Wang, X. Decoding the development of the human hippocampus. **Nature.**, v.577, n.7791, p.531–536, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1917-5>.

Zhou, S.; Huang, G. The biological activities of butyrylcholinesterase inhibitors. **Biomed. Pharmacother.**, v.146, n.112556, p.1-10, 2022. DOI: [10.1016/j.biopha.2021.112556](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112556).

APÊNDICE

3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1a):

ESPECTRO 1 – Espectro de RMN ^1H do 3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1a):

Fórmula molecular: $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}$

PM: 190,67 g/mol

Rendimento: 19%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 14 – Dados de RMN ^1H do 3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (**1a**).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 3,83 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,69 – 3,63 (m, 2H), 3,53 – 3,46 (m, 2H), 2,81 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,38 – 2,44 (m, 4H), 2,32 (s, 3H).

3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1a):

ESPECTRO 2 – Espectro de RMN ^{13}C do 3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1a):

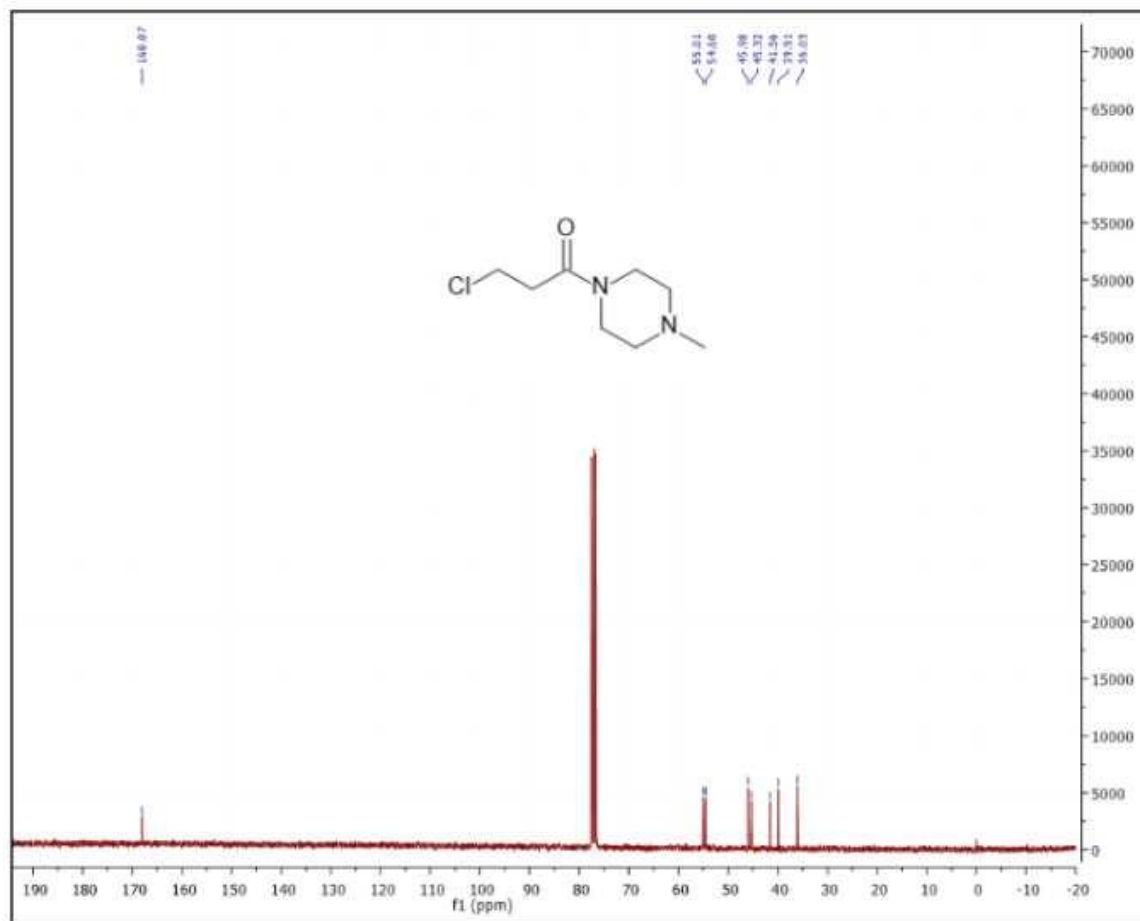


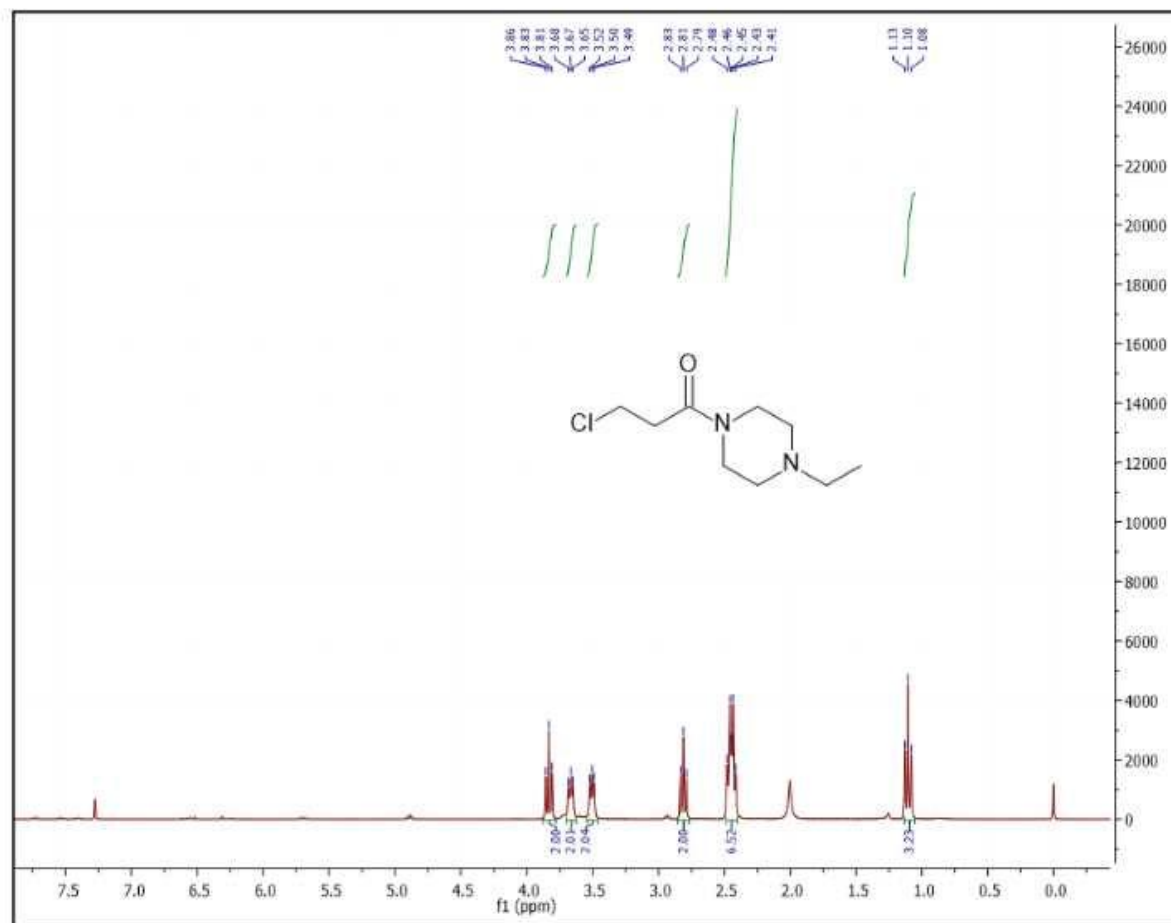
Tabela 15 – Dada de RMN ^{13}C do ácido 3-cloro-1-4-(metilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1a).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 168,07, 55,01, 54,60, 45,98, 45,32, 41,56, 39,91, 36,03.

3-cloro-1-4-(etilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1b):

ESPECTRO 3 – Espectro de RMN ^1H do 3-cloro-1-4-(etilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1b):



Fórmula molecular: $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}$

PM: 204,69 g/mol

Rendimento: 29%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 16 – Dados de RMN ^1H do 3-cloro-1-4-(etilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1b).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 3,83 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 3,70 – 3,62 (m, 3H), 3,54 – 3,46 (m, 3H), 2,81 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 2,49 – 2,40 (m, 10H), 1,10 (t, $J = 7,2$ Hz, 5H).

3-cloro-1-4-(etilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1b):

ESPECTRO 4 – Espectro de RMN ^{13}C do 3-cloro-1-4-(etilpiperazin-1-il) propan-1-ona (1b):

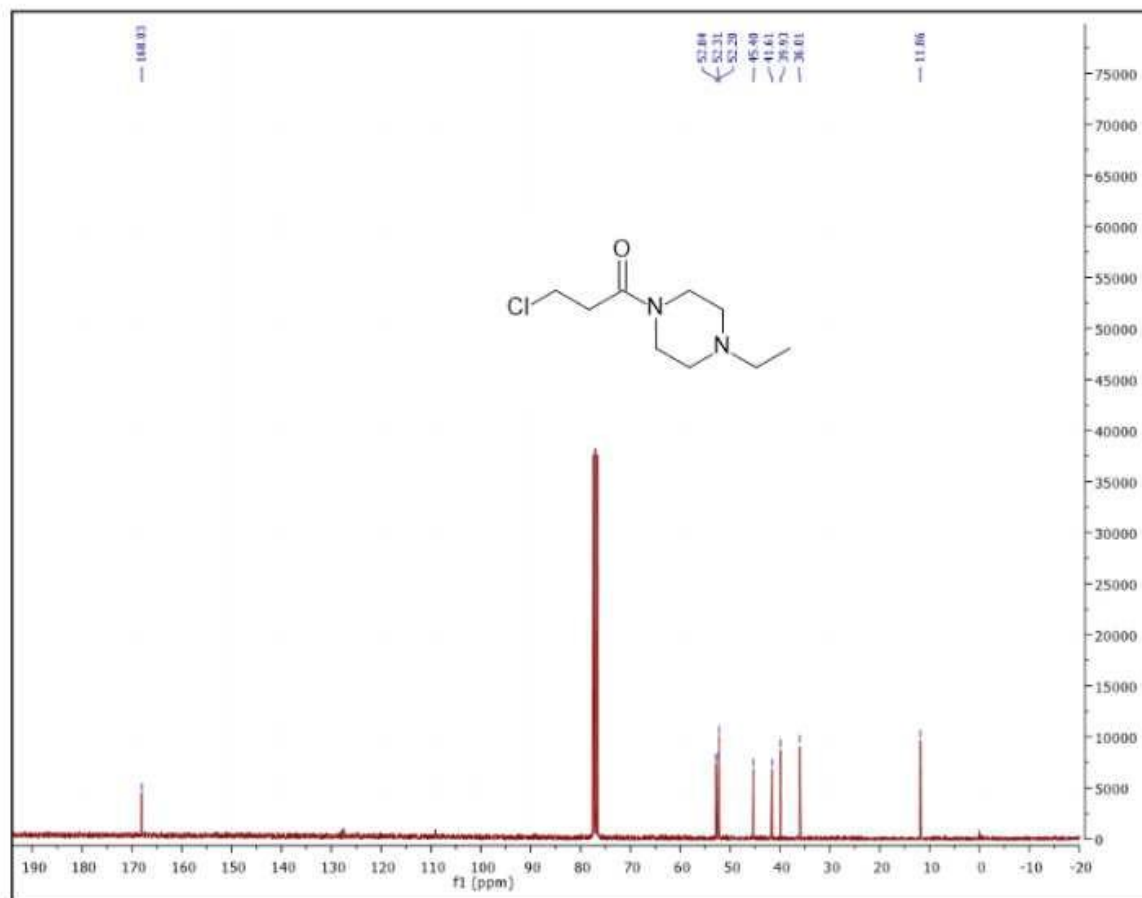


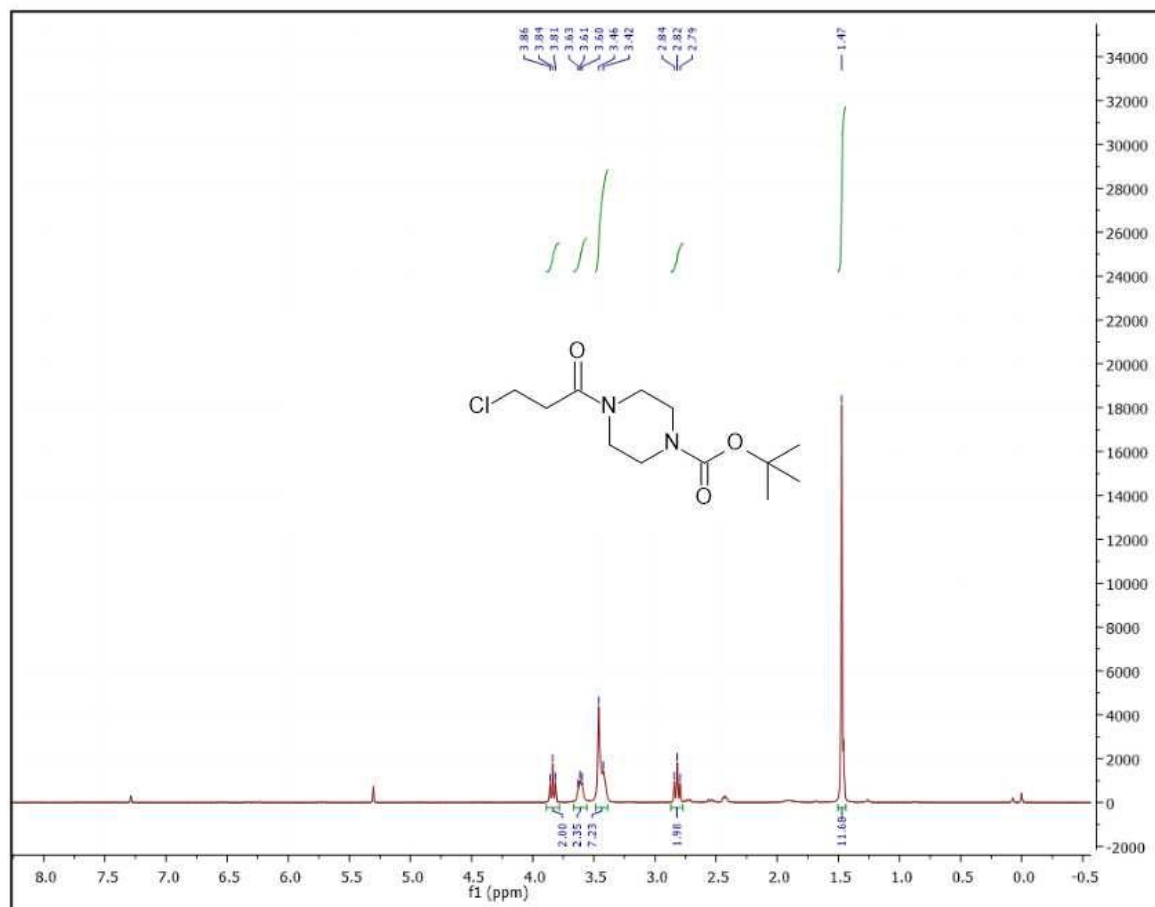
Tabela 17 – Dados de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (**1b**).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl $_3$) δ (ppm)

δ 168,03, 52,84, 52,26, 45,40, 41,61, 39,93, 36,01, 11,86.

t-butil 4-(3-cloropropanoil)piperazina-1-carboxilato (1c):

ESPECTRO 5 – Espectro de RMN ^1H do *t*-butil 4-(3-cloropropanoil)piperazina-1-carboxilato (1c):



Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_3$

PM: 276,75 g/mol

Rendimento: 50%

Aspecto: sólido amarelado

Tabela 18 – Dados de RMN ^1H do *t*-butil 4-(3-cloropropanoil) piperazina-1-carboxilato (1c).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 3,84 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H), 3,67 – 3,56 (m, 1H), 3,44 (d, $J = 11,8$ Hz, 3H), 2,82 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H), 1,47 (s, 5H).

t-butil 4-(3-cloropropanoil)piperazina-1-carboxilato (1c):

ESPECTRO 6 – Espectro de RMN ^{13}C do *t*-butil 4-(3-cloropropanoil)piperazina-1-carboxilato (1c):

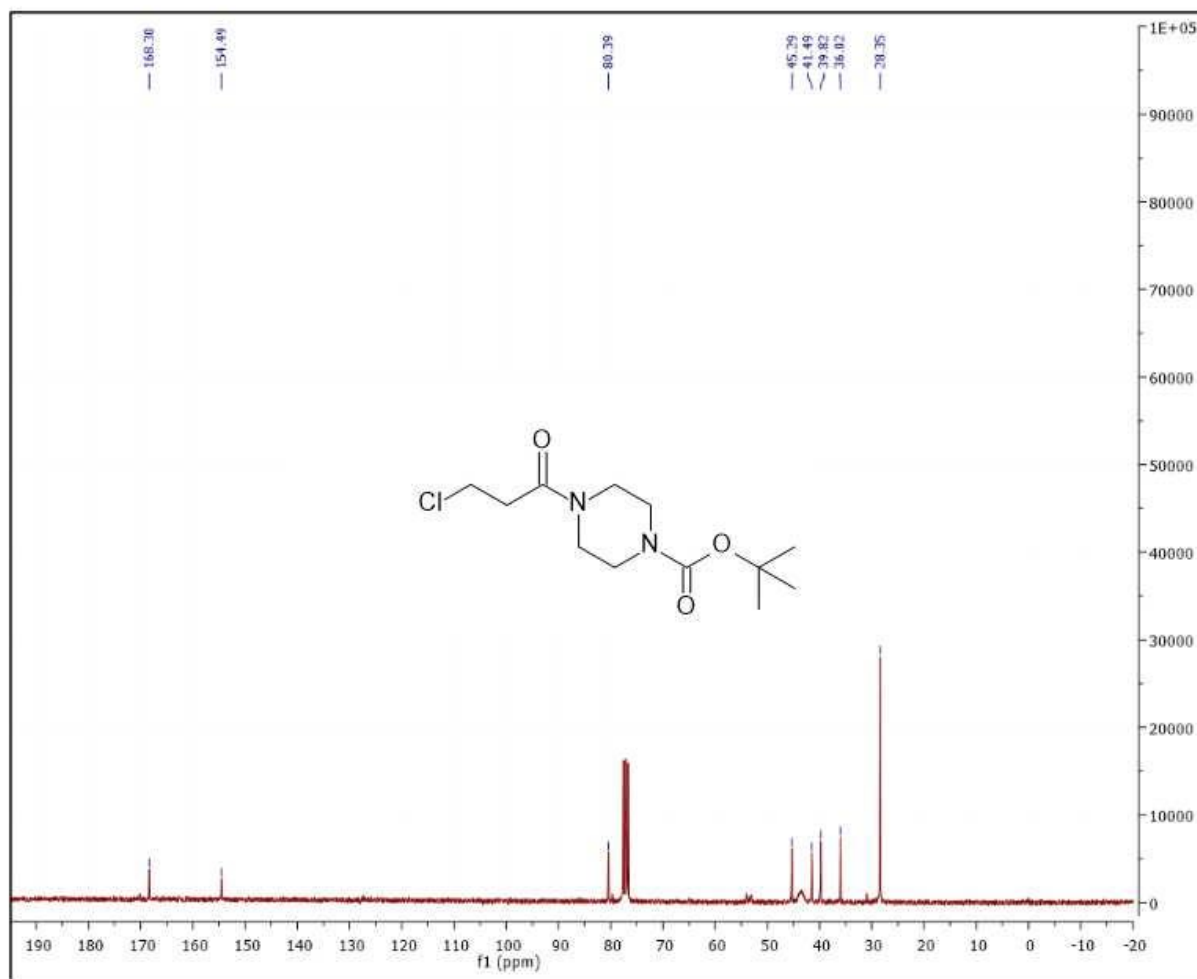


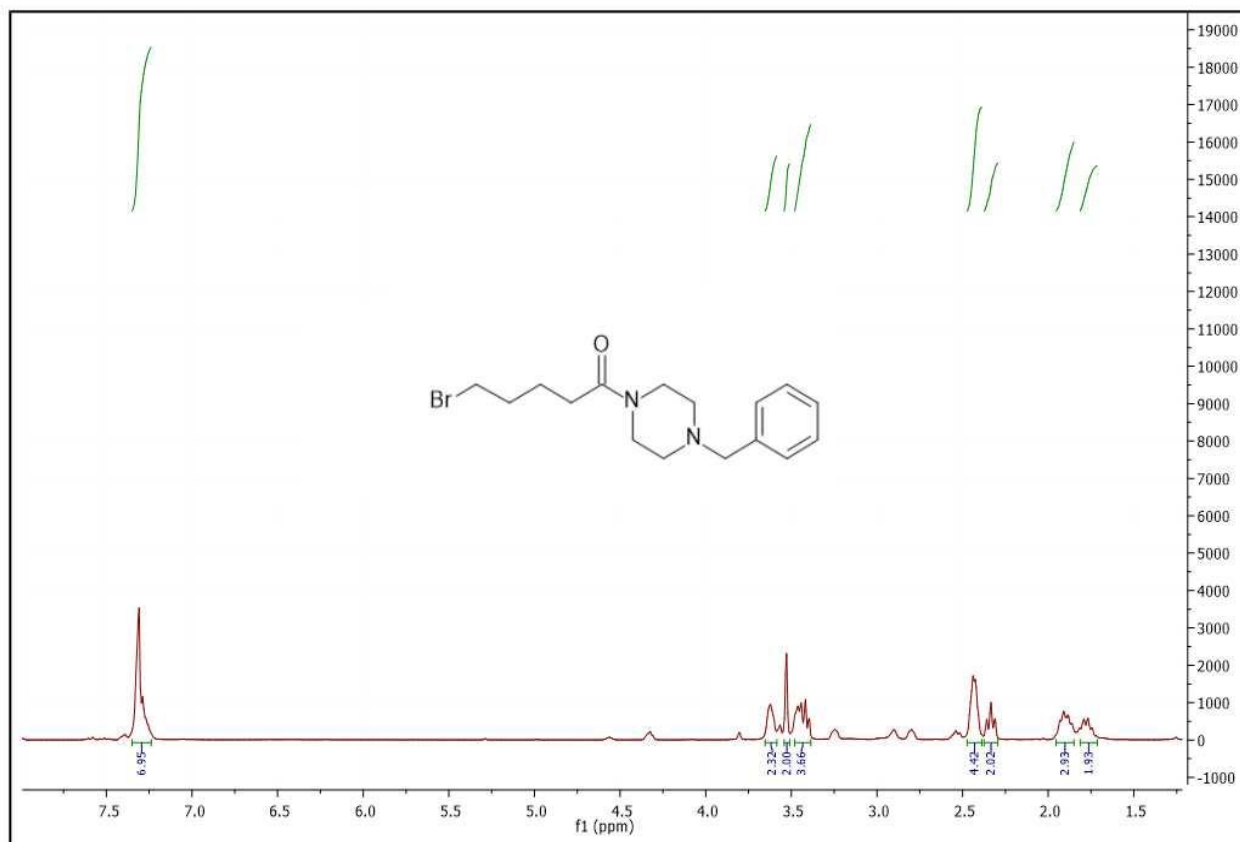
Tabela 19 – Dada de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (1c).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$

δ 168,30, 154,49, 80,39, 45,29, 41,49, 39,82, 36,02, 28,35.

1-4-benzilpiperazin-1-il)-5-bromo-pentan-1-ona (2a):

ESPECTRO 7 – Espectro de RMN ^1H do 1-4-benzilpiperazin-1-il) -5-bromo-pentan-1-ona (2a):



Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{BrN}_2\text{O}$

PM: 339,27 g/mol

Rendimento: 37%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 20 – Dados de RMN ^1H do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -5-bromo-pentan-1-ona (2a).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,34 – 7,28 (m, 5H), 3,65 – 3,59 (t, 2H), 3,52 (s, 2H), 3,48 – 3,39 (m, 4H), 2,43 (d, $J = 8,3, 3,9$ Hz, 4H), 2,33 (t, $J = 9,5, 5,1$ Hz, 2H), 1,95 – 1,85 (m, 2H), 1,84 – 1,74 (m, 2H).

1-4-benzilpiperazin-1-il)-5-bromo-pentan-1-ona (2a):

ESPECTRO 8 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-4-benzilpiperazin-1-il) -5-bromo-pentan-1-ona (2a):

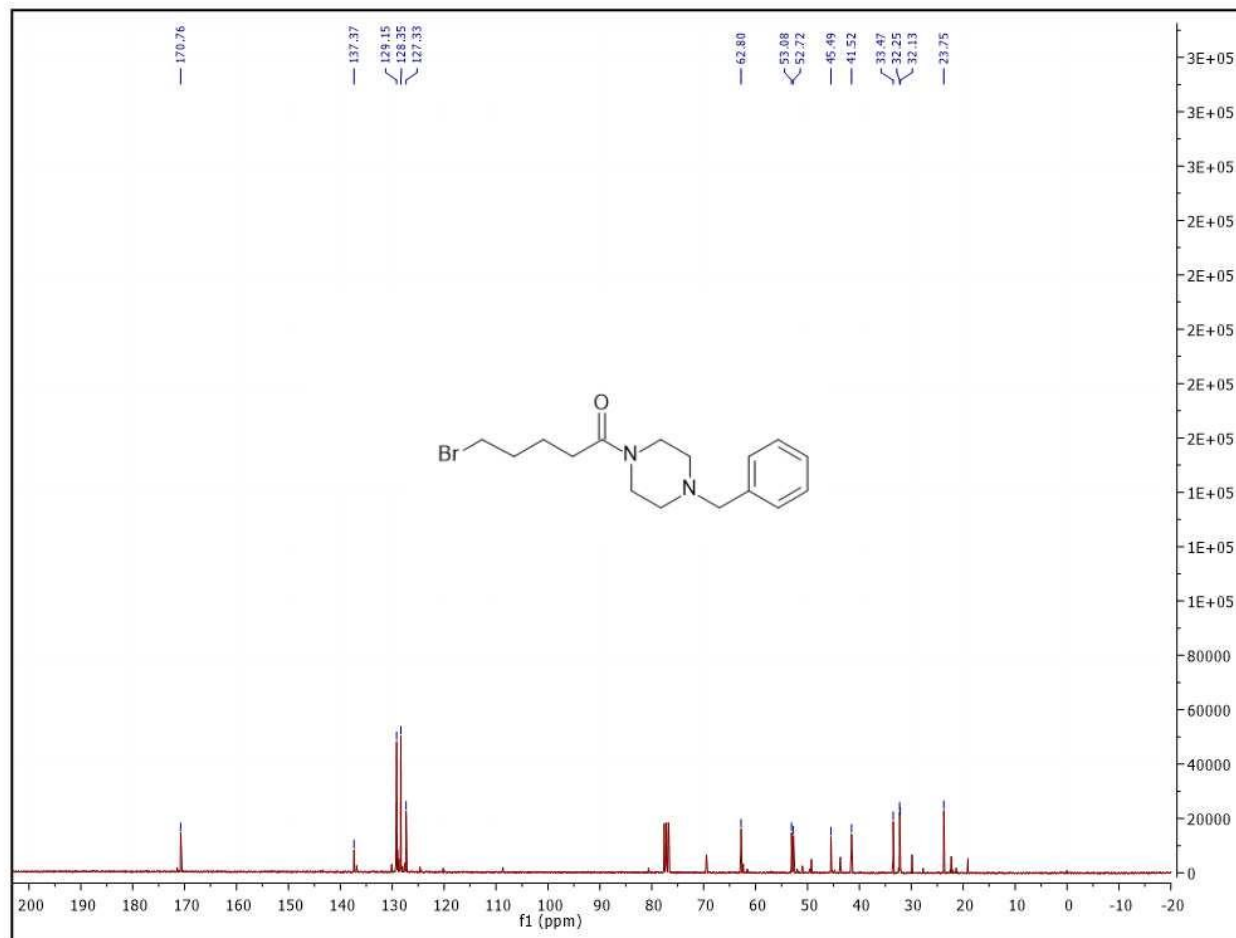


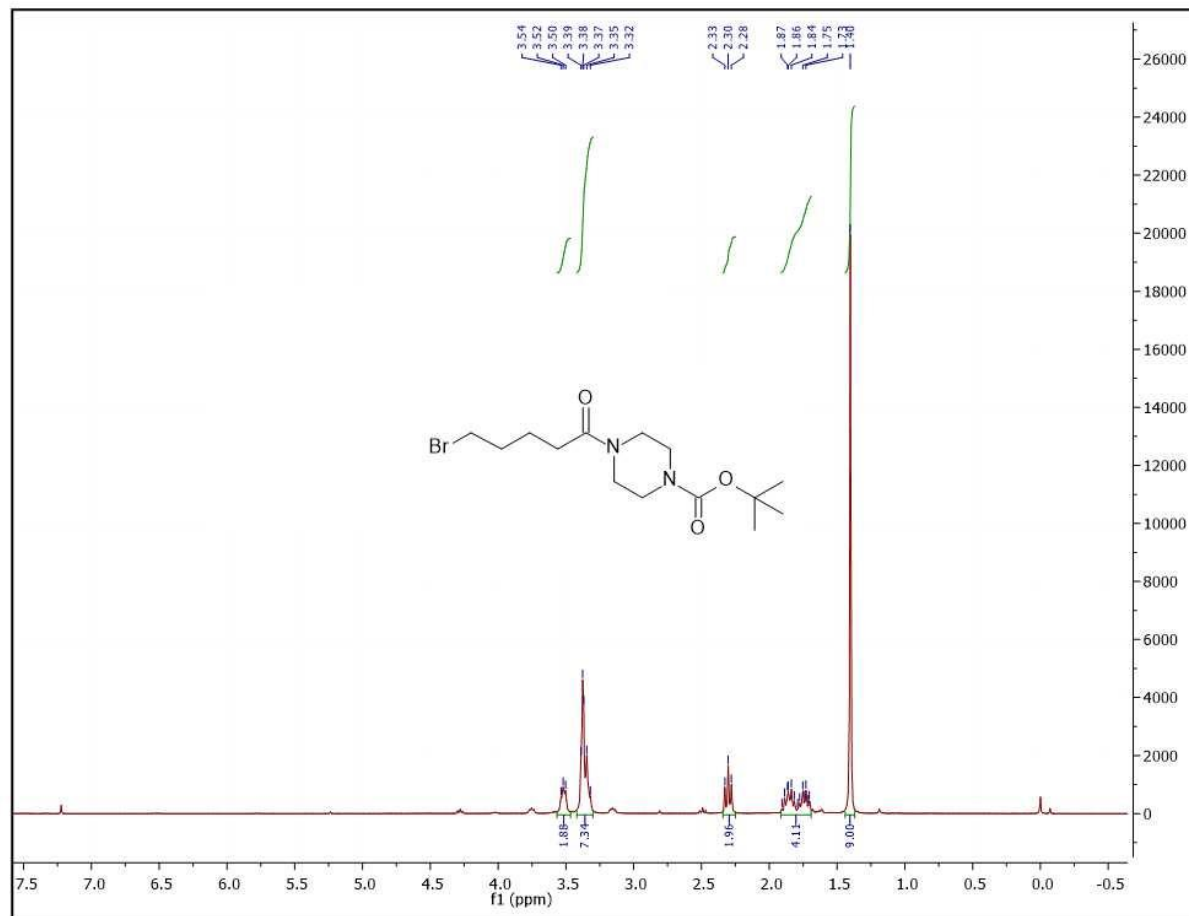
Tabela 21 – Dados de RMN ^{13}C do 4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (2a).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 170,76, 137,37, 129,15, 128,35, 127,33, 62,80, 53,08, 52,72, 45,49, 41,52, 33,47, 32,19, 23,75.

t-butil 4-(5-bromopentanoil) piperazina-1-carboxilato (**2b**):

ESPECTRO 9 – Espectro de RMN ^1H do *t*-butil 4-(5-bromopentanoil) piperazina-1-carboxilato (**2b**):



Fórmula molecular: $\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}_3$

PM: 349,26 g/mol

Rendimento: 85% (bruto)

Aspecto: sólido branco

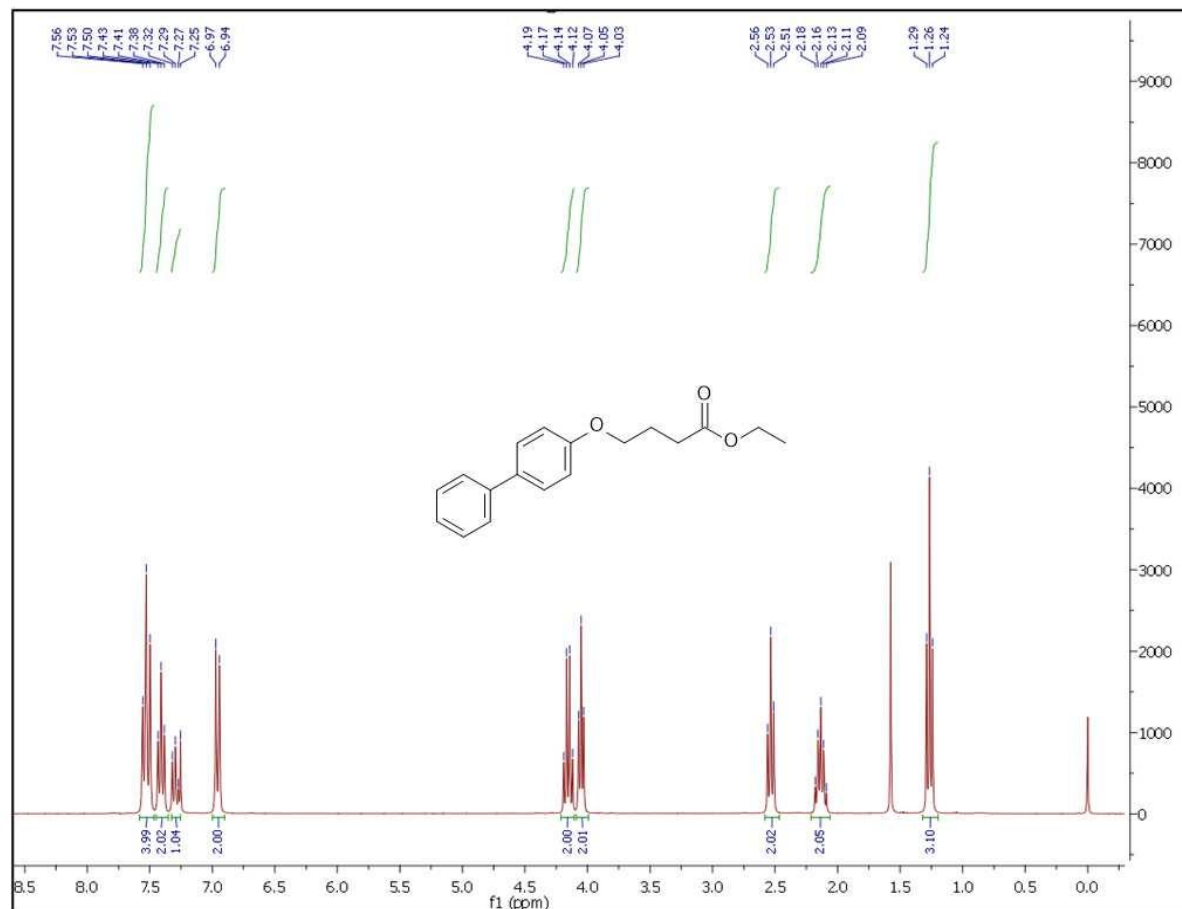
Tabela 22 – Dados de RMN ^1H do Tert-butil 4-(5-bromopentanoil) piperazina-1-carboxilato (**2b**).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 3,57 – 3,47 (t, 2H), 3,42 – 3,30 (m, 8H), 2,30 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,91 – 1,69 (m, 4H), 1,40 (s, 9H).

4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (3a):

ESPECTRO 10 – Espectro de RMN ^1H do 4-fenilfenóxi 4-butanoato de etila (3a):



Fórmula molecular: $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_3$

PM: 284,34 g/mol

Rendimento: 30%

Aspecto: Sólido branco

Tabela 23 – Dados de RMN ^1H do 4-fenilfenoxi 4-butanoato de etila (3a).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,53 (t, J = 8,8 Hz, 4H), 7,41 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,29 (t, J = 7,3 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,15 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,05 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,53 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,21 – 2,06 (m, 2H), 1,26 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (3a):

ESPECTRO 11 – Espectro de RMN ^{13}C do 4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (3a):

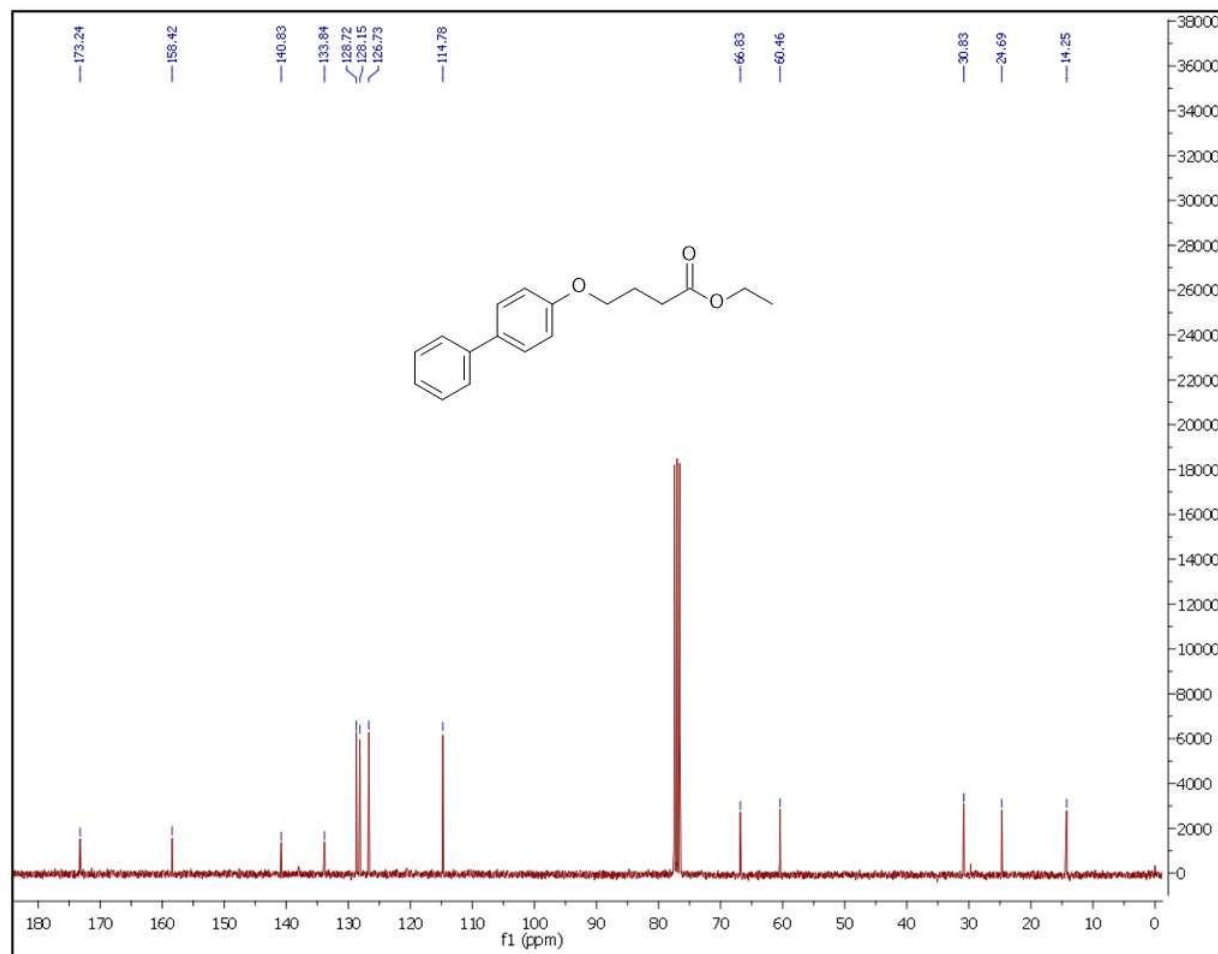


Tabela 24 – Dados de RMN ^{13}C do 4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (3a).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 173,24, 158,42, 140,83, 133,84, 128,72, 128,15, 126,73, 114,78, 66,83, 60,46, 30,83, 24,69, 14,25.

4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (3a):

CROMOATOGRAMA 1 – Cromatograma de massas do 4-(4-fenilfenoxi) butanoato de etila (3a):

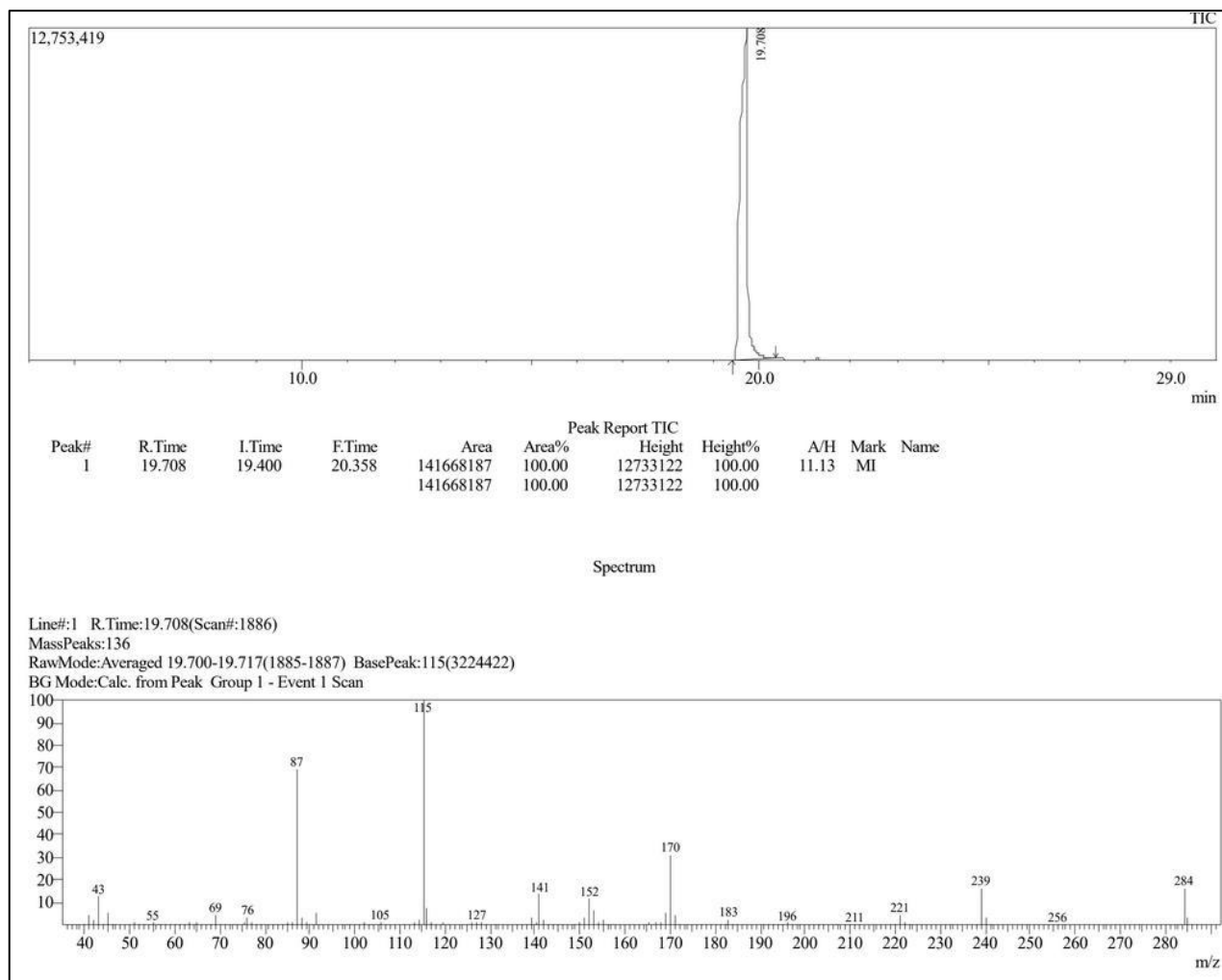


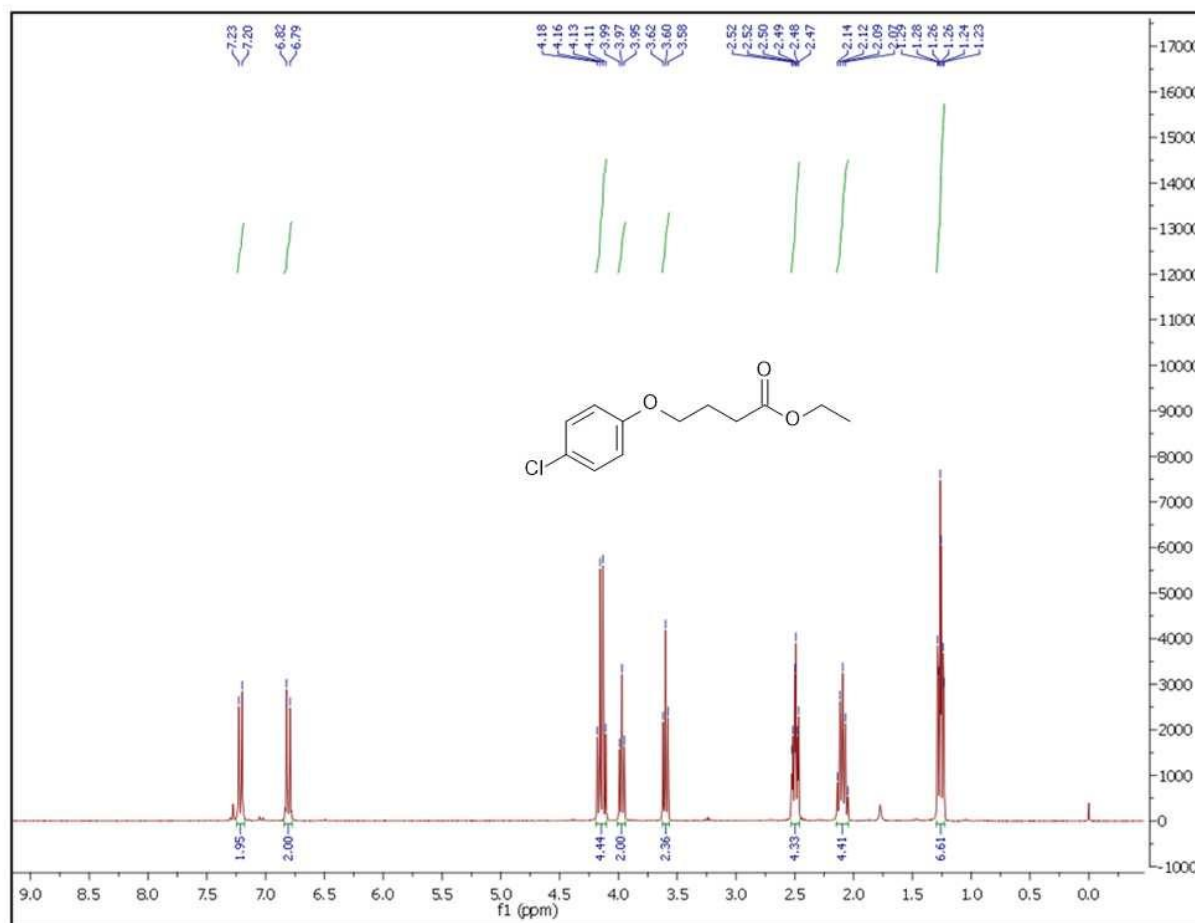
Tabela 25 – Dados de Cromatografia a gás acoplado à Espectrometria de massas (CG/MS) (3a).

Espectrometria de massas (EM)

GC/EMBR [M]⁺ 284 (20%), 239 (20%), 170 (35%), 115 (100%), 87 (70%), 43 (15%).

4-(4-clorofenoxi) butanoato de etila (3b):

ESPECTRO 12 - Espectro de RMN ^1H do 4-clorofenoxi 4-butanoato de etila (3b):



Fórmula molecular: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{ClO}_3$

PM: 242,69 g/mol

Rendimento: 65%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 26 – Dados de RMN ^1H do 4-clorofenoxi 4-butanoato de etila (3b).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,21 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 4,14 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,60 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 2,50 (td, J = 7,2, 2,7 Hz, 2H), 2,09 (p, J = 6,8 Hz, 2H), 1,26 (td, J = 7,1, 2,4 Hz, 3H).

4-(4-clorofenoxi) butanoato de etila (3b):

CROMATOGRAMA 2-Cromatograma de massas do 4-(4-clorofenoxi) butanoato de etila (3b):

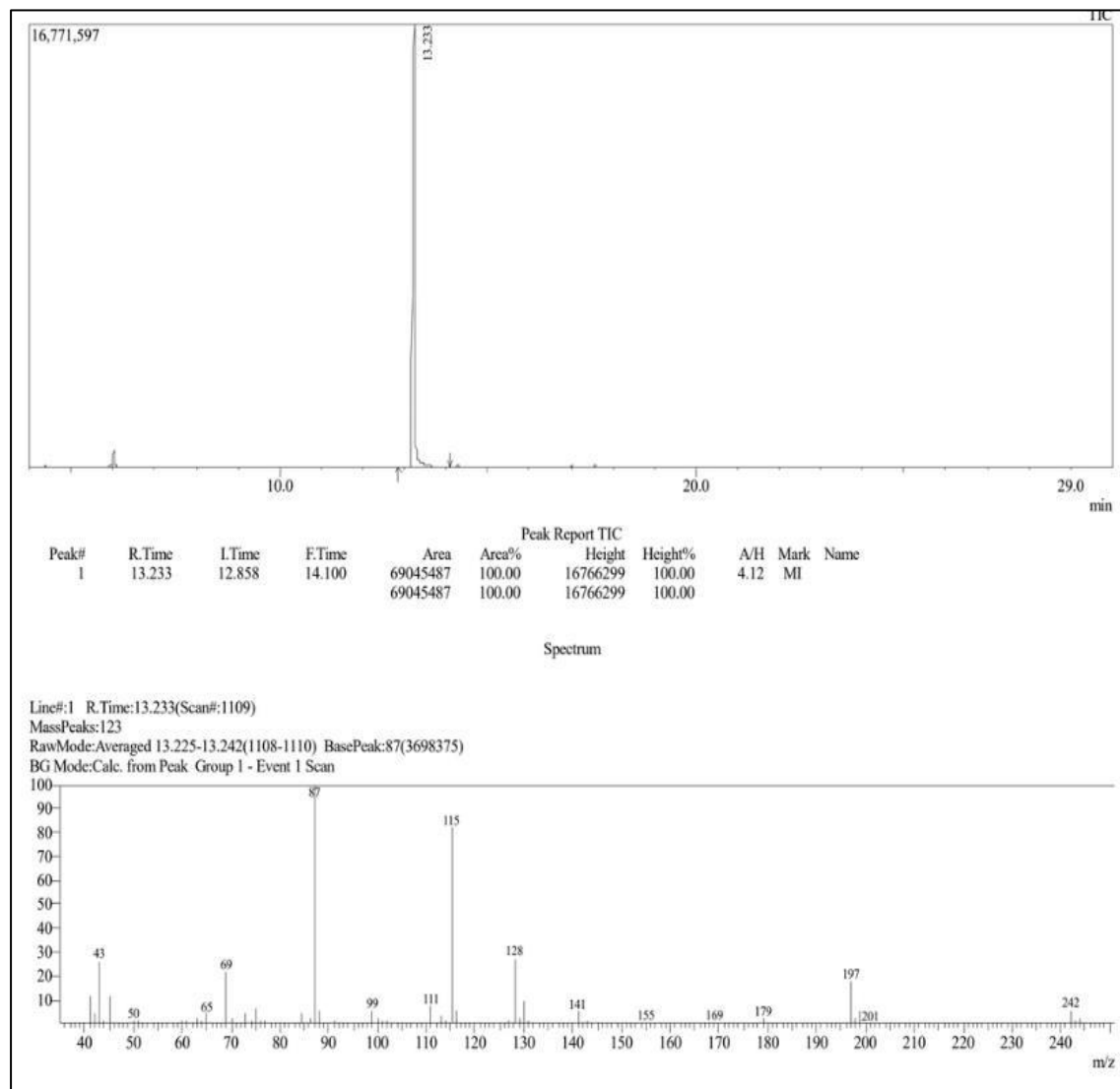


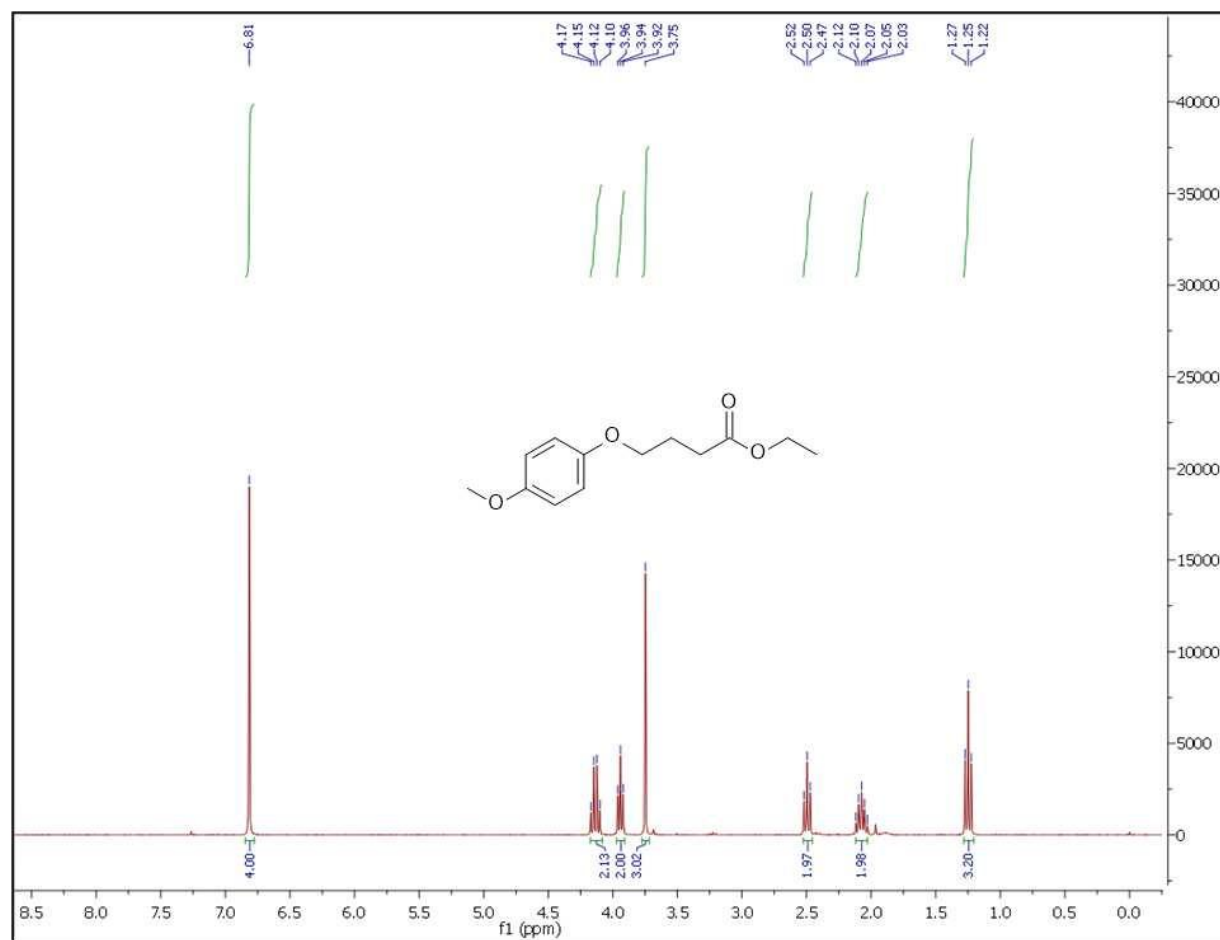
Tabela 27 – Dados de Cromatografia a gás acoplado à Espectrometria de massas (CG/MS) (3b).

Espectrometria de massas (EM)

CG/EMBR [M]⁺ 197 (20%), 128 (30%), 115 (75%), 87 (100%), 69 (20%), 43 (25%).

4-(4-metoxifenoxi) 4-butanoato de etila (3c):

ESPECTRO 13 - Espectro de RMN ^1H do 4-metoxifenoxi 4-butanoato de etila (3c):



Fórmula molecular: $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_4$

PM: 238,27 g/mol

Rendimento: 50%

Aspecto: óleo avermelhado

Tabela 28 – Dados de RMN ^1H 4-metoxifenoxi 4-butanoato de etila (3c).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 6,81 (s, 4H), 4,13 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,94 (t, $J = 6,1$ Hz, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,48 (t, 2H), 2,06 (dd, $J = 13,4, 7,0$ Hz, 2H), 1,25 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

4-(4-metoxifenoxi) 4-butanoato de etila (3c):

CROMATOGRAMA 3 - Cromatograma de massas do 4-metoxifenoxi 4-butanoato de etila (3c):

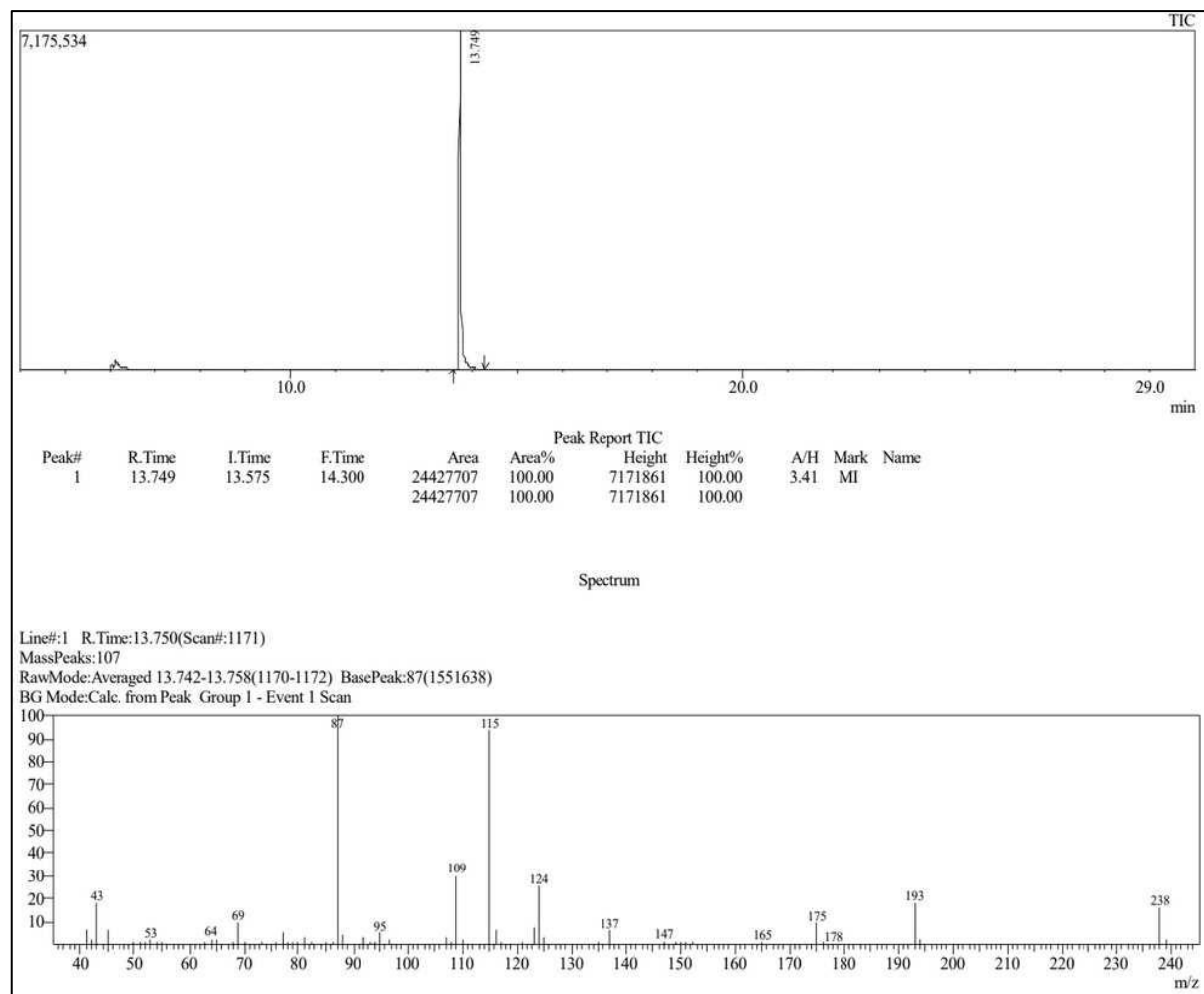


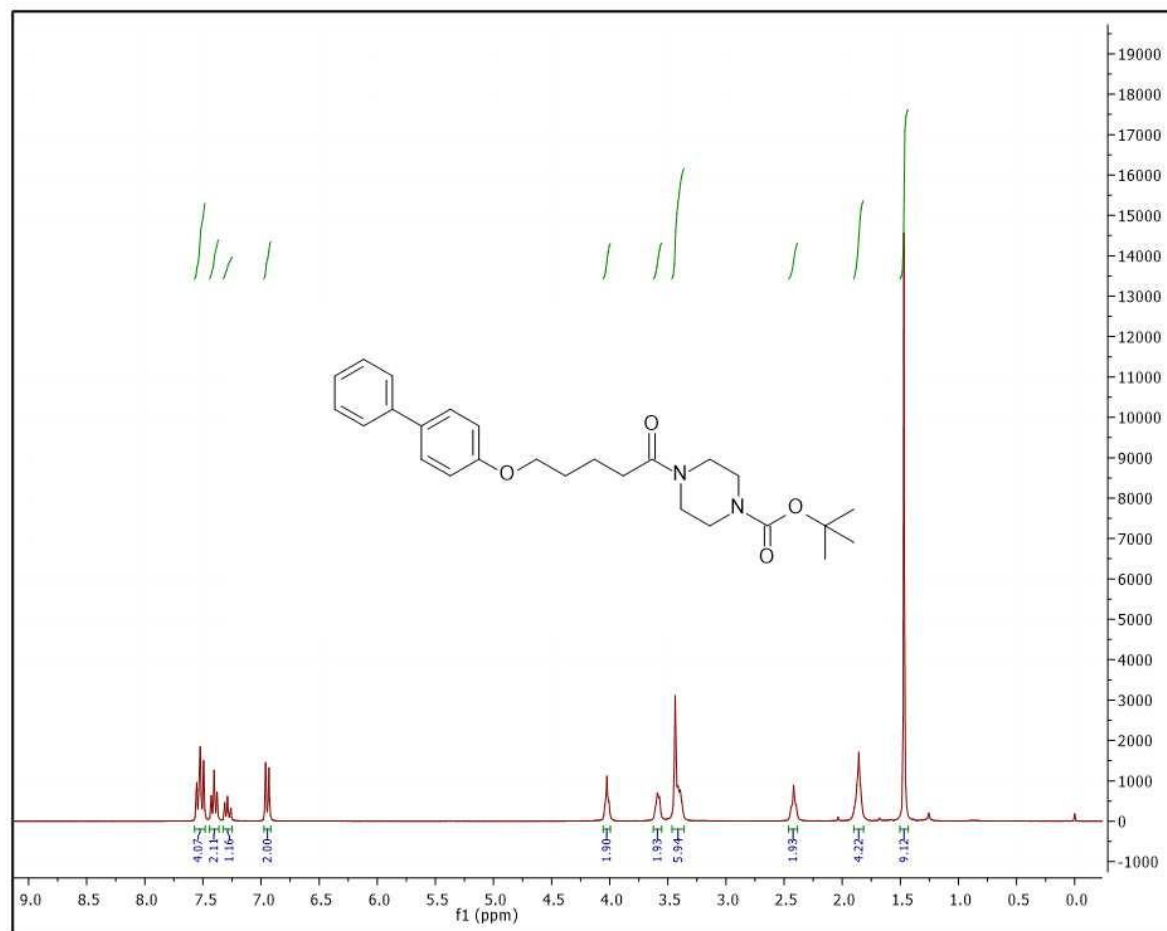
Tabela 29 – Dados de Cromatografia a gás acoplado à Espectrometria de massas (CG/MS) (3c).

Espectrometria de massas (EM)

GC/EMBR [M]⁺ 238 (20%), 193 (20%), 175 (10%), 124 (30%), 115 (95%), 109 (35%), 87 (100%), 69 (10%), 43 (20%).

t-Butil 4-[5-(4-fenilfenoxi)pentanoil]piperazina-1-carboxilato (4a):

ESPECTRO 14 – Espectro de RMN ^1H do *t*-Butil 4-[5-(4-fenilfenoxi)pentanoil]piperazina-1-carboxilato (4a):



Fórmula molecular: $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4$

PM: 438,55 g/mol

Rendimento: 6%

Aspecto: sólido branco

Tabela 30 – Dados de RMN ^1H do *t*-Butil 4-[5-(4-fenilfenoxi)pentanoil]piperazina-1-carboxilato (4a):

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,53 (dd, $J = 14,1, 5,1$ Hz, 4H), 7,40 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,28 (dd, $J = 11,9, 4,5$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,02 (d, $J = 5,4$ Hz, 2H), 3,62 – 3,55 (m, 2H), 3,46 – 3,36 (m, 6H), 2,42 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,90 – 1,82 (m, 4H), 1,47 (s, 9H).

***t*-Butil 4-[5-(4-fenilfenoxi)pentanoil]piperazina-1-carboxilato (4a):**

ESPECTRO 15 – Espectro de RMN ^{13}C do *t*-Butil 4-[5-(4-fenilfenoxi)pentanoil]piperazina-1-carboxilato (4a):

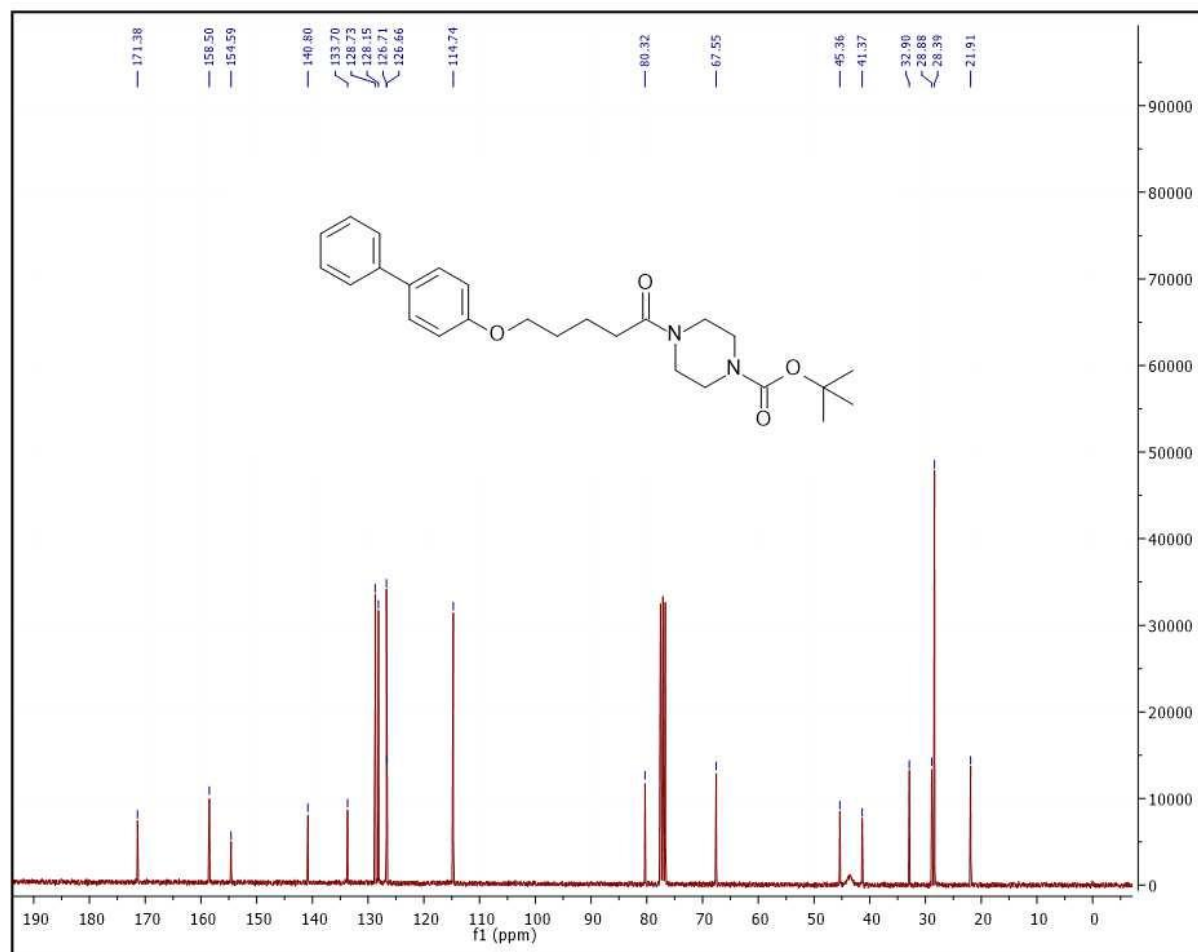


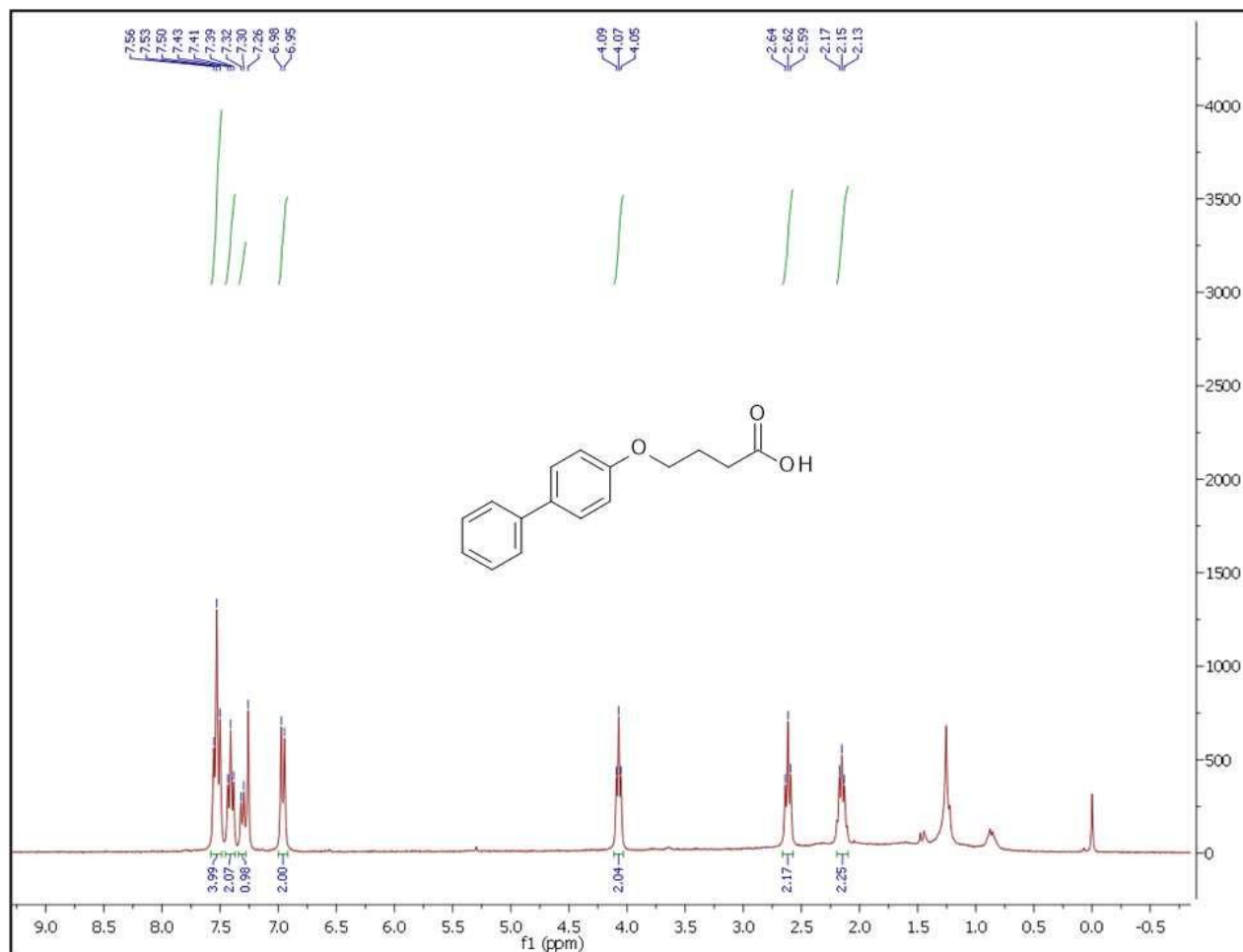
Tabela 31 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il)-4-(4-metoxifenoxi)butan-1-ona (4a).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCL₃) δ (ppm)

δ 171,38, 158,50, 154,59, 140,80, 133,70, 128,73, 128,15, 126,69 (d, J = 4 ,1 Hz), 114,74, 80,32, 67,55, 45,36, 41,37, 32,90, 28,88, 28,39, 21,91.

Ácido 4-(4-fenilfenoxi) butanóico (5a):

ESPECTRO 16 - Espectro de RMN ^1H do ácido 4-(4-fenilfenoxi) butanóico (5a):



Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3$

PM: 256,29 g/mol

Rendimento: 81%

Aspecto: sólido branco

Tabela 32 – Dados de RMN ^1H do ácido 4-(4-fenilfenoxi) butanóico (5a).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,53 (t, $J = 8,2$ Hz, 4H), 7,41 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,31 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,96 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,07 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 2,62 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,20 – 2,10 (m, 2H).

Ácido 4-(4-fenilfenoxi) butanóico (5a):

ESPECTRO 17 – Espectro de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-fenilfenoxi) butanóico (5a):

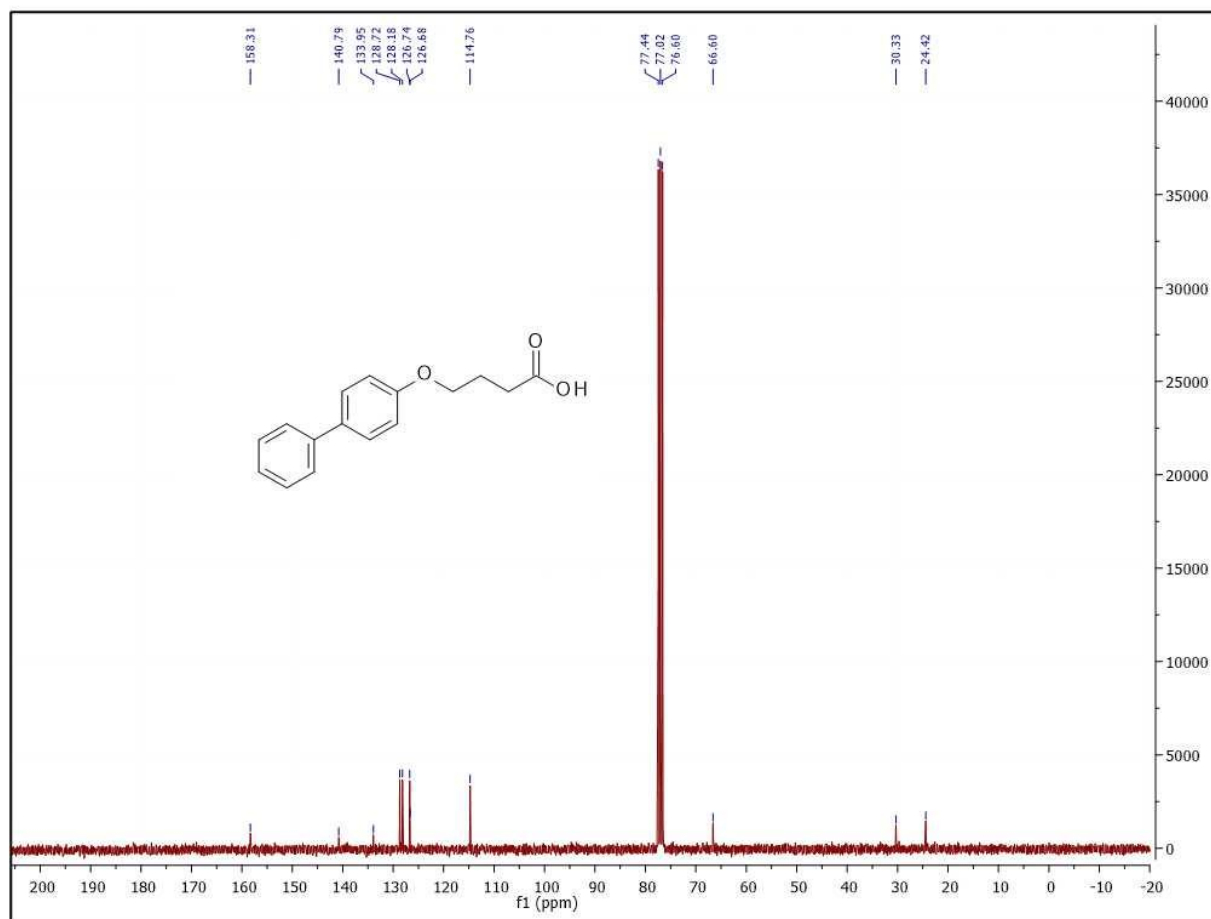


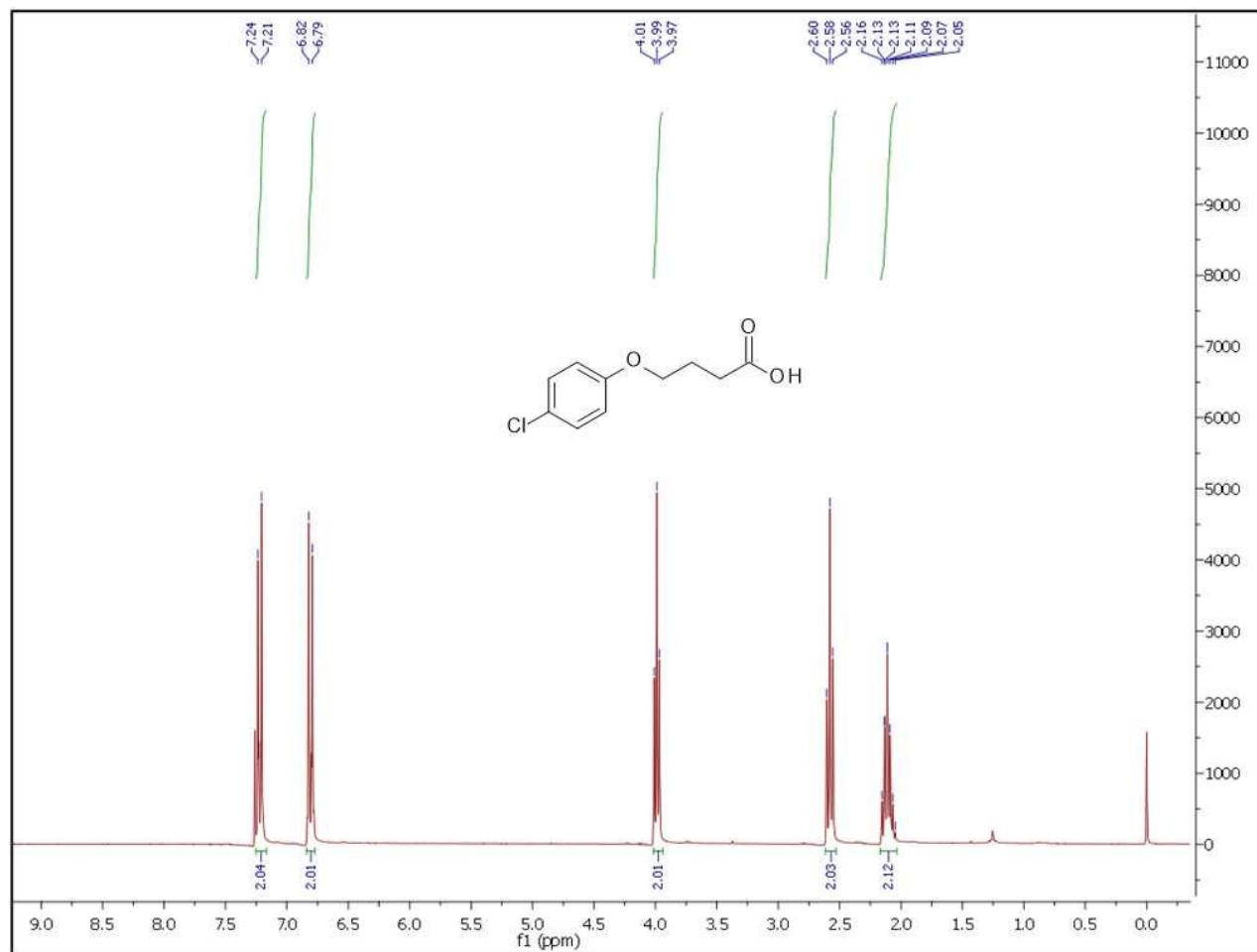
Tabela 33 – Dados de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-fenilfenóxi) butanóico (5a).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl₃) δ (ppm)

δ 128,72, 128,18, 126,71 (d, $J = 4,5$ Hz), 114,76, 77,44, 77,02, 76,60, 66,60, 30,33, 24,42.

Ácido 4- (4-clorofenóxi) butanóico (5b):

ESPECTRO 18 – Espectro de RMN ^1H do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (5b):



Fórmula molecular: $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{ClO}_3$

PM: 214,64 g/mol

Rendimento: 74%

Aspecto: sólido branco

Tabela 34 – Dados de RMN ^1H do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (5b).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,22 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 3,99 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,58 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,17 – 2,03 (m, 2H).

Ácido 4- (4-clorofenóxi) butanóico (5b):

ESPECTRO 19 – Espectro de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (5b):

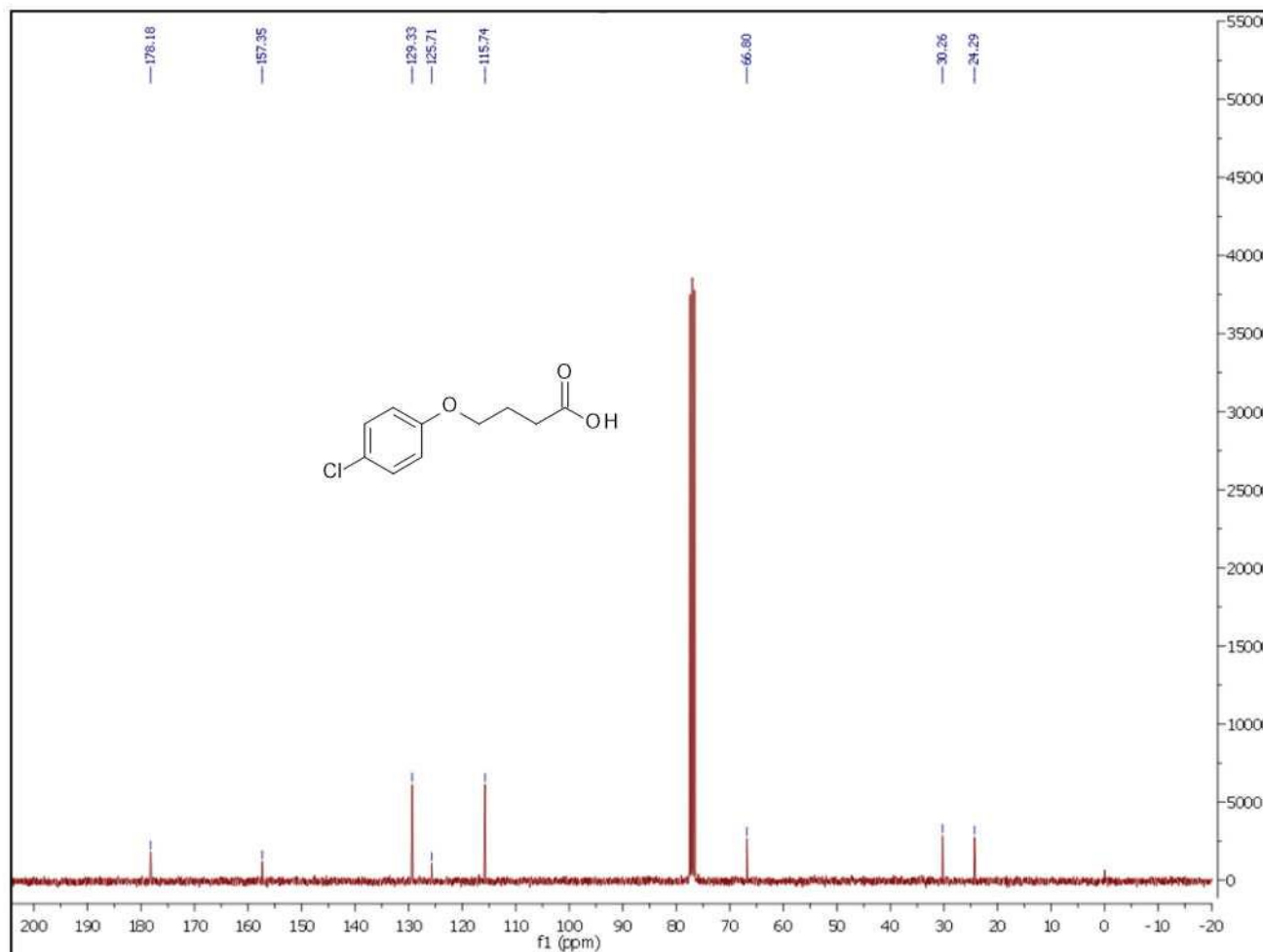


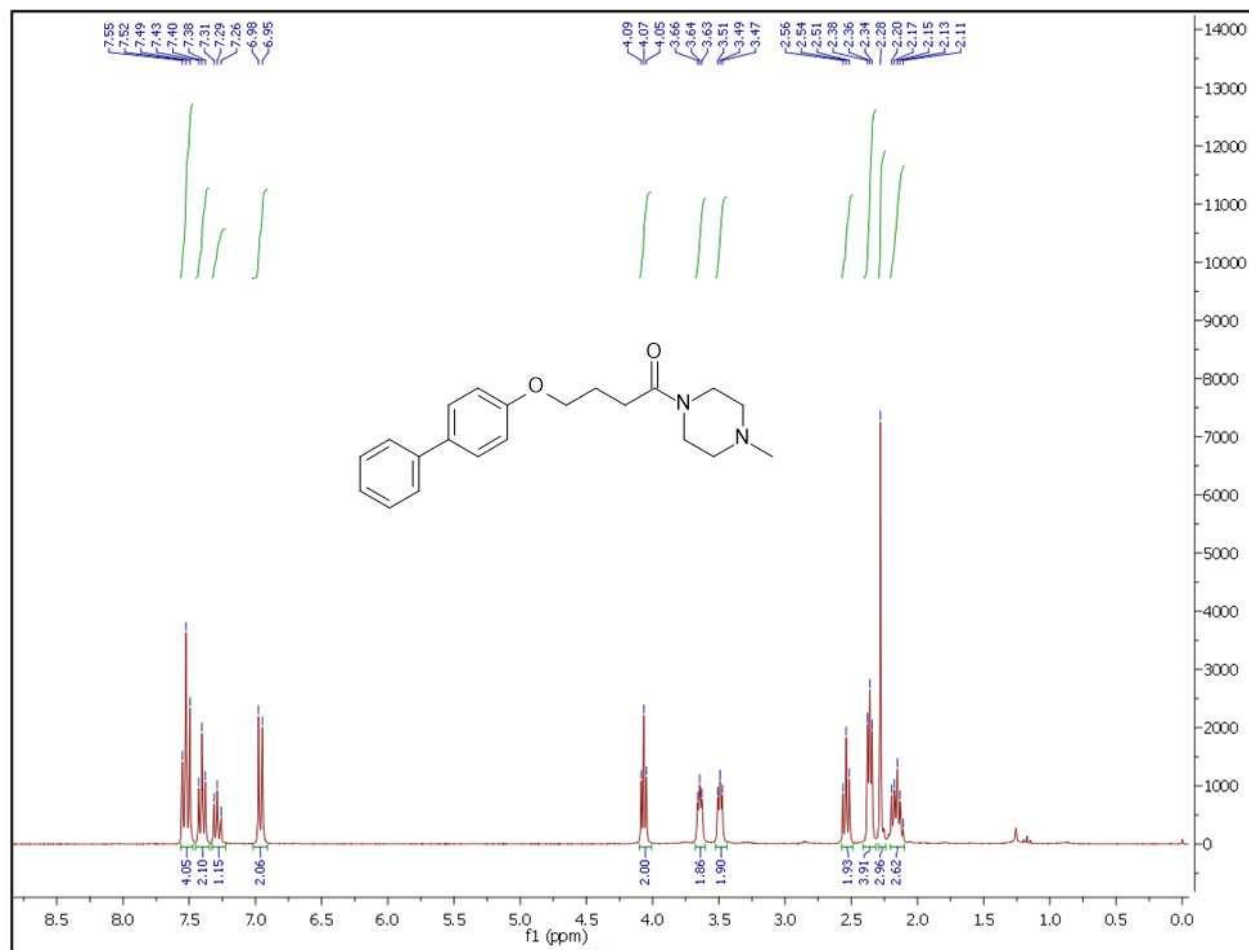
Tabela 35 – Dada de RMN ^{13}C do ácido 4- (4-clorofenoxi) butanóico (5b).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl $_3$) δ (ppm)

δ 178,18, 157,35, 129,33, 125,71, 115,74, 66,80, 30,26, 24,29.

1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6a):

ESPECTRO 20 – Espectro de RMN ^1H do 1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6a):



Fórmula molecular: $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$

PM: 338,44 g/mol

Rendimento: 20%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 36 – Dados de RMN ^1H 1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6a).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,52 (t, J = 8,6 Hz, 4H), 7,40 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,29 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 4,07 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,68 – 3,60 (m, 2H), 3,52 – 3,44 (m, 2H), 2,54 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,41 – 2,31 (m, 4H), 2,28 (s, 3H), 2,15 (dt, J = 13,1, 6,5 Hz, 3H).

1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6a):

ESPECTRO 21 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6a):

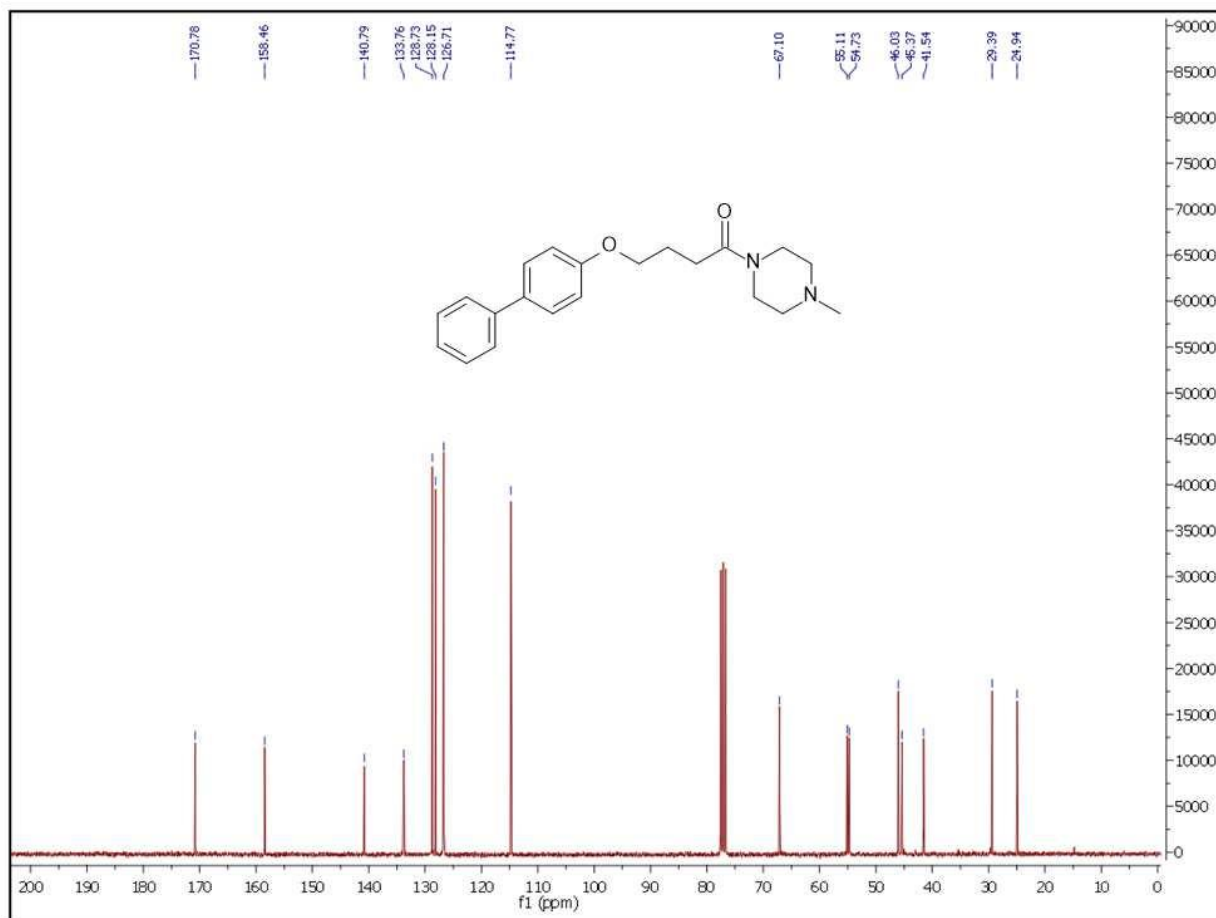
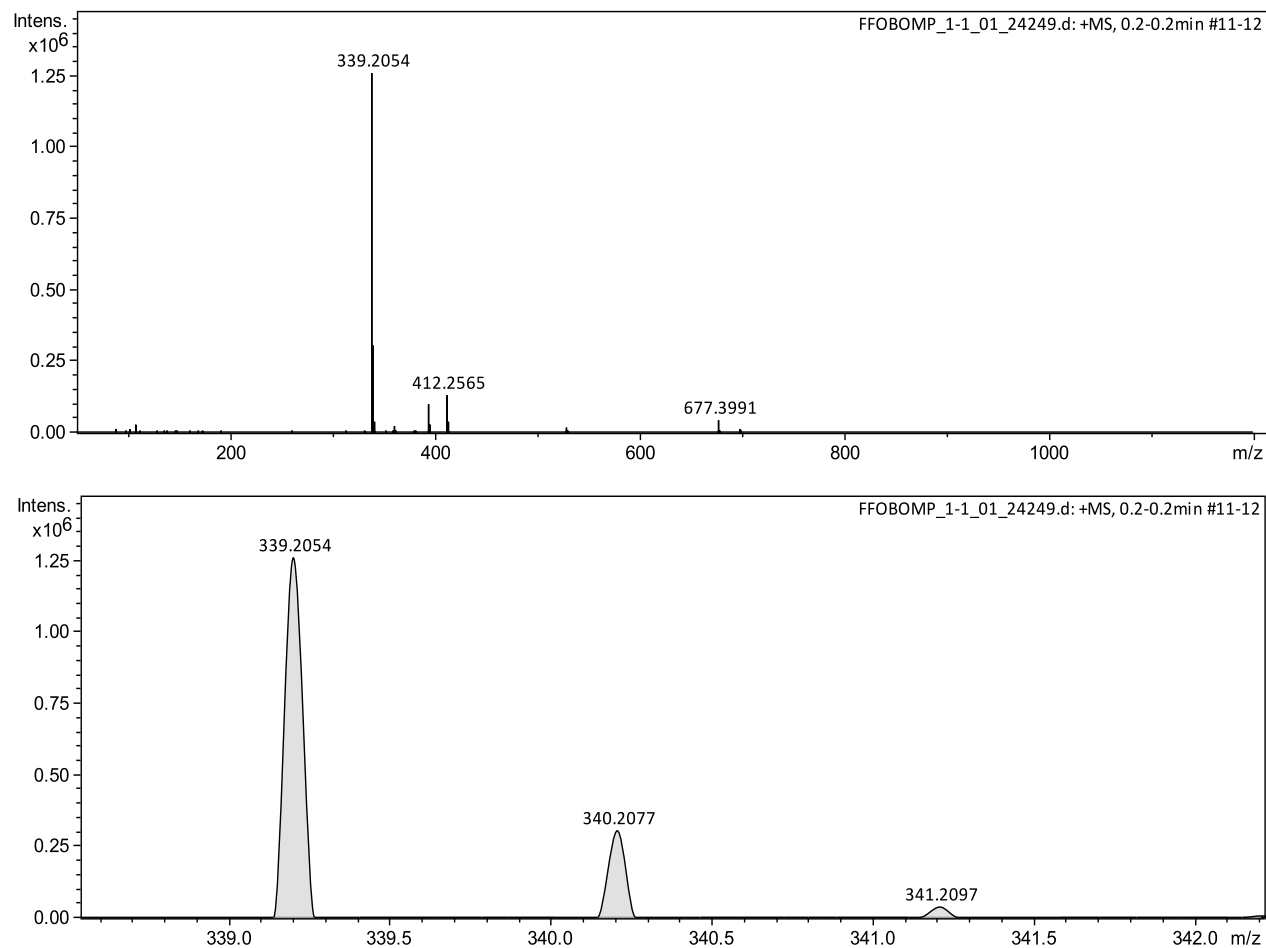


Tabela 37 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6a).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

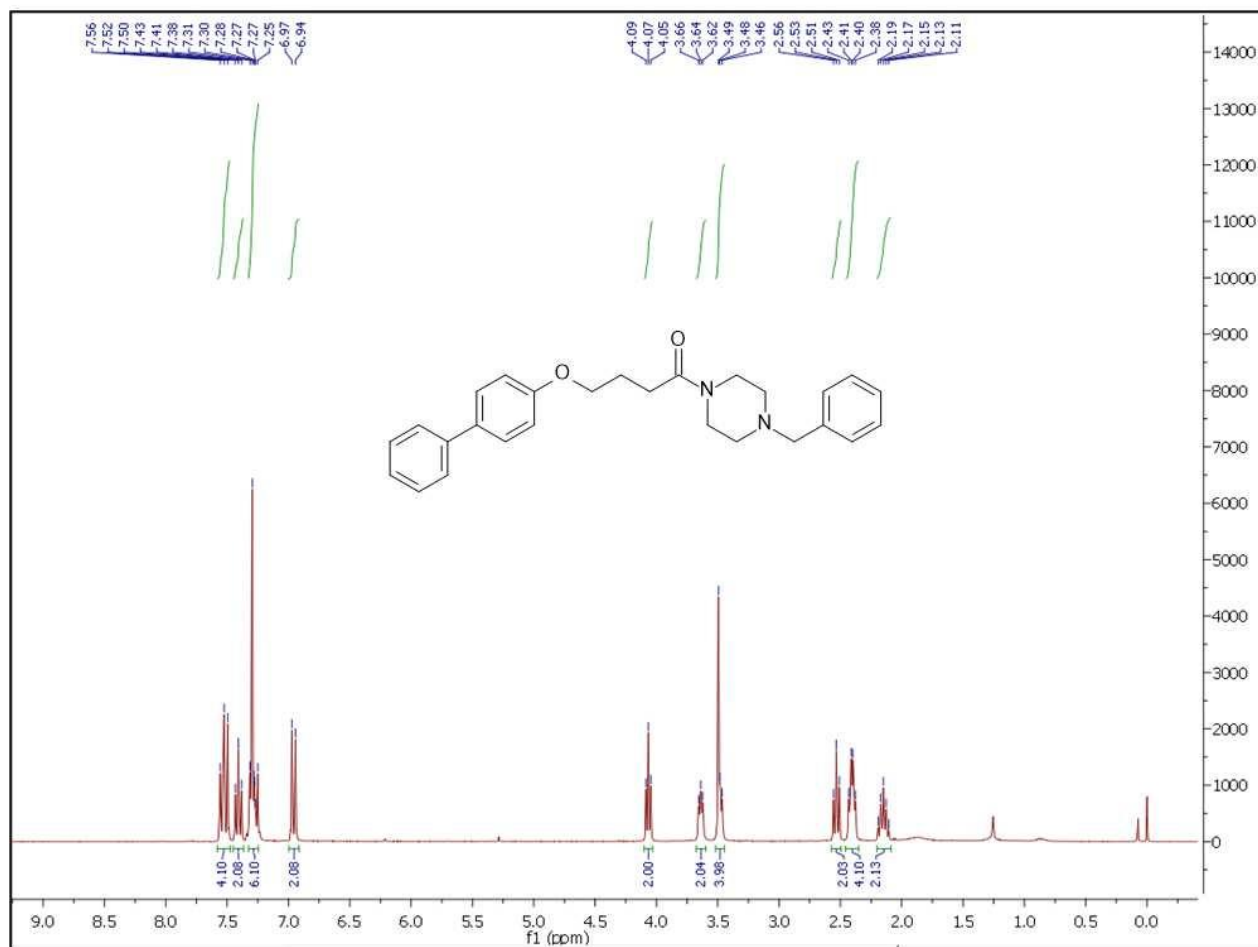
δ 170,78, 158,46, 140,79, 133,76, 128,73, 128,15, 126,71, 114,77, 67,10, 55,11, 54,73, 46,03, 45,37, 41,54, 29,39, 24,94.

1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6a):**ESPECTRO 22 - Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6a):**

EMAR: $[M+H]^+$ m/z calculado para $C_{21}H_{27}N_2O_2$: 339.2067, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 339,2054 (erro: 3,83 ppm).

1-(4-benzilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi)butan-1-ona (6b):

ESPECTRO 23 - Espectro de RMN ^1H do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6b):



Fórmula molecular: $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$

PM: 414,53 g/mol

Rendimento: 9%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 38 – Dados de RMN ^1H do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6b).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,58 – 7,47 (m, 2H), 7,41 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,28 (dt, J = 7,3, 5,6 Hz, 3H), 6,96 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,07 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 3,68 – 3,60 (m, 1H), 3,52 – 3,44 (m, 2H), 2,53 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 2,41 (dd, J = 10,6, 6,2 Hz, 2H), 2,20 – 2,09 (m, 1H).

1-(4-benzilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi)butan-1-ona (6b):

ESPECTRO 24 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6b):

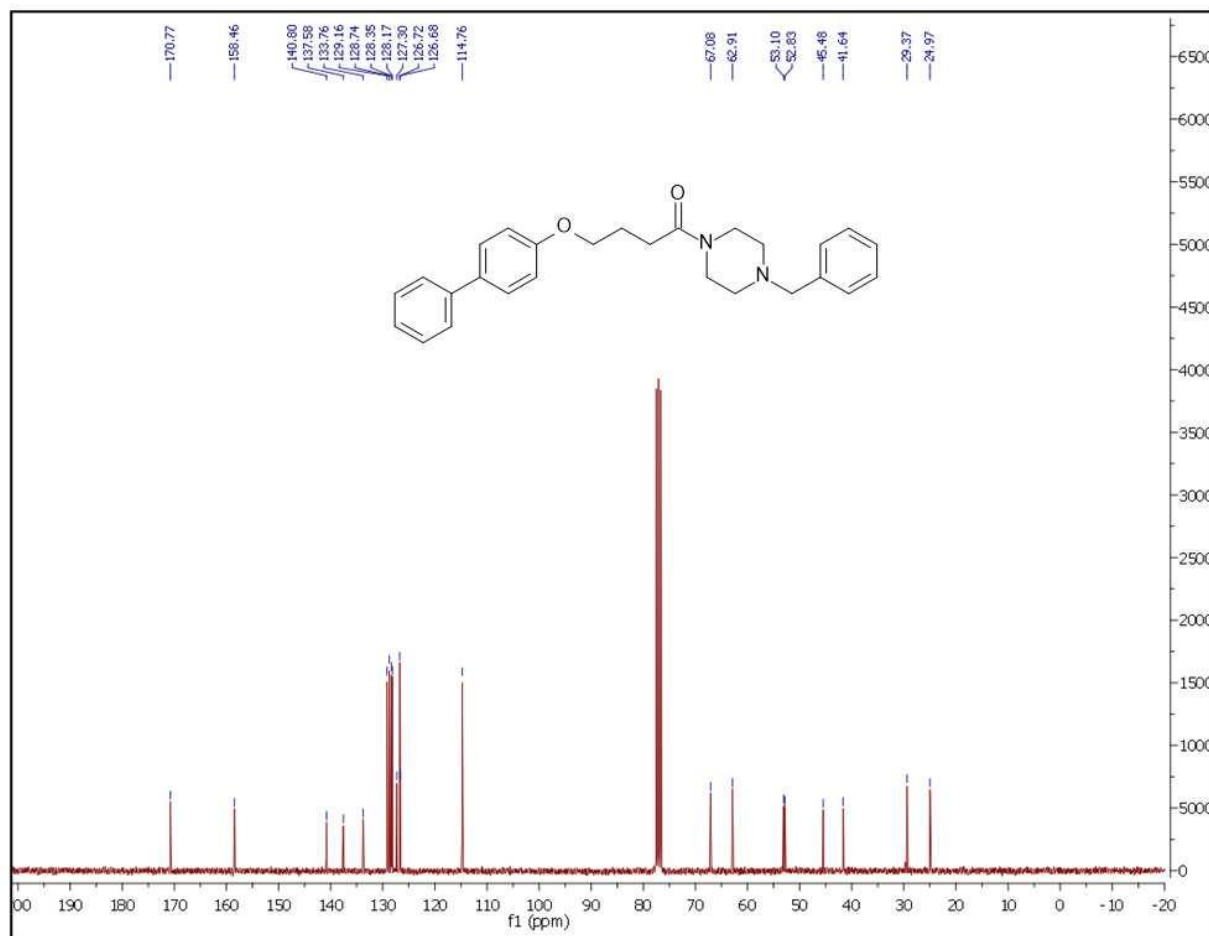
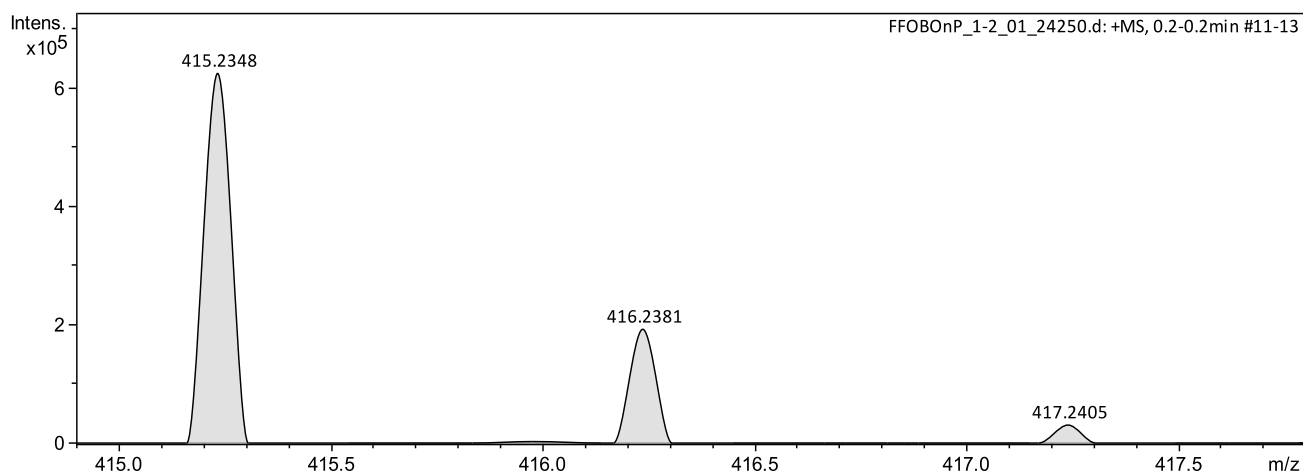
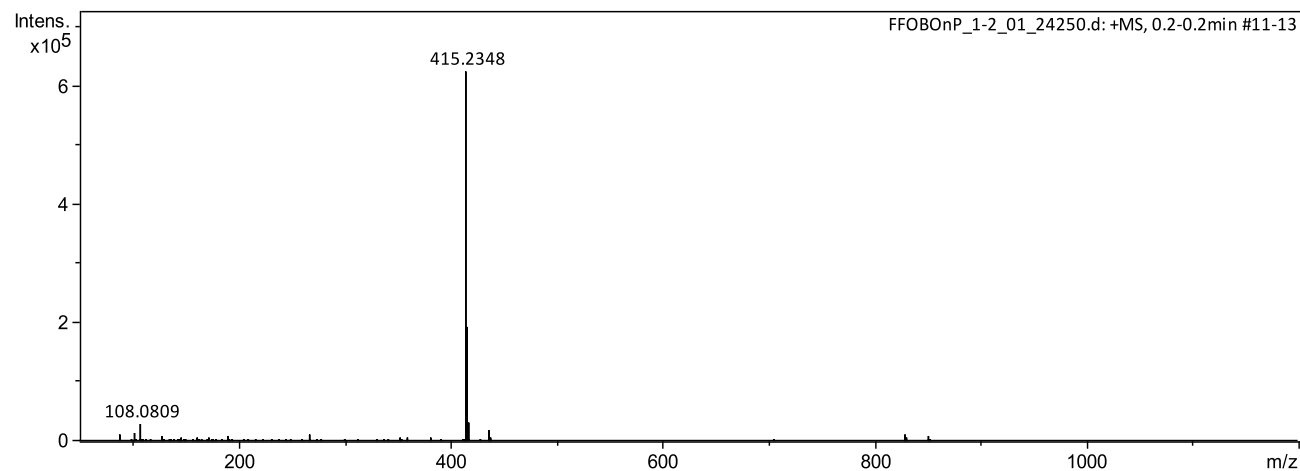


Tabela 39 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenóxi) butan-1-ona (6b).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$

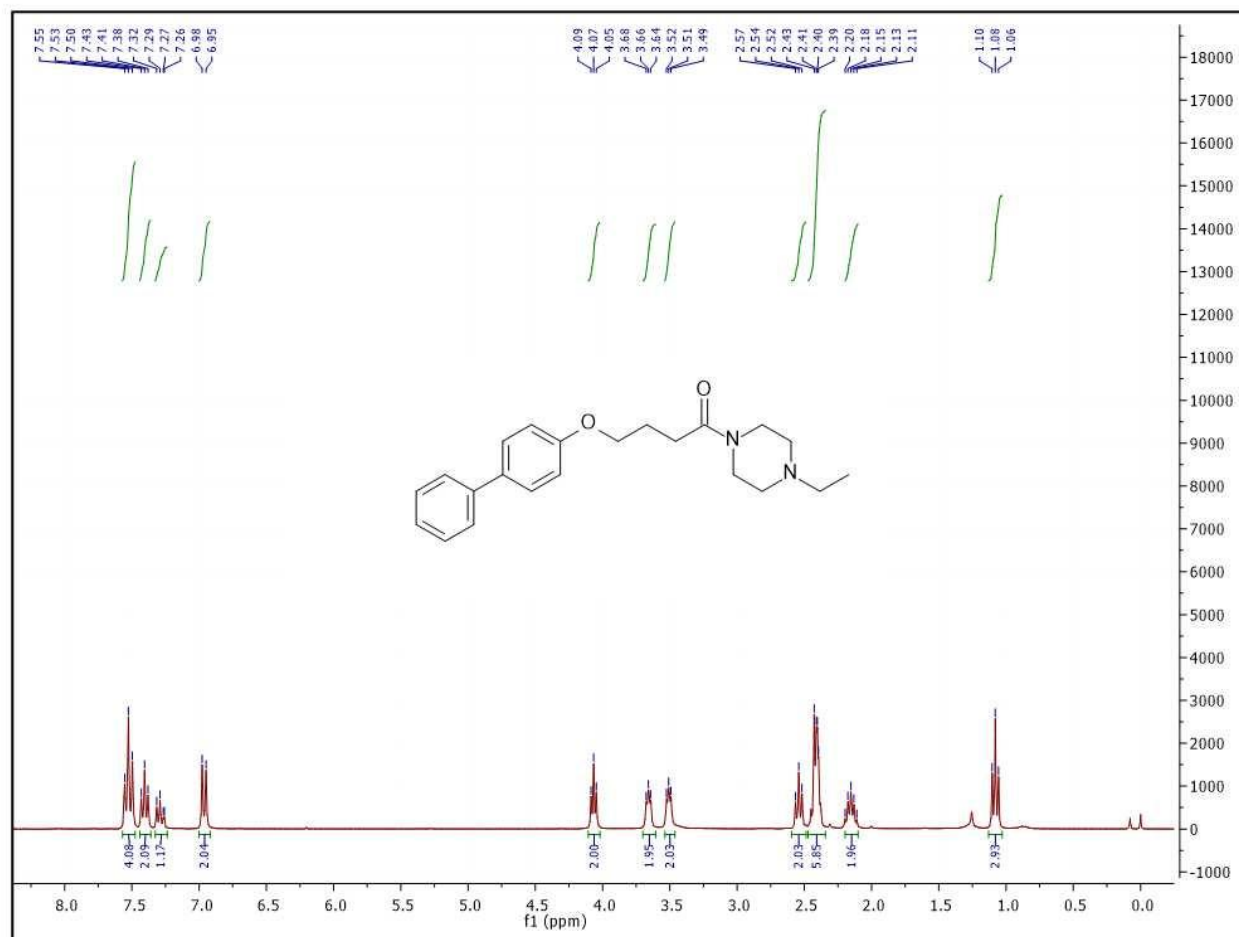
δ 170,77, 158,46, 140,80, 137,58, 133,76, 129,16, 128,74, 128,26, 127,30, 126,70, 114,76, 67,08, 62,91, 53,10, 52,83, 45,48, 41,64, 29,37, 24,97.

1-(4-benzilpiperazin-1-il)-4-(4-fenilfenoxi)butan-1-ona (6b):**ESPECTRO 25 – Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona(6b):**

EMAR: $[M+H]^+$ m/z calculado para $C_{27}H_{31}N_2O_2$: 415,2380, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 415,2348 (erro: 7,7ppm).

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona(6c):

ESPECTRO 26 – Espectro de RMN ^1H do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c):



Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$

PM: 352,46 g/mol

Rendimento: 20%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 40 – Dados de RMN ^1H do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,53 (t, J = 8,5 Hz, 4H), 7,41 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 7,28 (dd, J = 12,3, 4,9 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,07 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 3,70 – 3,60 (m, 2H), 3,54 – 3,46 (m, 2H), 2,54 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,41 (dd, J = 5,9, 3,8 Hz, 6H), 2,14 (dd, J = 13,1, 6,7 Hz, 2H), 1,08 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona(6c):

ESPECTRO 27 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c):

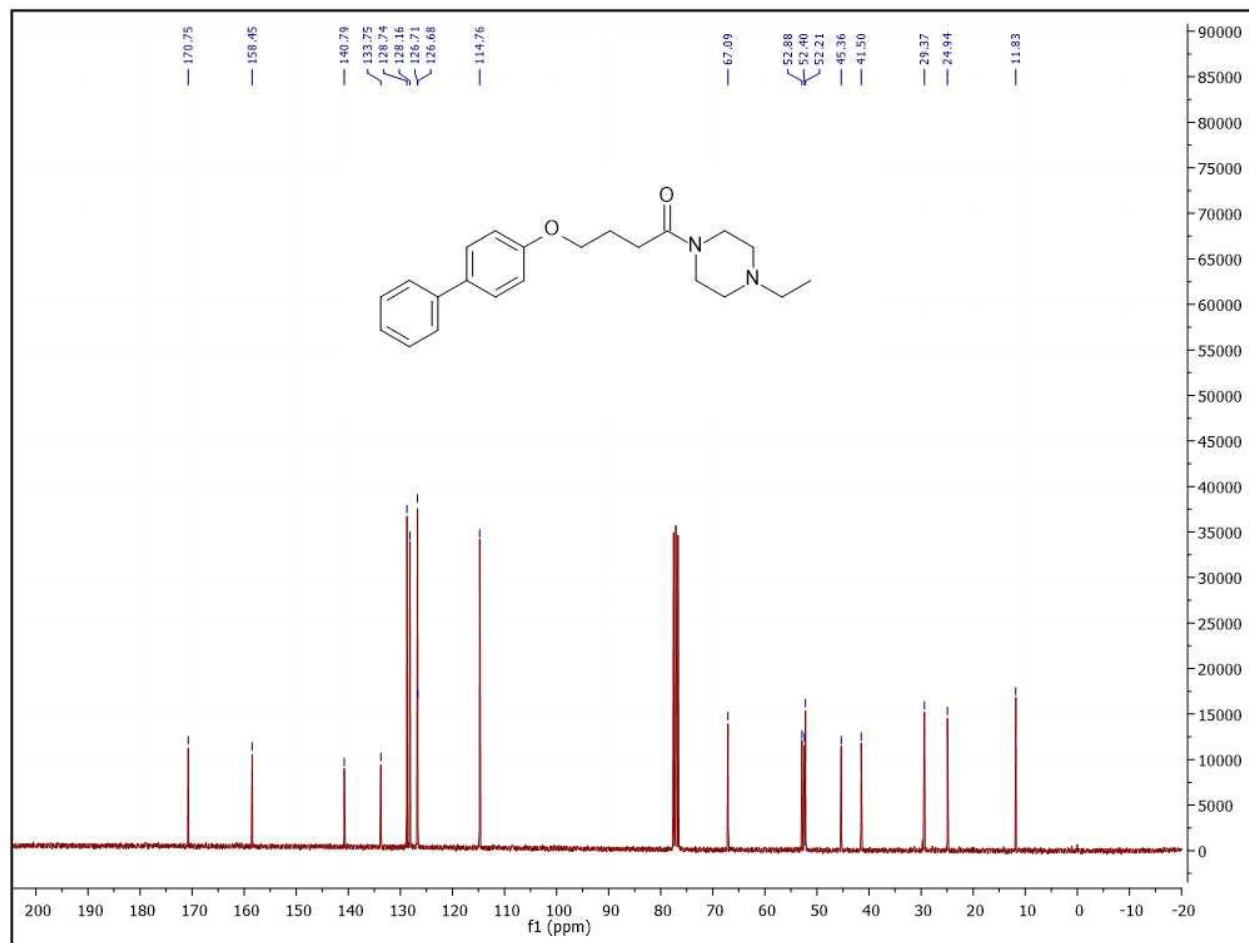


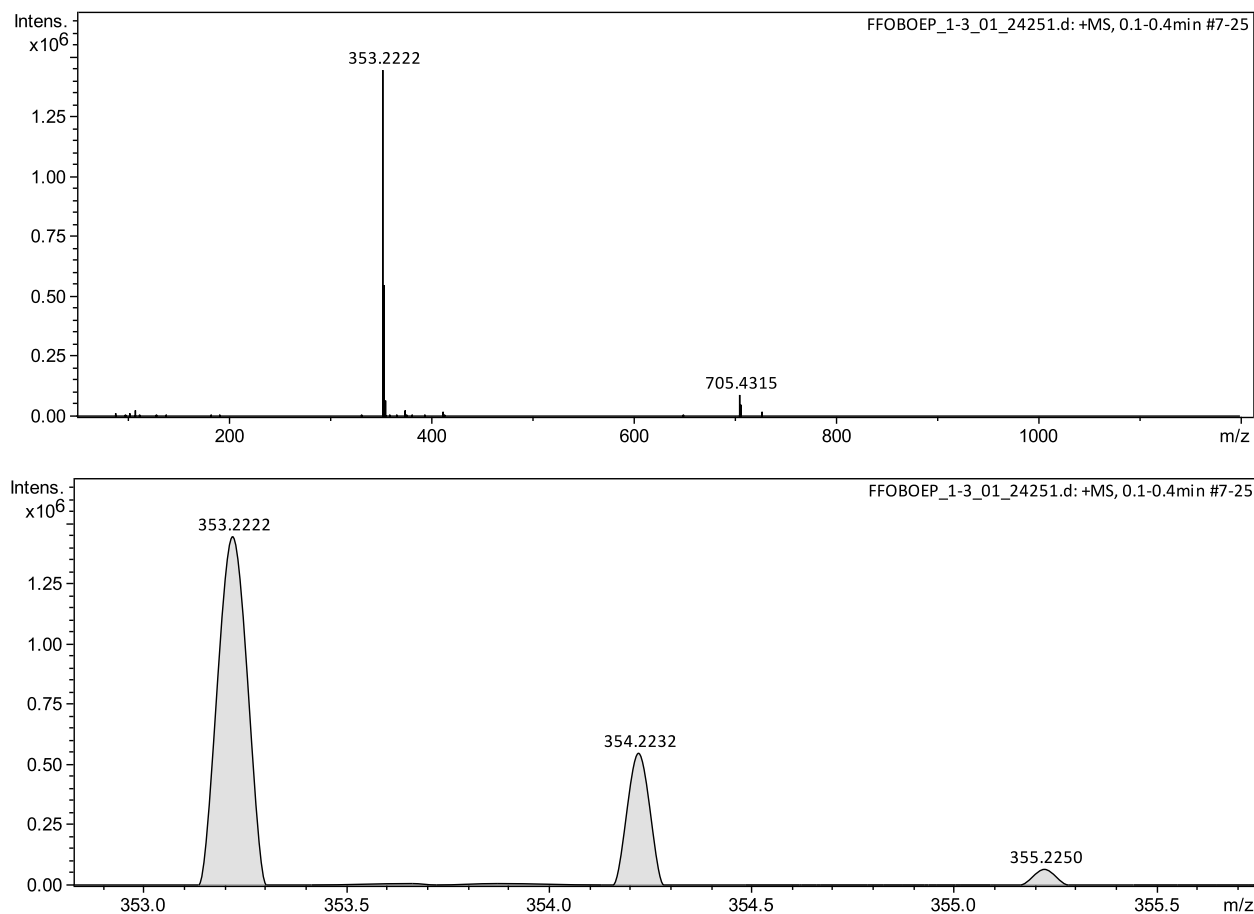
Tabela 41 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c).

RMN ^{13}C 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 170,75, 158,45, 140,79, 133,75, 128,74, 128,16, 126,69, 114,76, 67,09, 52,88, 52,31, 45,36, 41,50, 29,37, 24,94, 11,83.

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c):

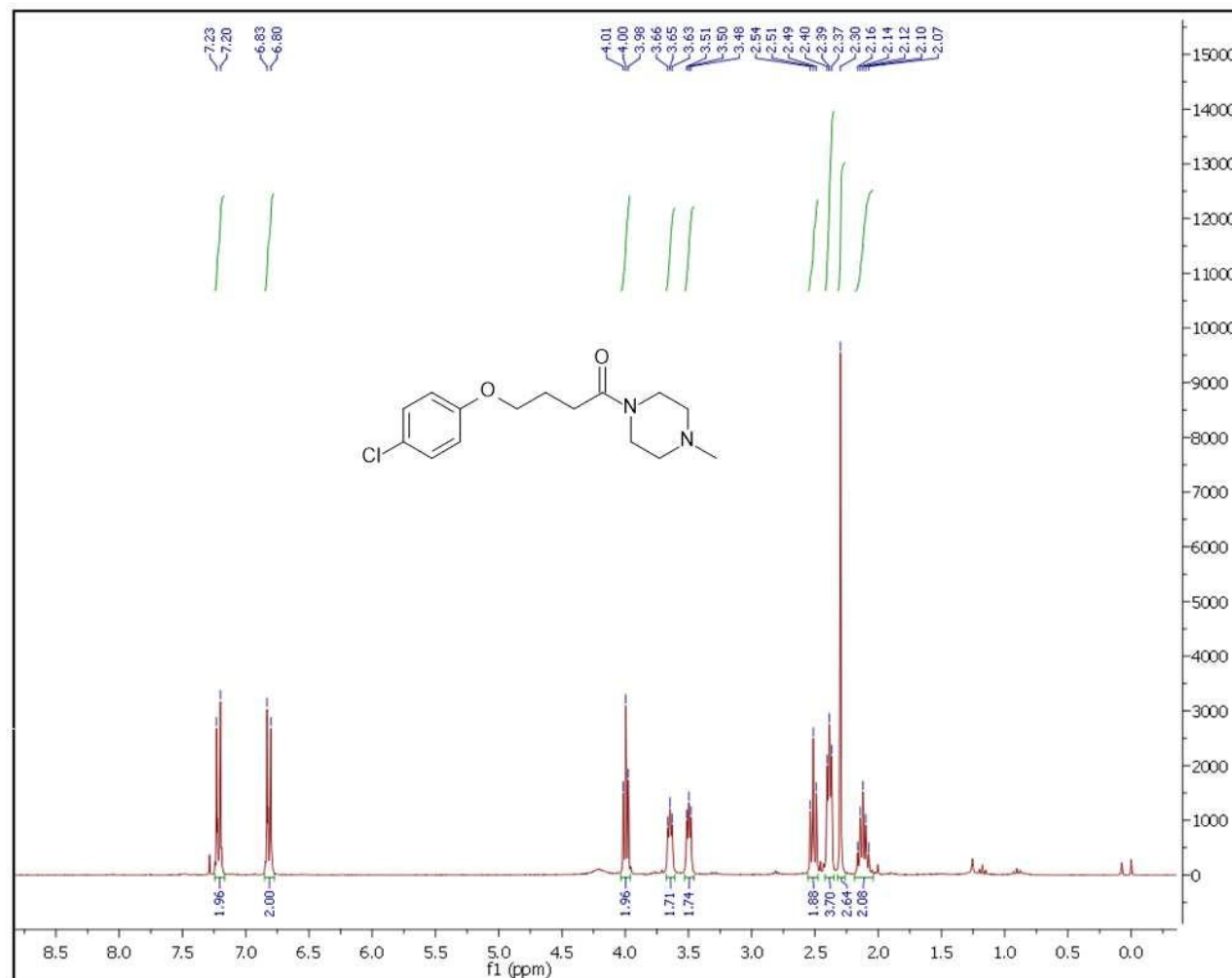
ESPECTRO 28 – Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-fenilfenoxi) butan-1-ona (6c):



EMAR:[M+H]⁺*m/z* calculado para C₂₂H₂₉N₂O₂: 353,2223, *m/z* encontrado para [M+H]⁺: 353,2222 (erro: 0,28ppm)

1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a):

ESPECTRO 29 - Espectro de RMN ^1H do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a):



Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_2$

PM: 296,79 g/mol

Rendimento: 9%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 42 – Dados de RMN ^1H 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,22 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,00 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,68 – 3,61 (m, 2H), 3,53 – 3,46 (m, 2H), 2,51 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,42 – 2,35 (m, 4H), 2,30 (s, 3H), 2,19 – 2,04 (m, 2H).

1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a):

ESPECTRO 30 - Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a):

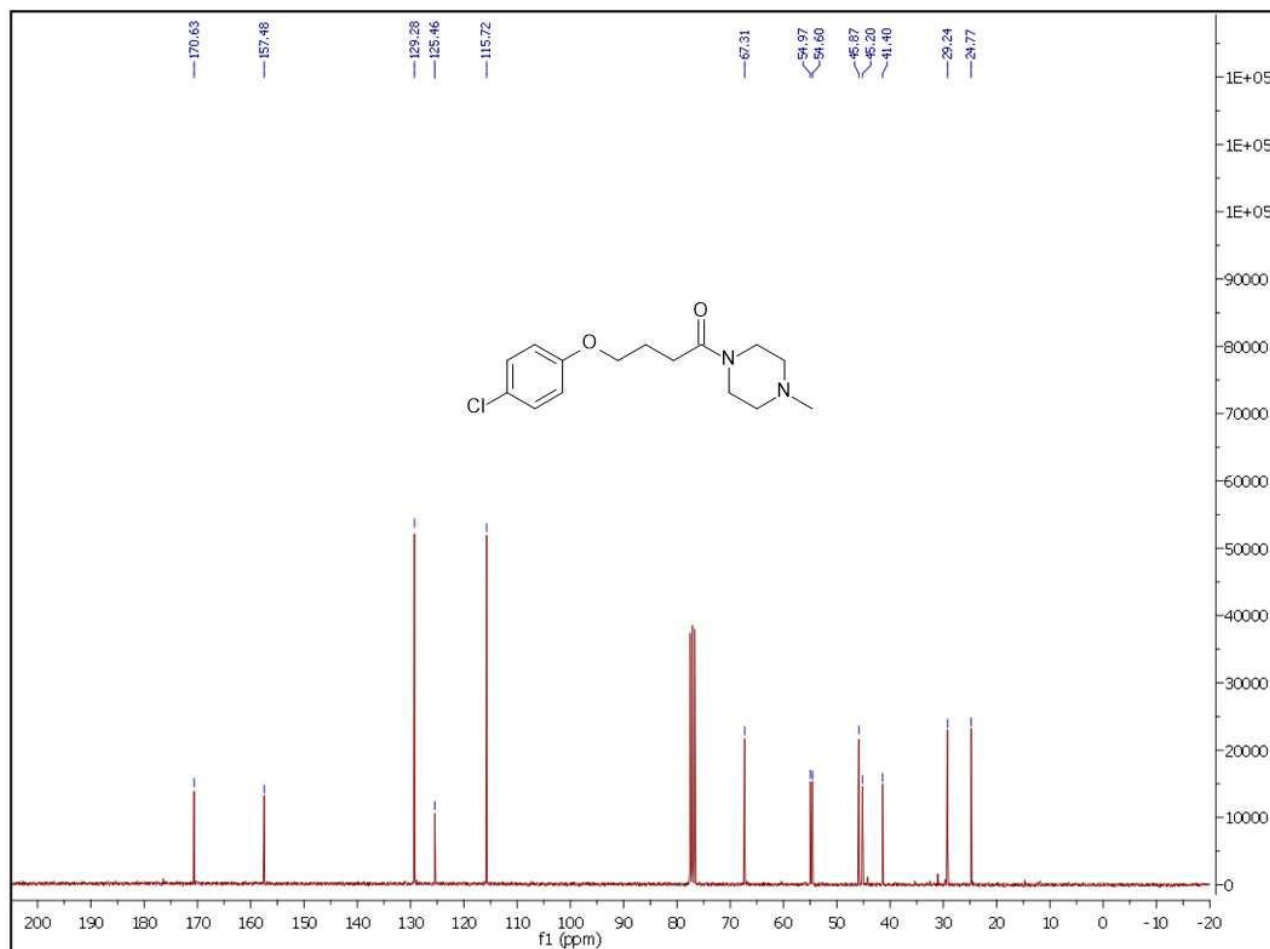
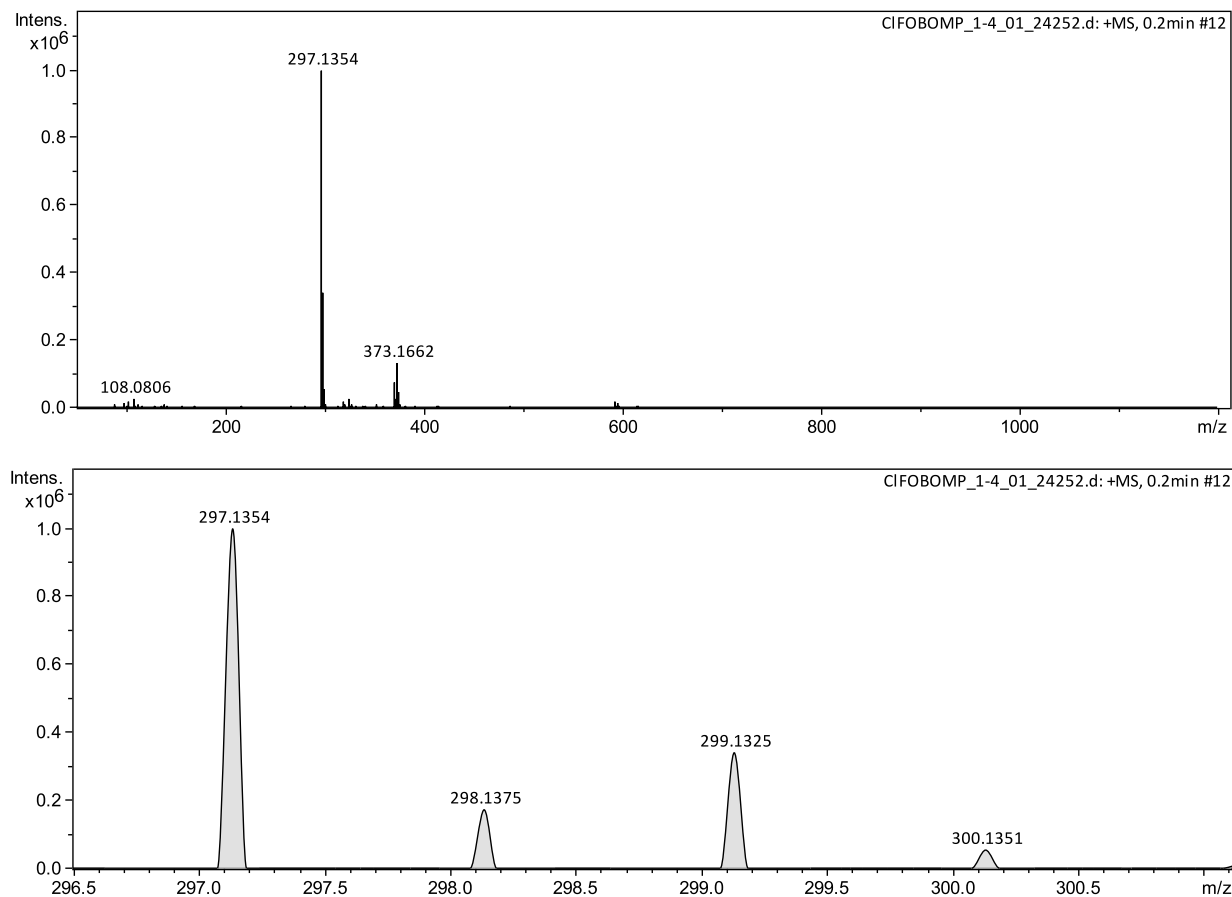


Tabela 43 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (**7a**).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

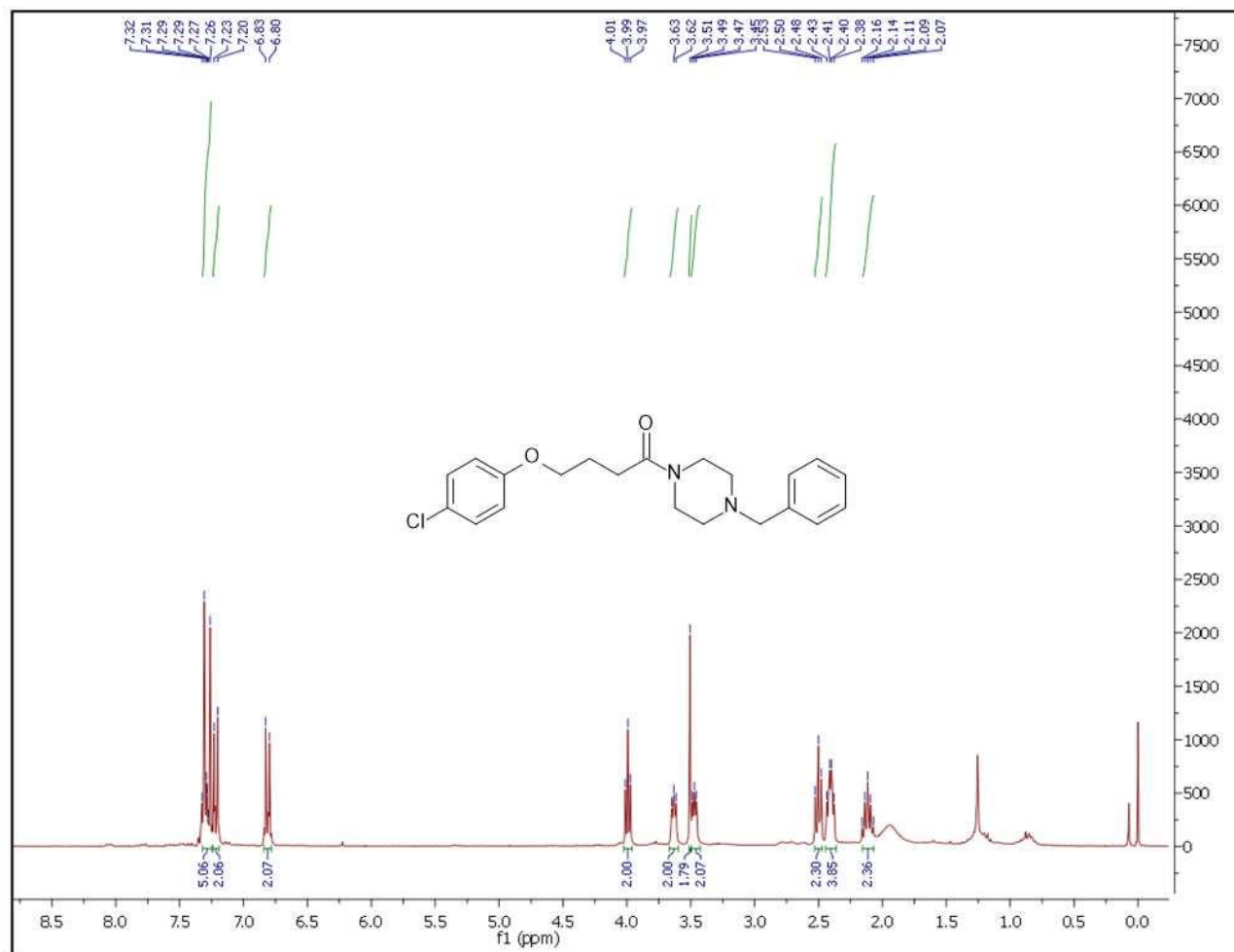
δ 170,63, 157,48, 129,28, 125,46, 115,72, 67,31, 54,97, 54,60, 45,87, 45,20, 41,40, 29,24, 24,77.

1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a):**ESPECTRO 31 - Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7a):**

EMAR: $[M+H]^+$ m/z calculado para $C_{15}H_{21}N_2O_2Cl$: 297,1364, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 297,1354 (erro: 3,36ppm).

1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7b):

ESPECTRO 32 - Espectro de RMN ^1H do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenOxi) butan-1-ona (7b):



Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}$

PM: 370,91 g/mol

Rendimento: 9%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 44 – Dados de RMN ^1H 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (11b).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,32 – 7,25 (m, 4H), 7,22 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 6,81 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 3,99 (t, J = 5,9 Hz, 2H), 3,63 (t, 2H), 3,51 (s, 2H), 3,47 (t, 2H), 2,50 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,44-2,36 (m, J = 10,5, 6,7 Hz, 4H), 2,10 (dd, J = 13,2, 6,8 Hz, 2H).

1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7b):

ESPECTRO 33 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7b):

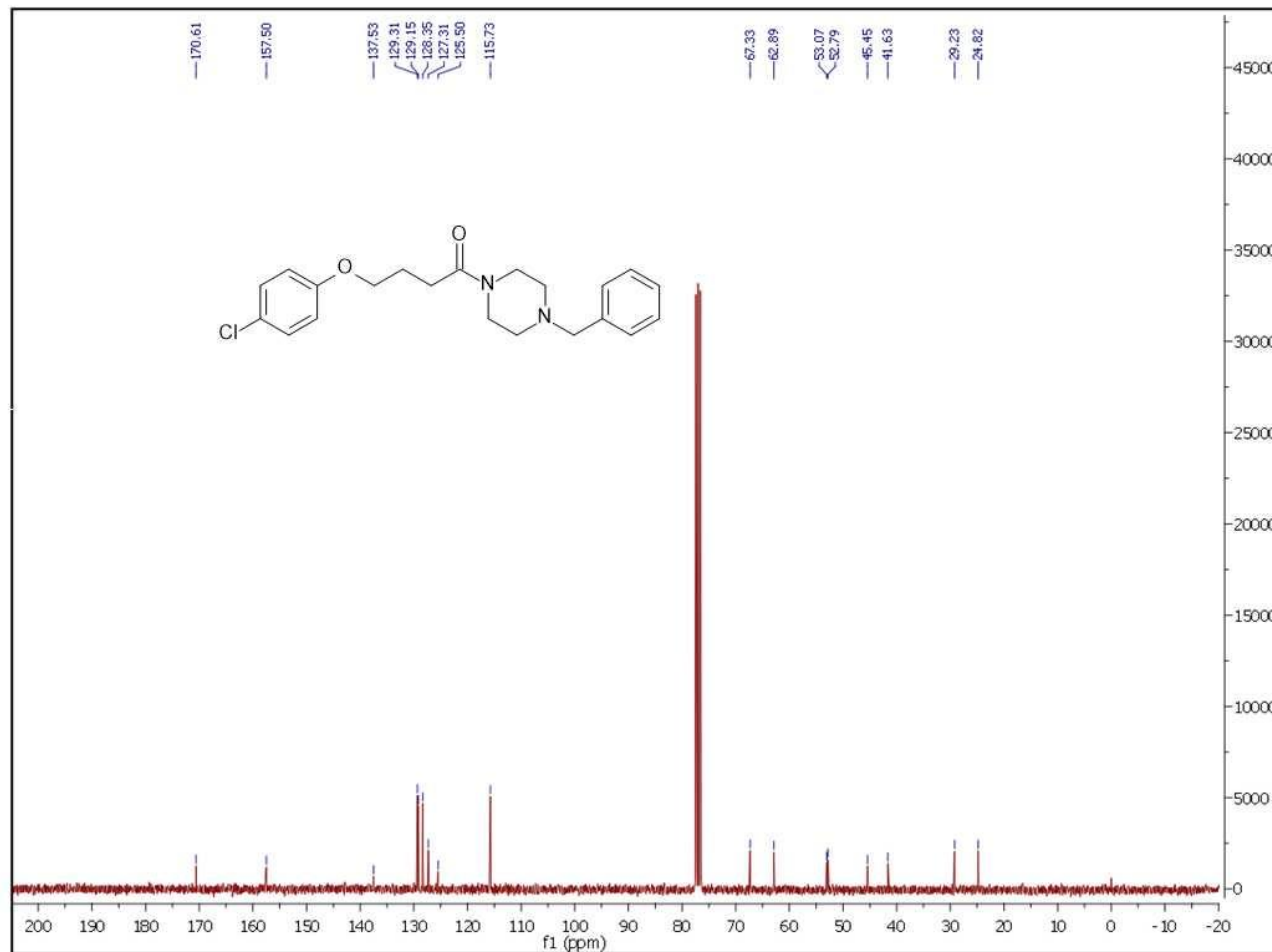


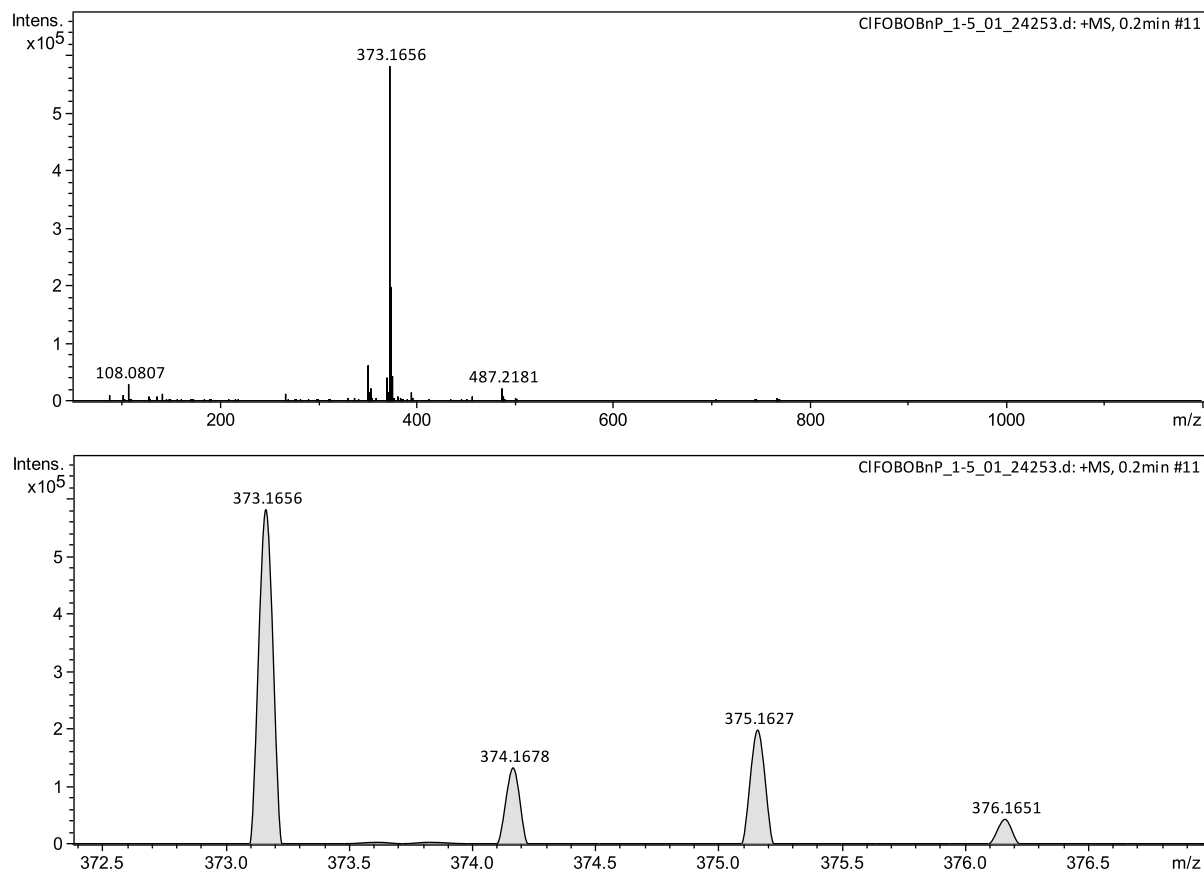
Tabela 45 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7b).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

$\delta^{13}\text{C}$ NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 170,6, 157,5, 137,5, 129,3, 129,1, 128,3, 127,3, 125,5, 115,7, 67,3, 62,8, 53,0, 52,7, 45,4, 41,6, 29,2, 24,8.

1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7b):

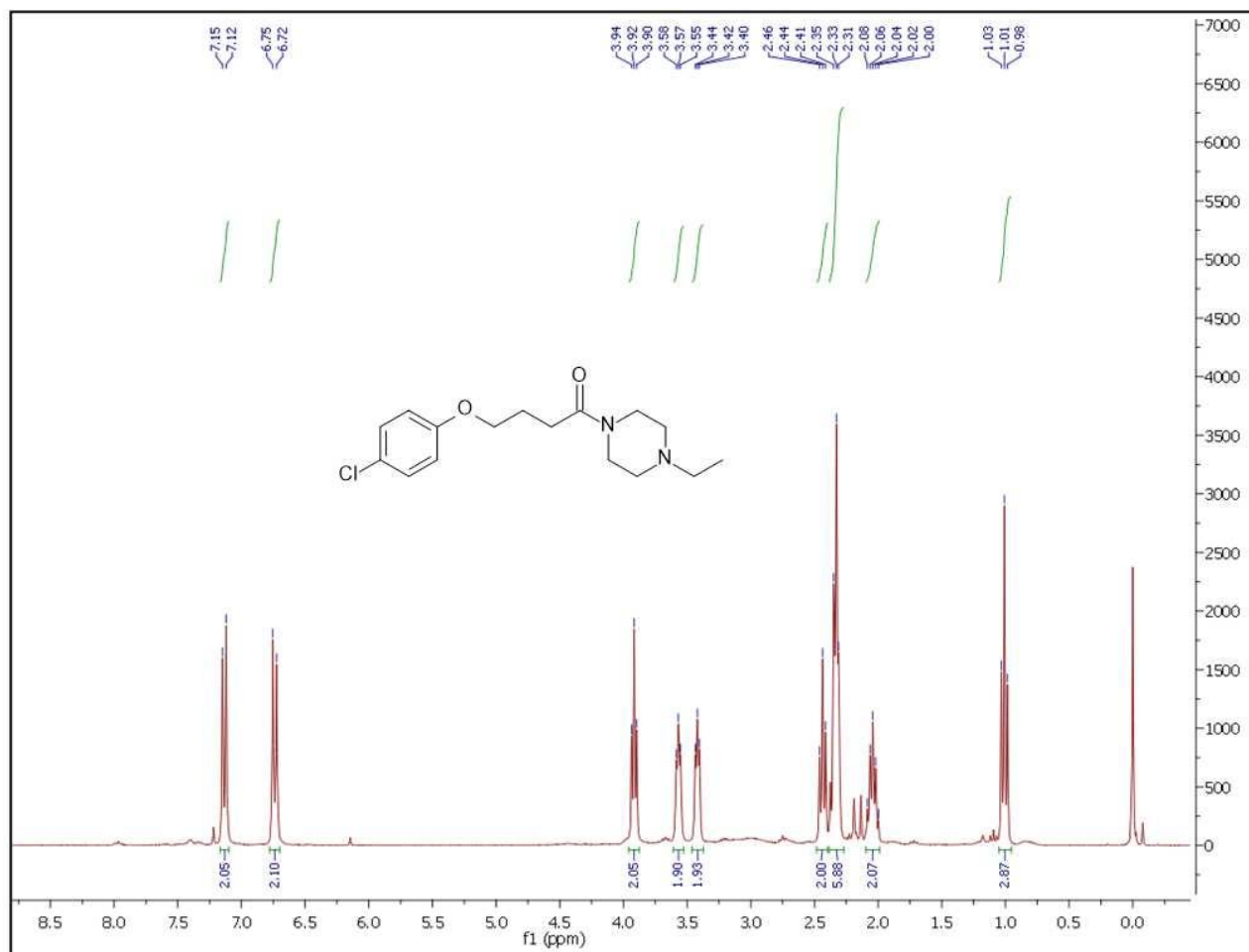
ESPECTRO 34 - Espectrometria de Massas de Alta Resoluçãodo1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7b):



EMAR: $[M+H]^+$ m/z calculado para $C_{21}H_{26}N_2O_2Cl$: 373,1677, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 373,1656 (erro: 5,6ppm).

1-(4-etilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7c):

ESPECTRO 35 - Espectro de RMN ^1H do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7c):



Fórmula molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}$

PM: 308,84 g/mol

Rendimento: 31%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 46 – Dados de RMN ^1H 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7c).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,13 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 6,74 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 3,92 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,57 (t, 2H), 3,42 (t, 2H), 2,44 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,33 (t, $J = 5,7$ Hz, 6H), 2,09 – 1,99 (m, 2H), 1,01 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7c):

ESPECTRO 36 - Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7c):

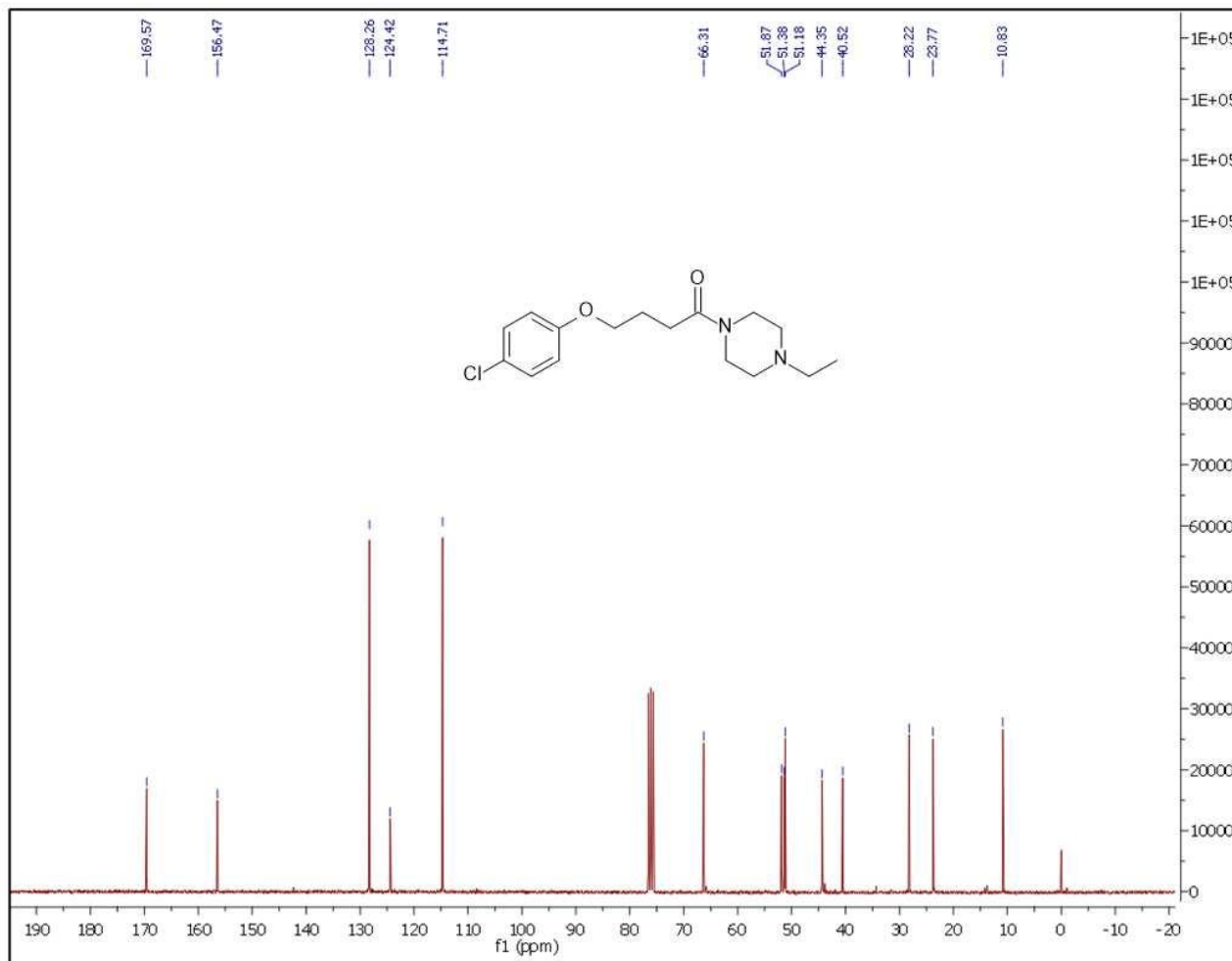
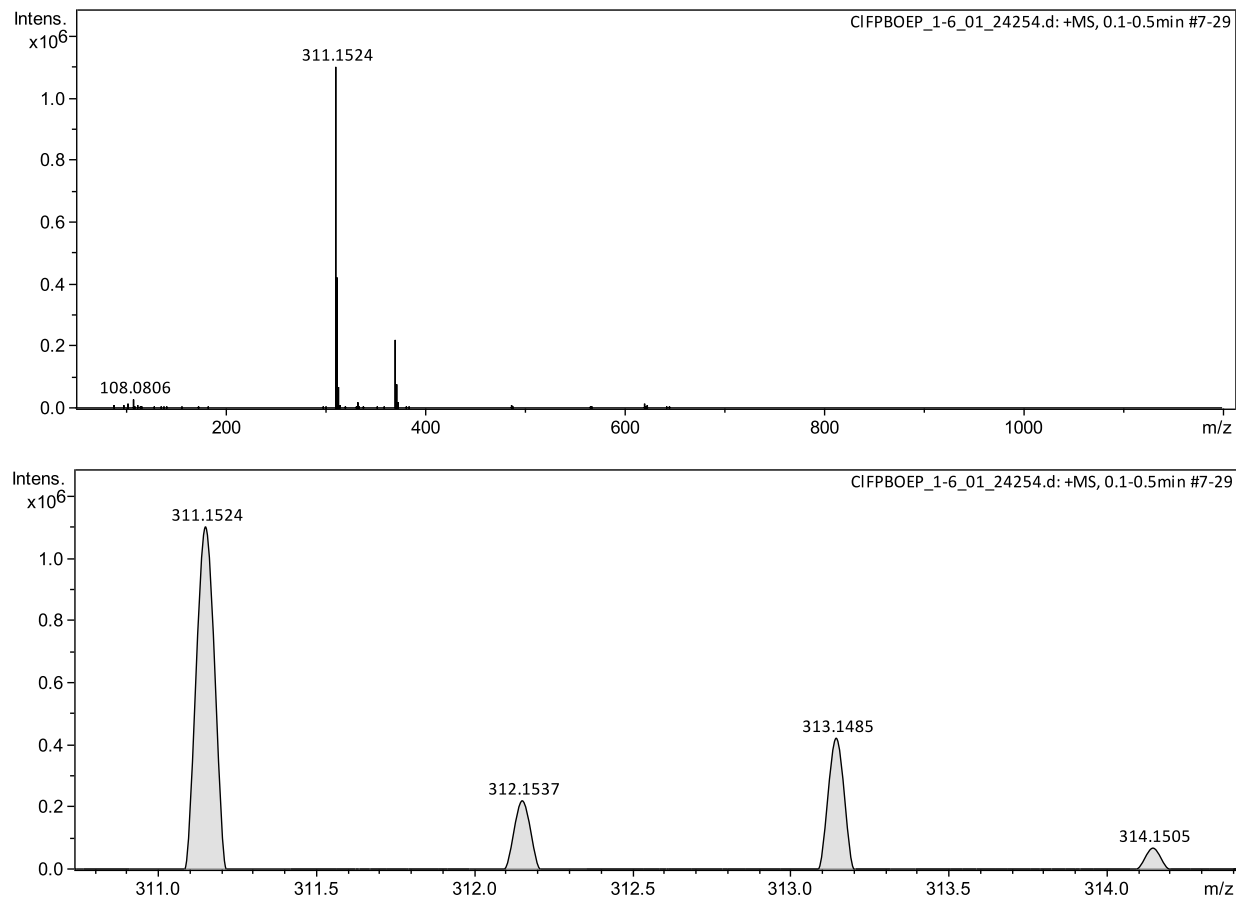


Tabela 47 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7c).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) $\delta(\text{ppm})$

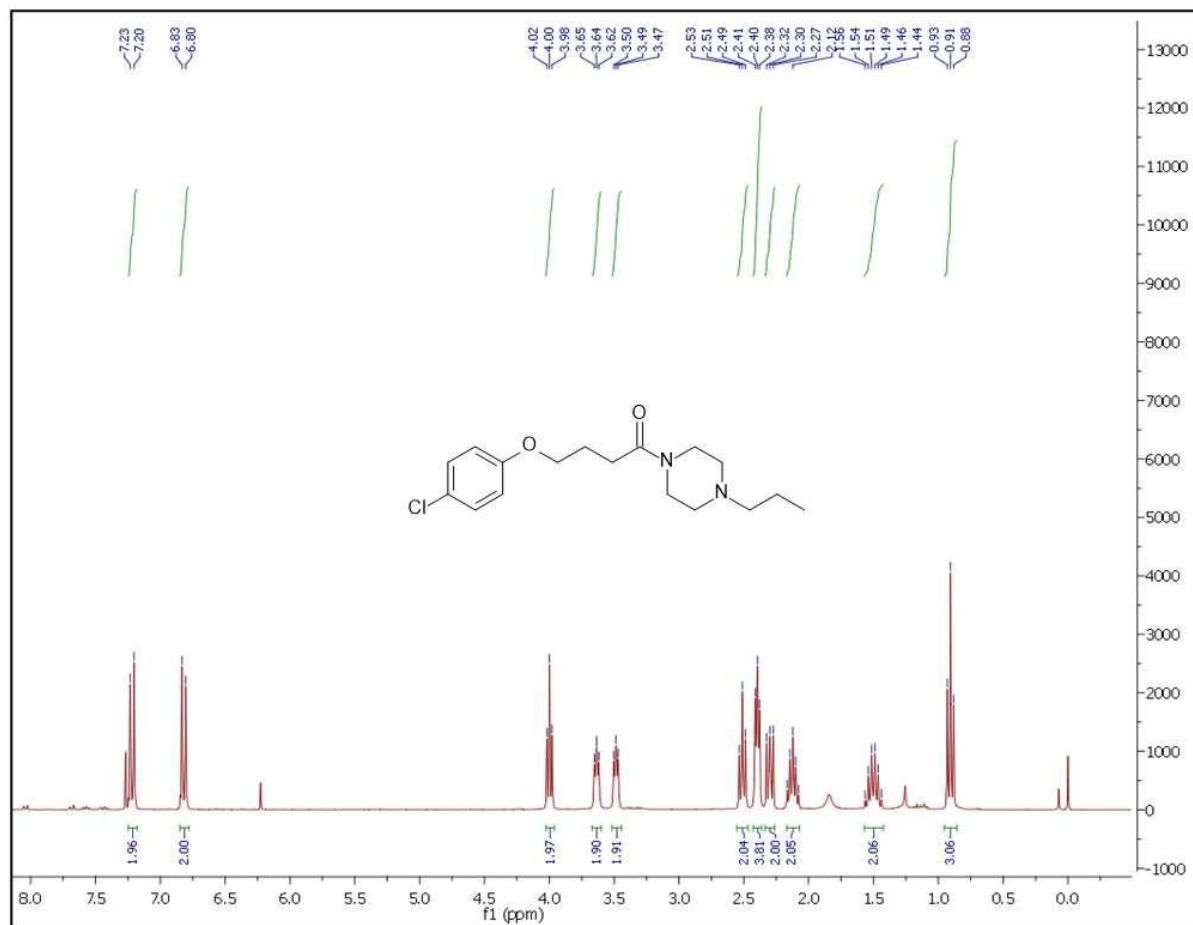
δ 169,57, 156,47, 128,26, 124,42, 114,71, 66,31, 51,87, 51,38, 51,18, 44,35, 40,52, 28,22, 23,77, 10,83.

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7c):**ESPECTRO 37 - Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7c):**

$[M+H]^+$ m/z calculado para $C_{17}H_{26}ClN_2O_2$: 311,1520, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 311,1524 (erro: 1,28ppm).

1-(4-propilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7e):

ESPECTRO 38 - Espectro de RMN ^1H do 1-(4-propilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7e):



Fórmula molecular: $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_2$

PM: 324,84g/mol

Rendimento: 18%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 48 – Dados de RMN ^1H 1-(4-propilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7e).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,22 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,82 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,00 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,67 – 3,60 (m, 2H), 3,52 – 3,44 (m, 2H), 2,51 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,43 – 2,36 (m, 4H), 2,34 – 2,26 (m, 2H), 2,17 – 2,07 (m, 2H), 1,57 – 1,42 (m, 2H), 0,91 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H).

1-(4-propilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7e):

ESPECTRO 39 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7e):

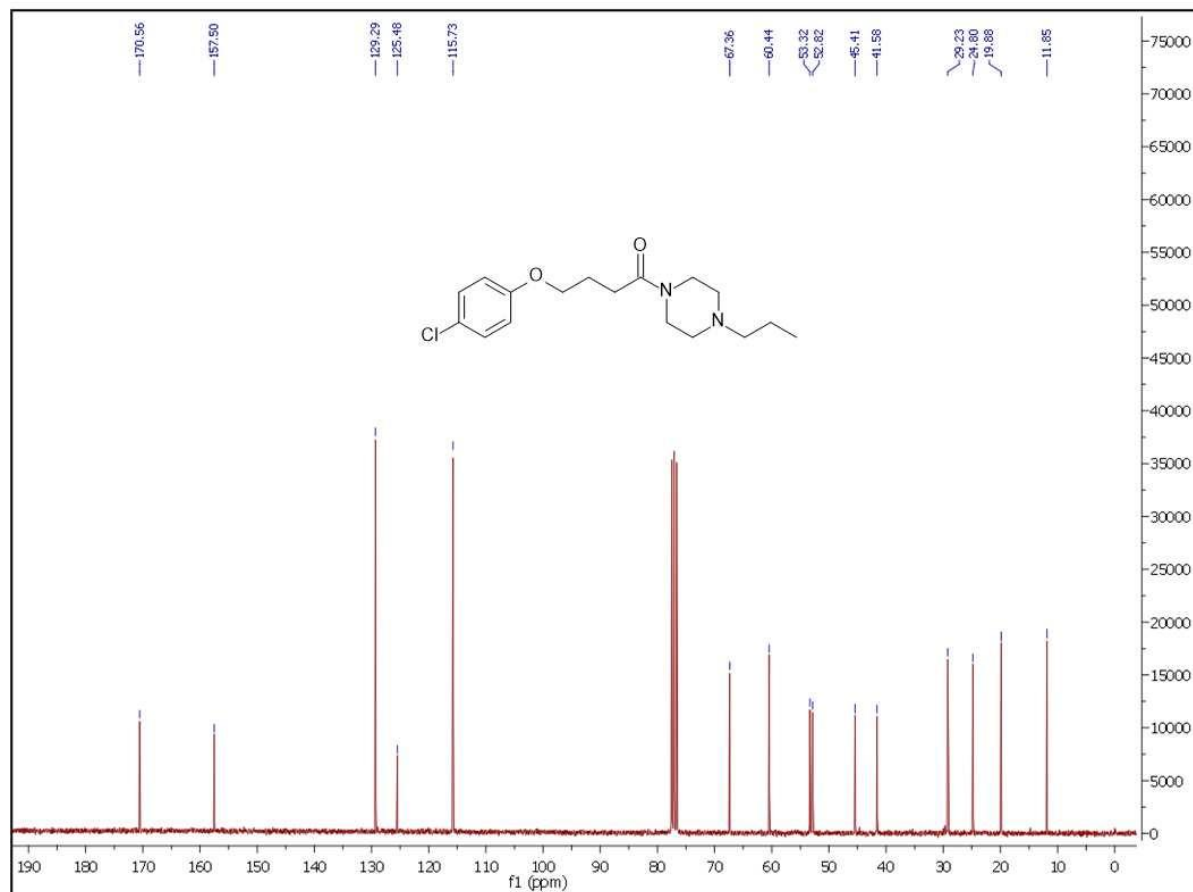
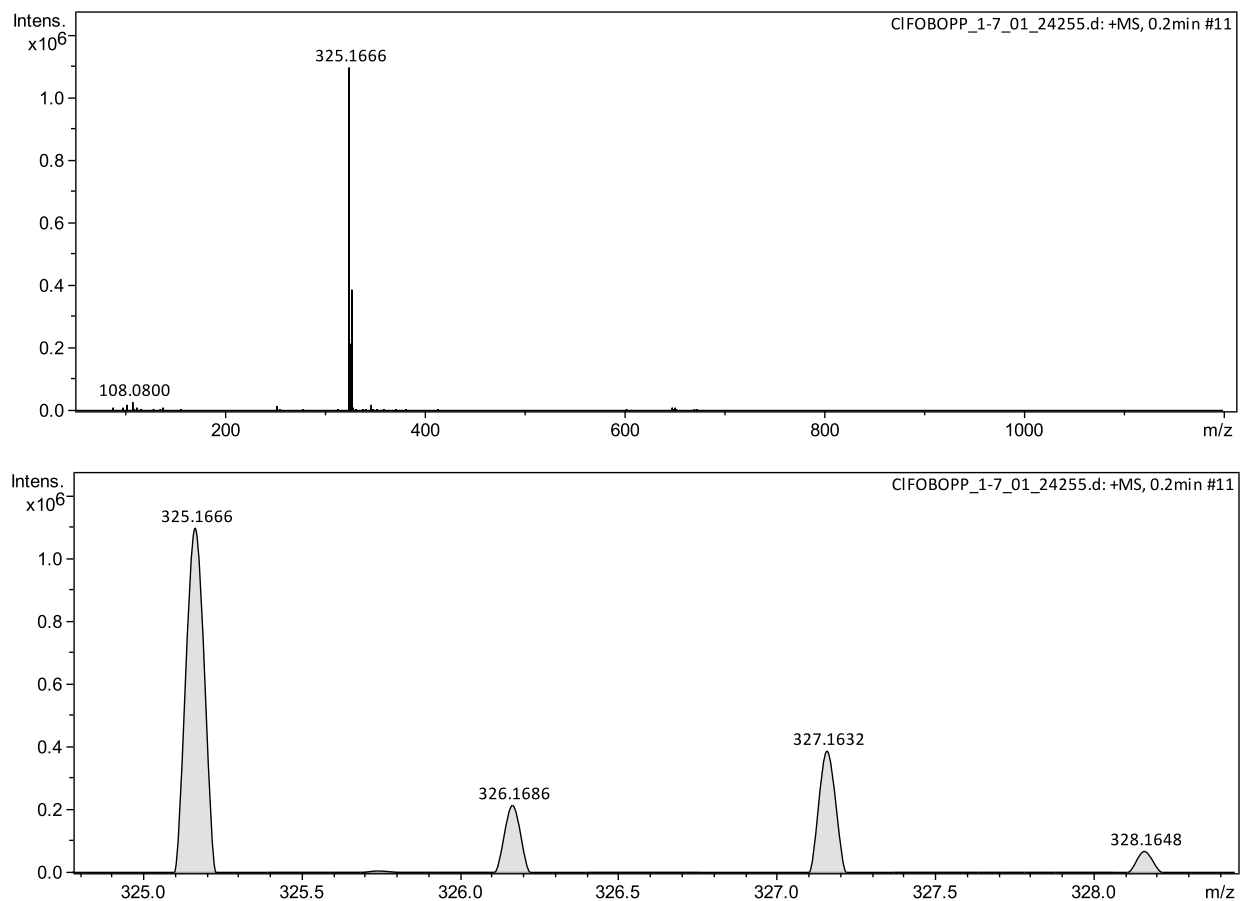


Tabela 49 – Dados de RMN ^{13}C do 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7e).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

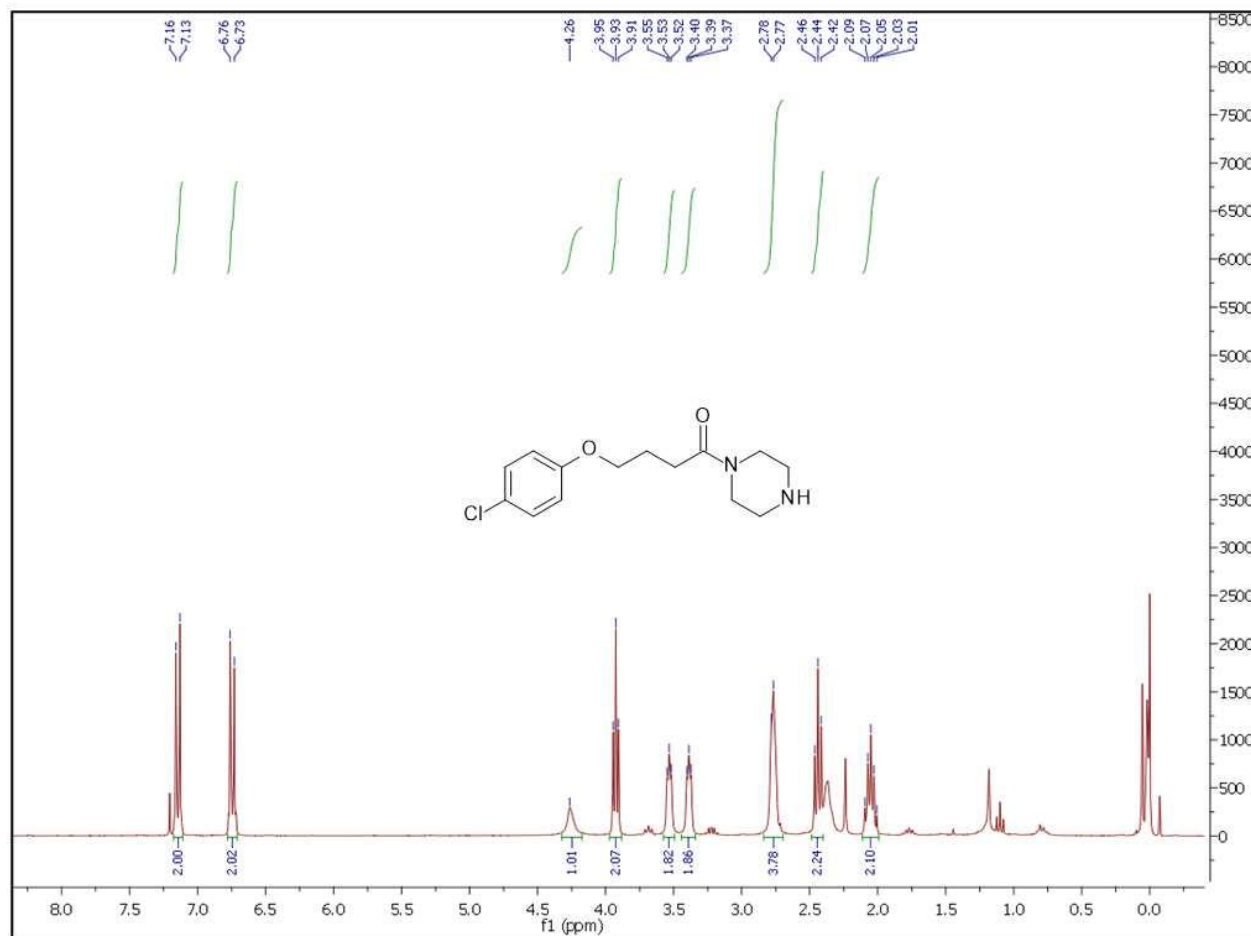
δ 170,56, 157,50, 129,29, 125,48, 115,73, 67,36, 60,44, 53,32, 52,82, 45,41, 41,58, 29,23, 24,80, 19,88, 11,85.

1-(4-propilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7e):**ESPECTRO 40 - Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-propilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7e):**

$[M+H]^+$ m/z calculado para $C_{17}H_{26}ClN_2O_2$: 325.1677, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 325,1666 (erro: 3,38ppm).

1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7f):

ESPECTRO 41 - Espectro de RMN ^1H do 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7f):



Fórmula molecular: $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{O}_2$

PM: 282,76 g/mol

Rendimento: 63%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 50 – Dados de RMN ^1H 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7f).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 7,14 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 6,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H), 4,26 (s, 1H), 3,93 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,57 – 3,49 (m, 2H), 3,44 – 3,34 (m, 2H), 2,77 (d, $J = 4,5$ Hz, 4H), 2,44 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,11 – 1,99 (m, 2H).

1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7f):

ESPECTRO 42 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7f):

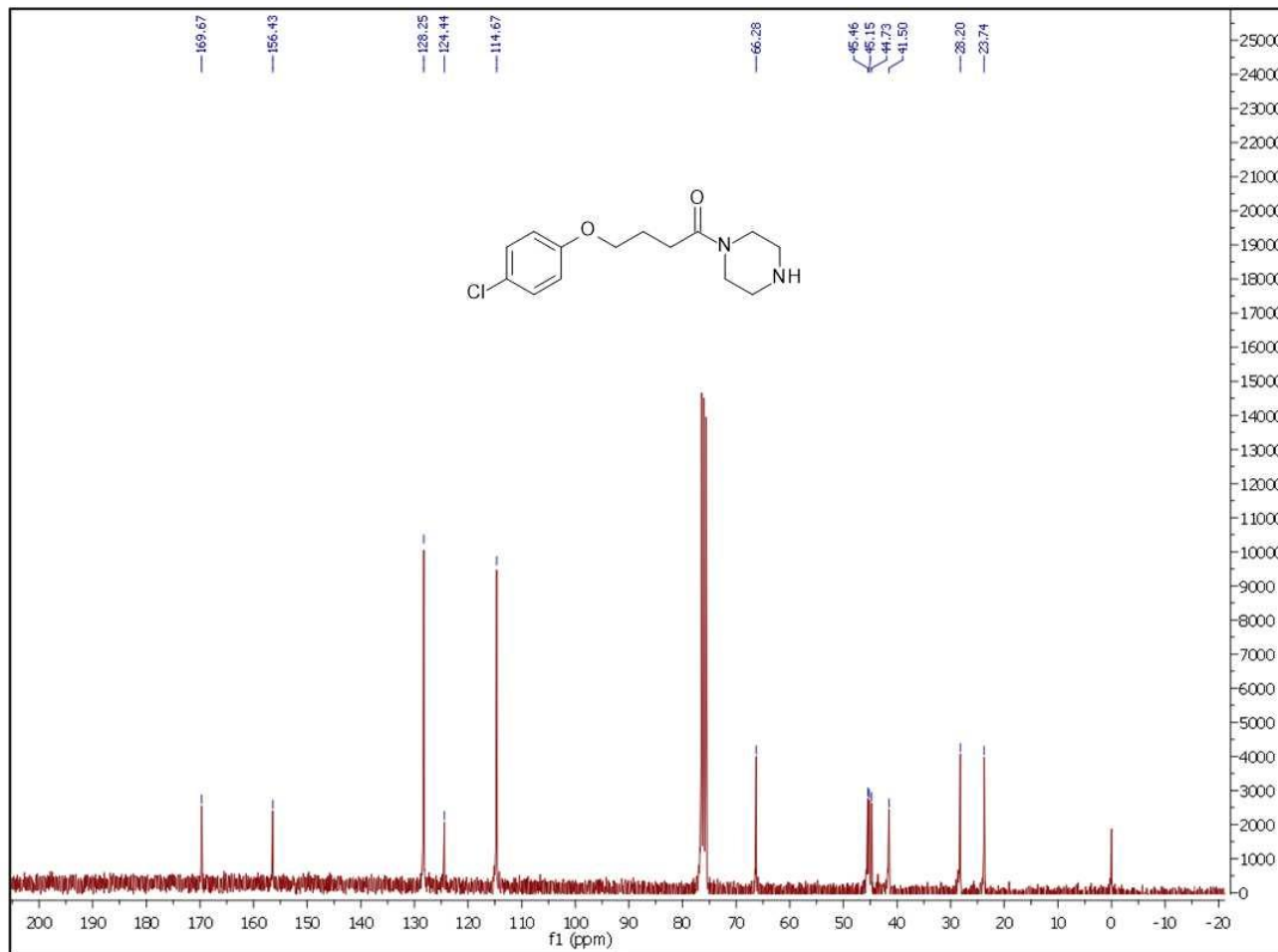


Tabela 51 – Dados de RMN ^{13}C do 1-piperazin-1-il-4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (7f).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCL₃) δ (ppm)

δ 169,67, 156,43, 128,25, 124,44, 114,67, 66,28, 46,44, 45,46, 45,11, 41,50, 28,20, 23,74.

1-(4-alilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi)butan-1-ona (7g):

ESPECTRO 44 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-alilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenóxi) butan-1-ona (7g):

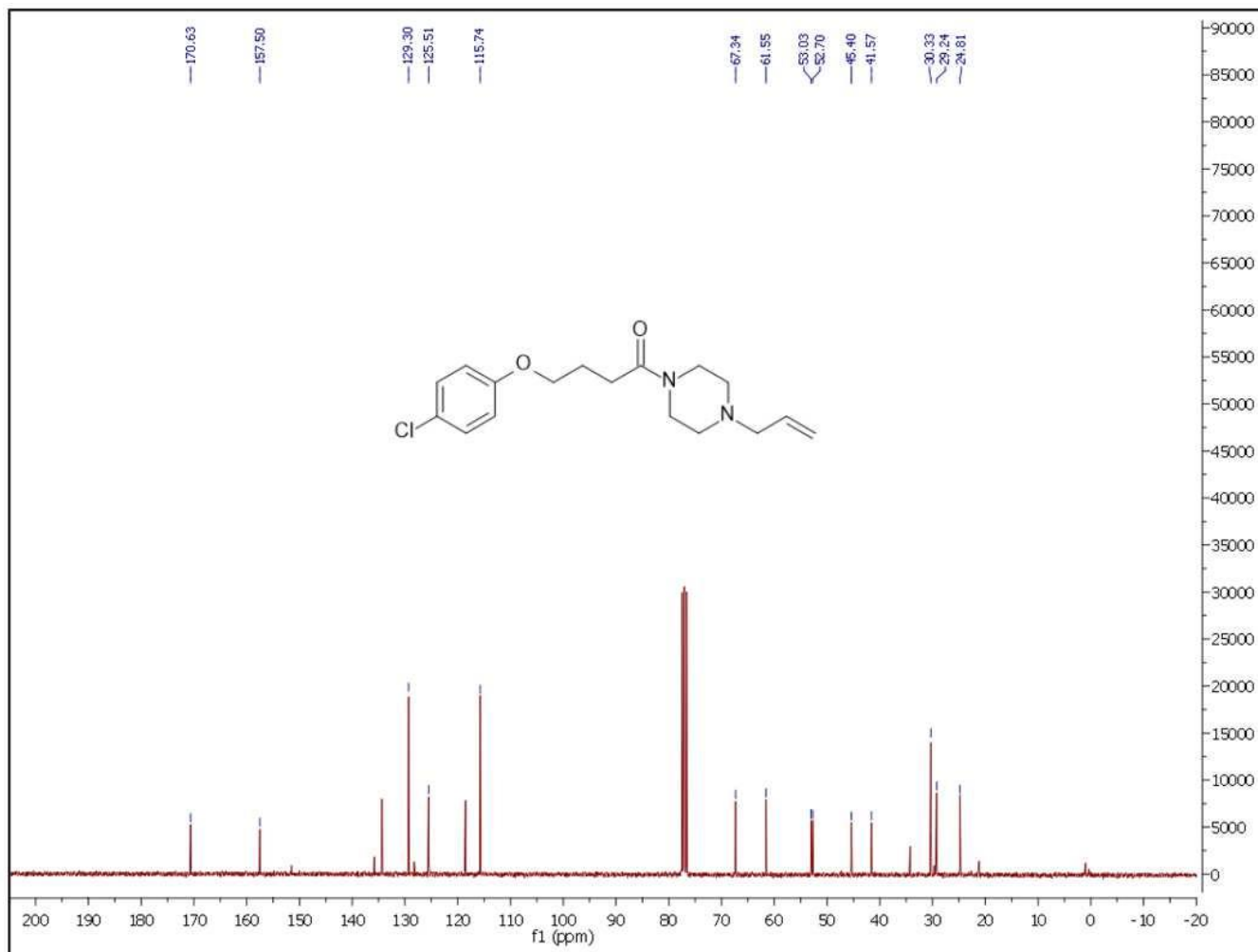


Tabela 53 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-alilpiperazin-1-il) -4-(4-clorofenoxi) butan-1-ona (**7g**).

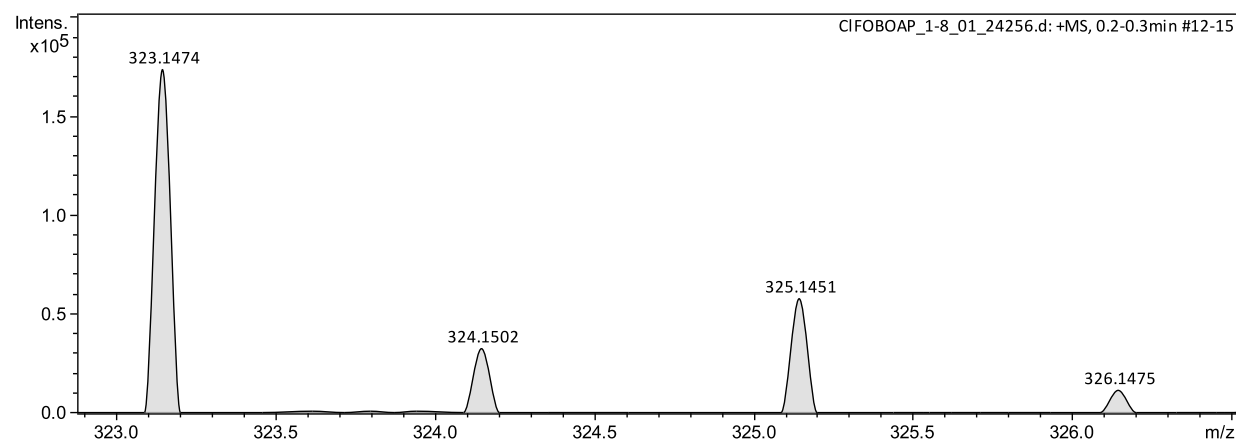
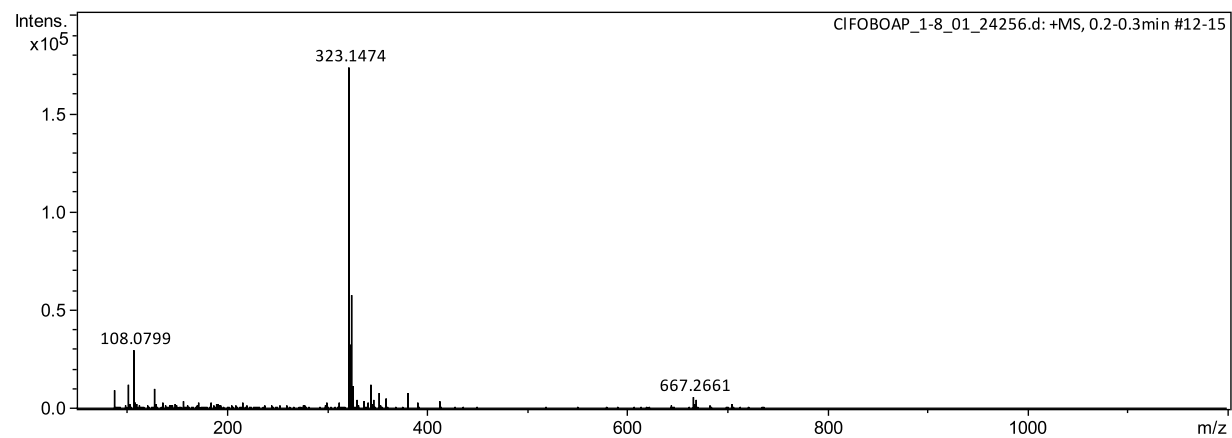
RMN ^{13}C 75 MHz (CDCL₃)

δ (ppm)

δ 170,63, 157,50, 129,30, 125,51, 115,74, 67,34, 61,55, 53,03, 52,70, 45,40, 41,57, 30,33, 29,24, 24,81.

1-(4-alilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi)butan-1-ona (7g):

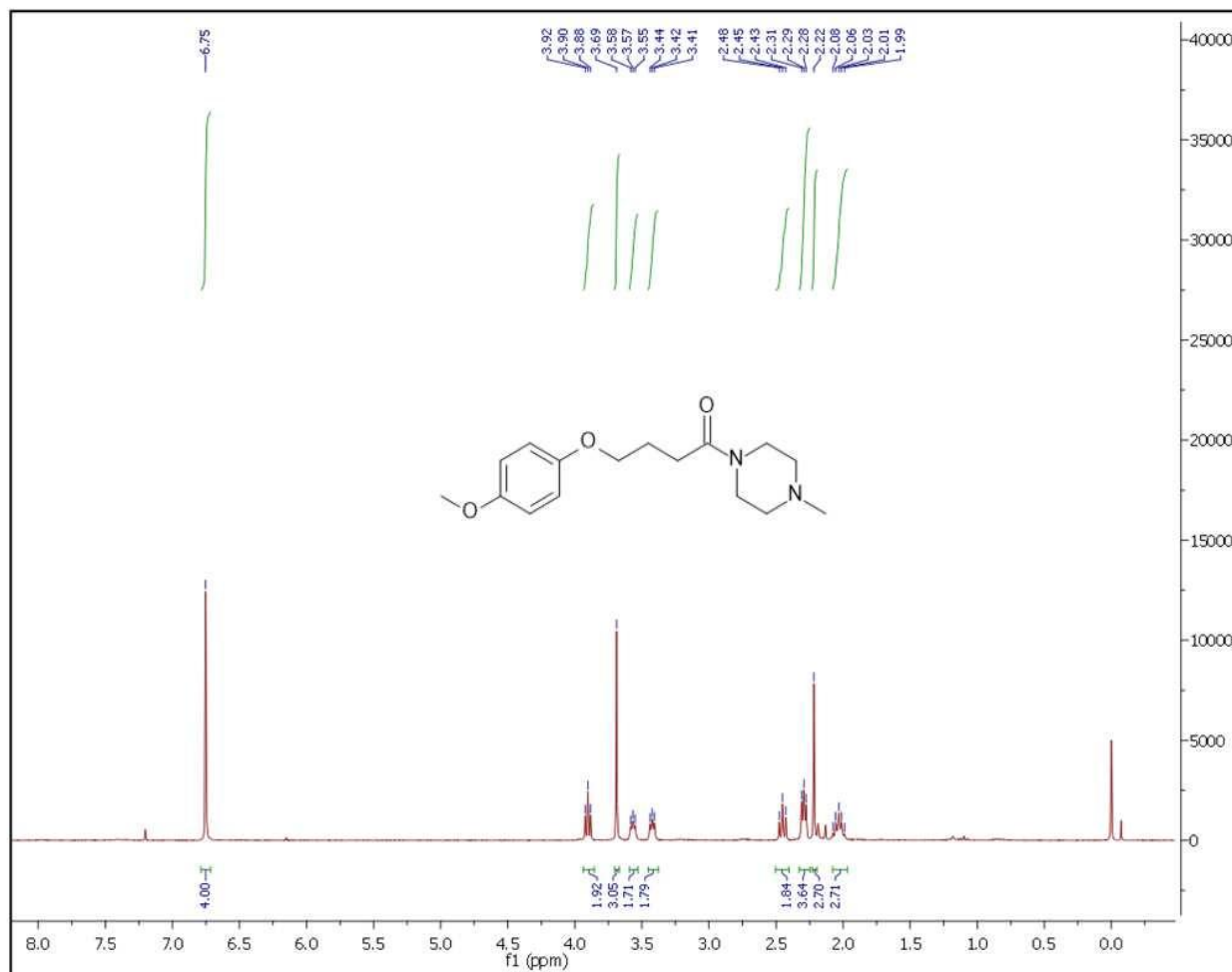
ESPECTRO 45 – Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-alilpiperazin-1-il)-4-(4-clorofenoxi)butan-1-ona (7g):



[M+H]⁺ *m/z* calculado para C₁₇H₂₄ClN₂O₂: 323.1520, *m/z* encontrado para [M+H]⁺: 323.1474 (erro: 14,23ppm).

1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-metóxfenóxi) butan-1-ona (8a):

ESPECTRO 46 - Espectro de RMN ^1H do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8a):



Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$

PM: 292,37 g/mol

Rendimento: 25%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 54 – Dados de RMN ^1H 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-metóxfenóxi) butan-1-ona (8a).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 6,75 (s, 4H), 3,90 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,59 – 3,53 (m, 2H), 3,45 – 3,38 (m, 2H), 2,45 (t, $J = 7,3$ Hz, 2H), 2,33 – 2,25 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,08 – 1,97 (m, 3H).

1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-metóxfenóxi) butan-1-ona (8a):

ESPECTRO 47 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8a):

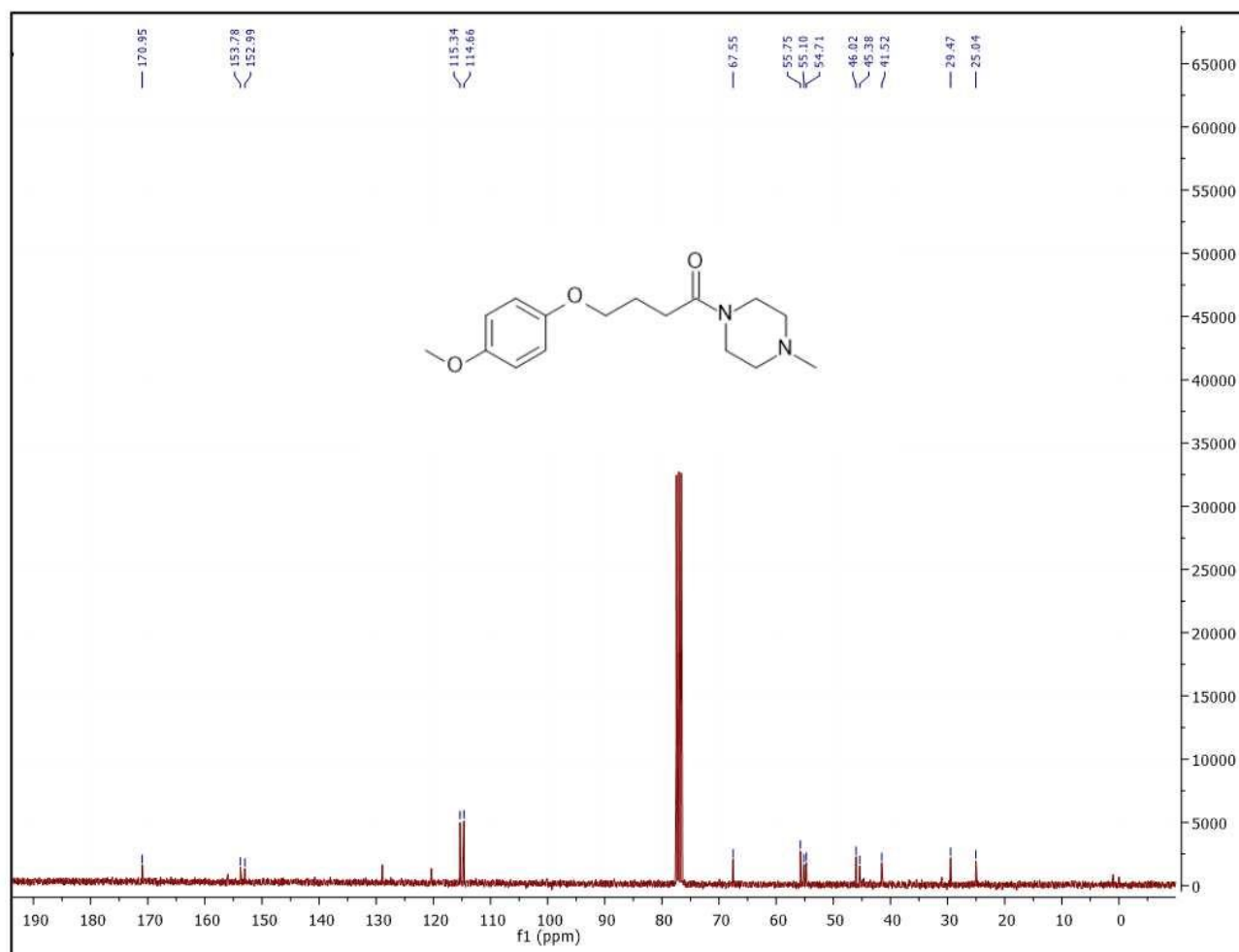


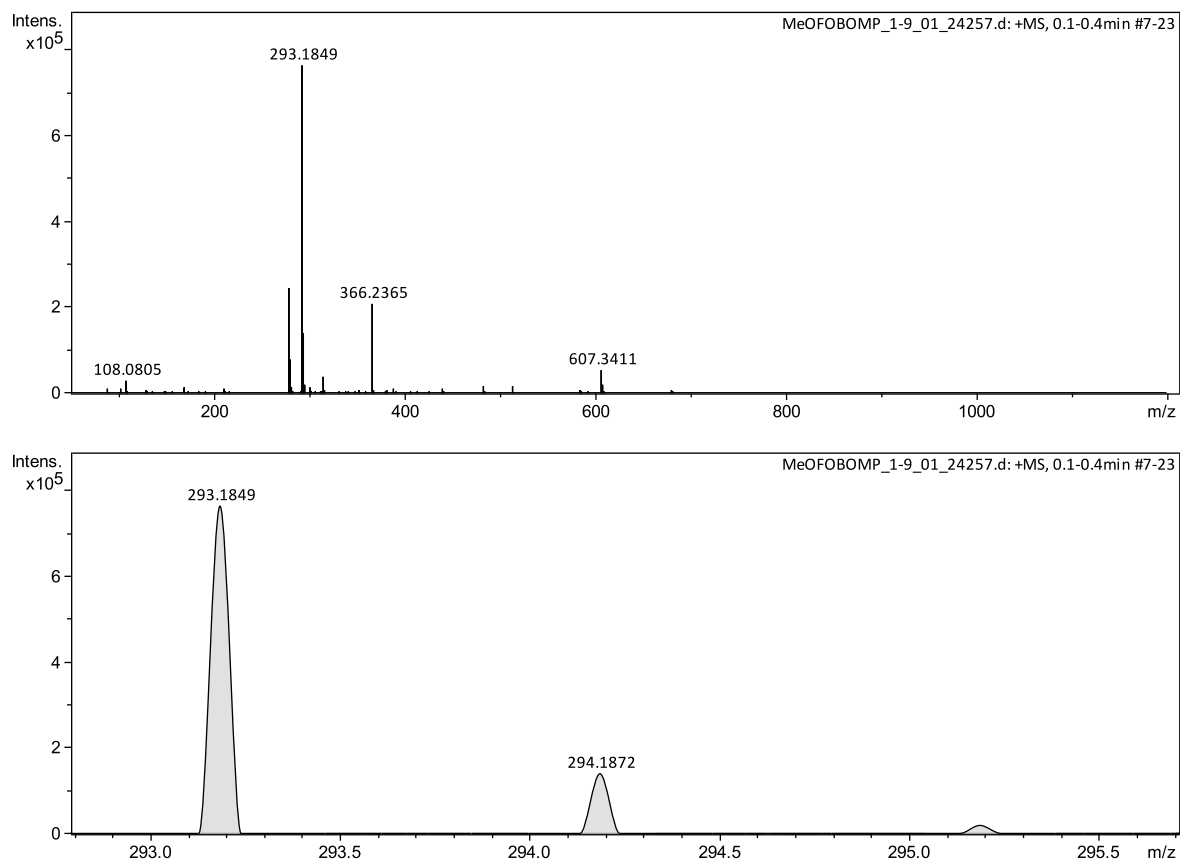
Tabela 55 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8a).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCl₃) δ (ppm)

δ 170,95, 153,78, 152,99, 115,34, 114,66, 67,55, 55,75, 55,10, 54,71, 46,02, 45,38, 41,52, 29,47, 25,04.

1-(4-metilpiperazin-1-il)-4-(4-metóxfenóxi) butan-1-ona (8a):

ESPECTRO 48 – Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-metilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8a):



$[M+H]^+$ m/z calculado para C₁₆H₂₅N₂O₃: 293,1859, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 293,1849(erro: 3,41ppm).

1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi)butan-1-ona (8b):

ESPECTRO 50 - Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8b):

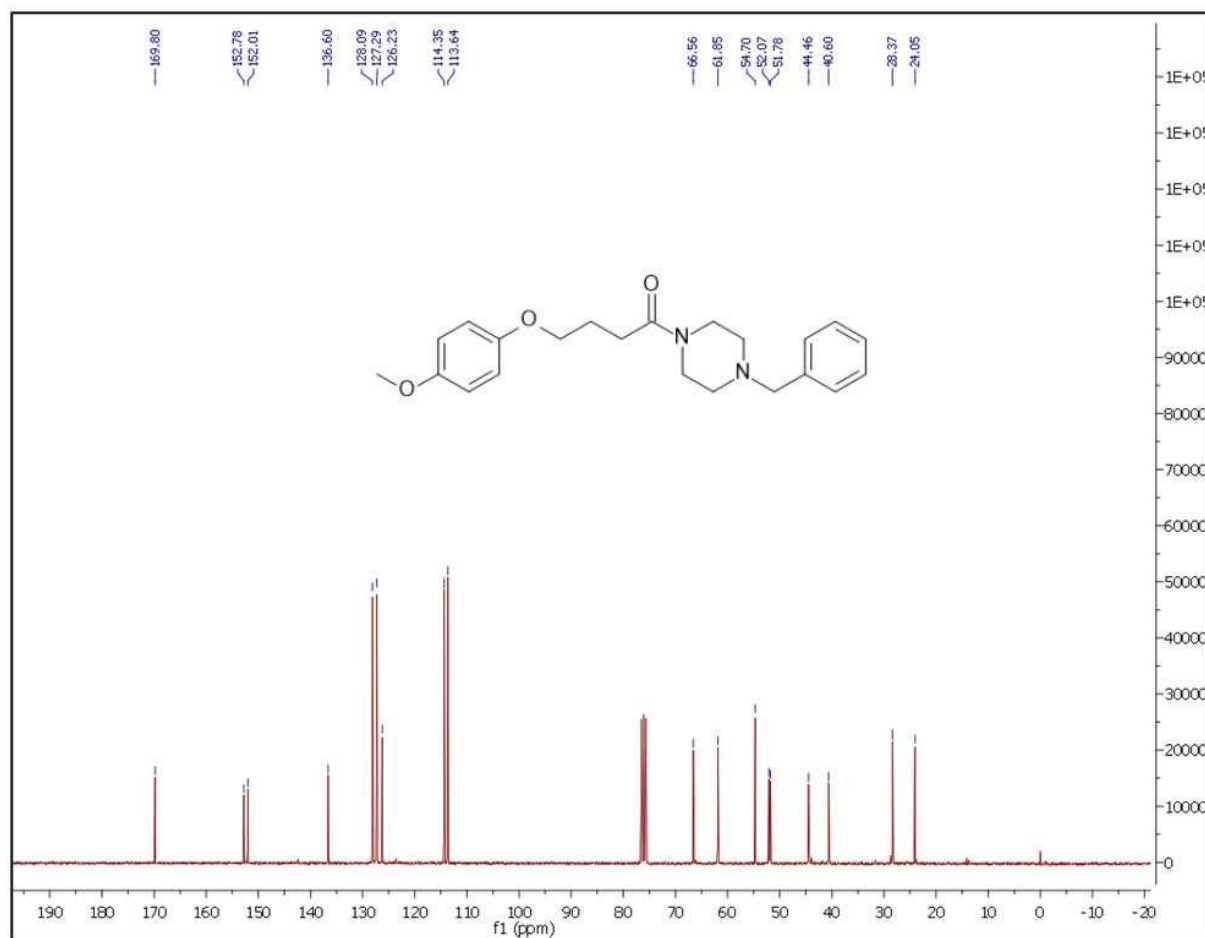


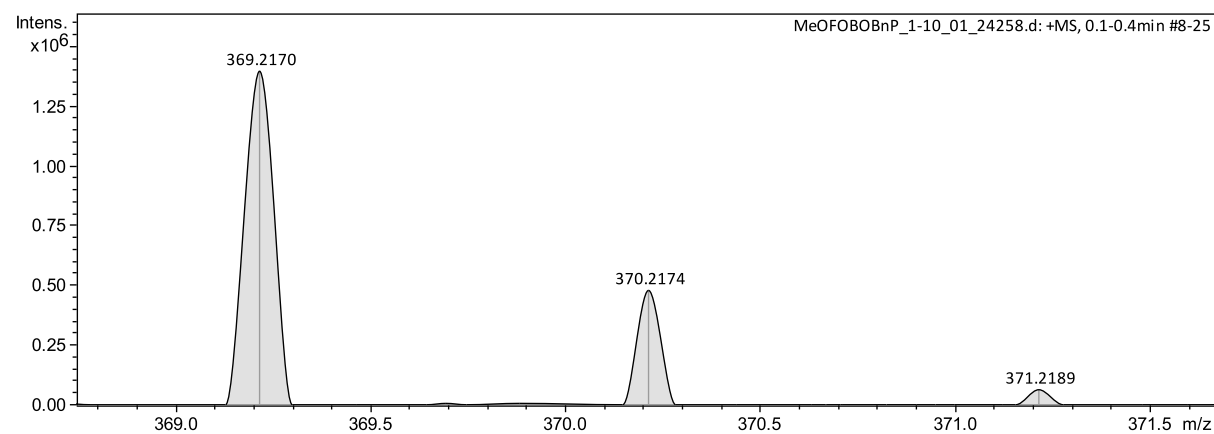
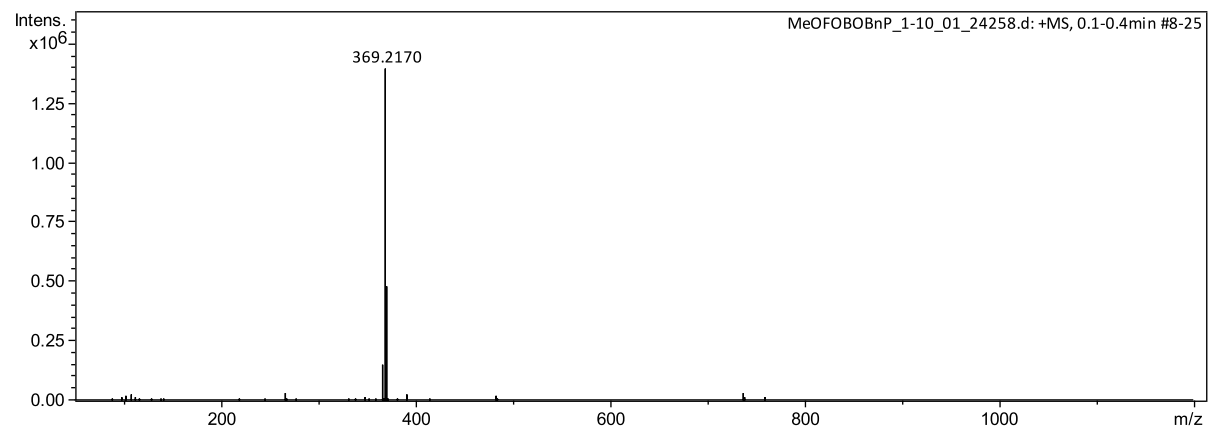
Tabela 57 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8b).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCL₃) δ (ppm)

δ 169,80, 152,78, 152,01, 136,60, 128,09, 127,29, 126,23, 114,35, 113,64, 66,56, 61,85, 54,70, 52,07, 51,78, 44,46, 40,60, 28,37, 24,05.

1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi)butan-1-ona (8b):

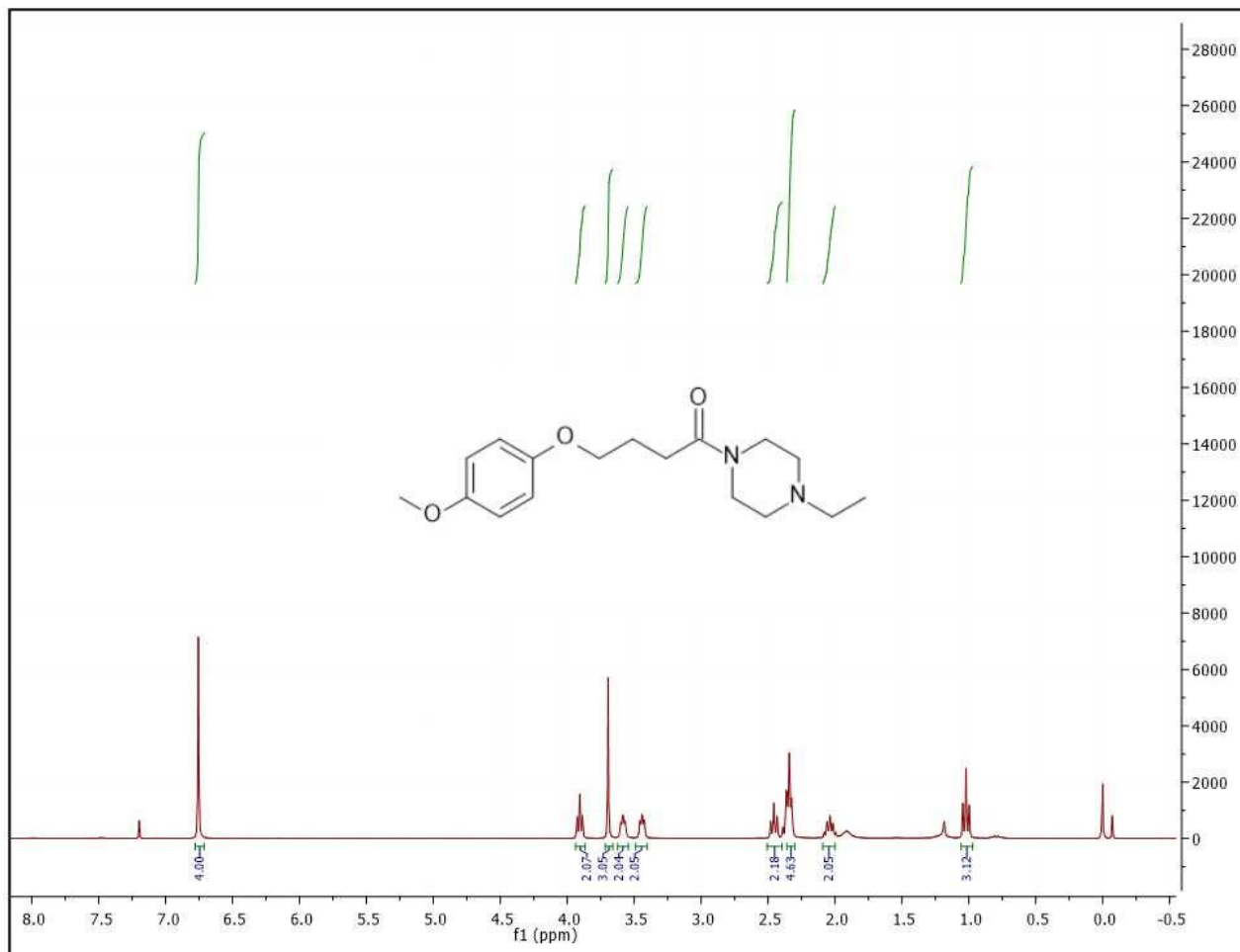
ESPECTRO 51 - Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-benzilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8b):



$[M+H]^+ m/z$ calculado para $C_{22}H_{29}N_2O_3$: 369,2172, m/z encontrado para $[M+H]^+$: 369,2170 (erro: 0,54ppm).

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi)butan-1-ona (8c):

ESPECTRO 52 – Espectro de RMN ^1H do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c):



Fórmula molecular: $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$

PM: 368,46 g/mol

Rendimento: 20%

Aspecto: óleo amarelado

Tabela 58 – Dados de RMN ^1H do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c).

RMN ^1H 300 MHz (CDCl_3) δ (ppm)

δ 6,76 (s, 4H), 3,91 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,62 – 3,54 (m, 2H), 3,49 – 3,40 (m, 2H), 2,51 – 2,39 (m, 2H), 2,33 (d, $J = 4,9$ Hz, 4H), 2,09 – 2,00 (m, 2H), 1,02 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c):

ESPECTRO 53 – Espectro de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c):

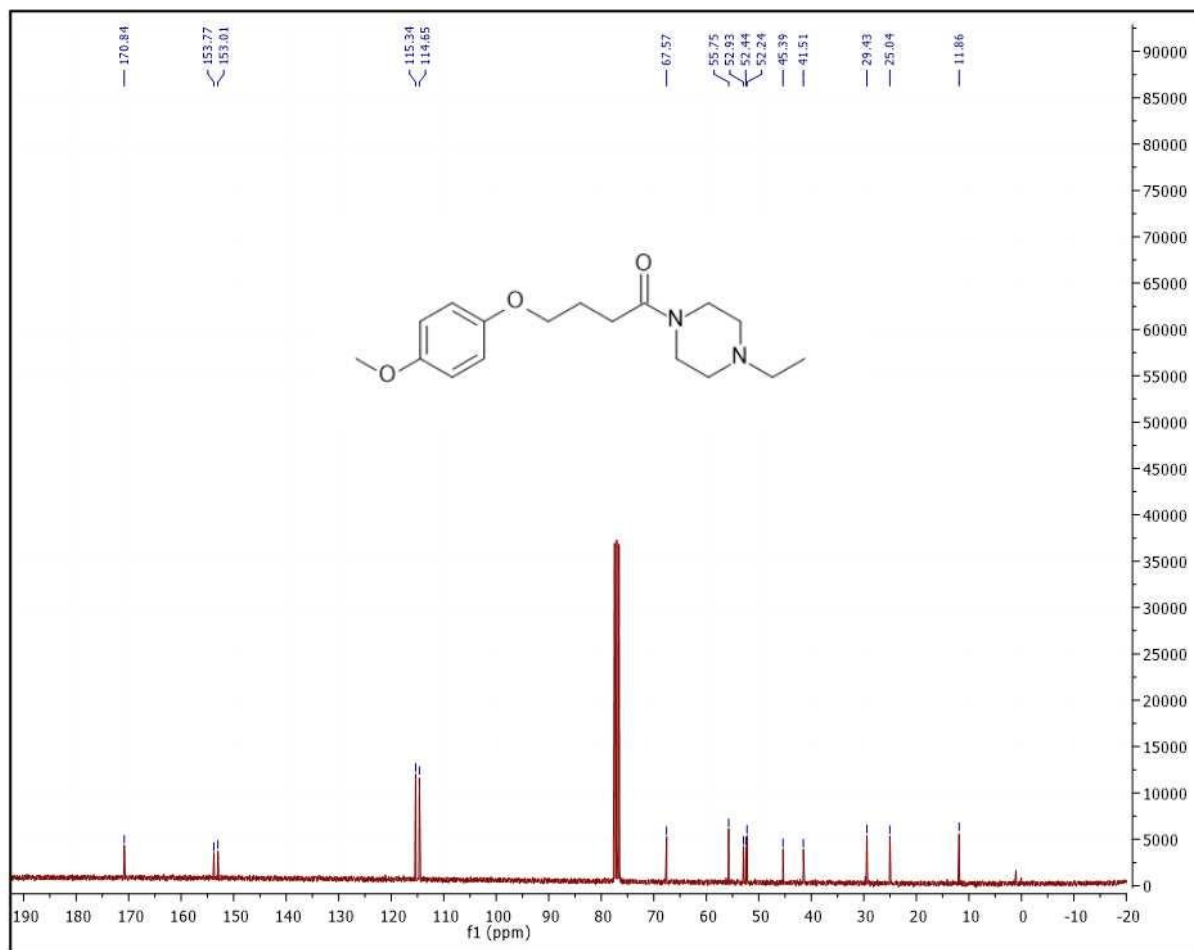
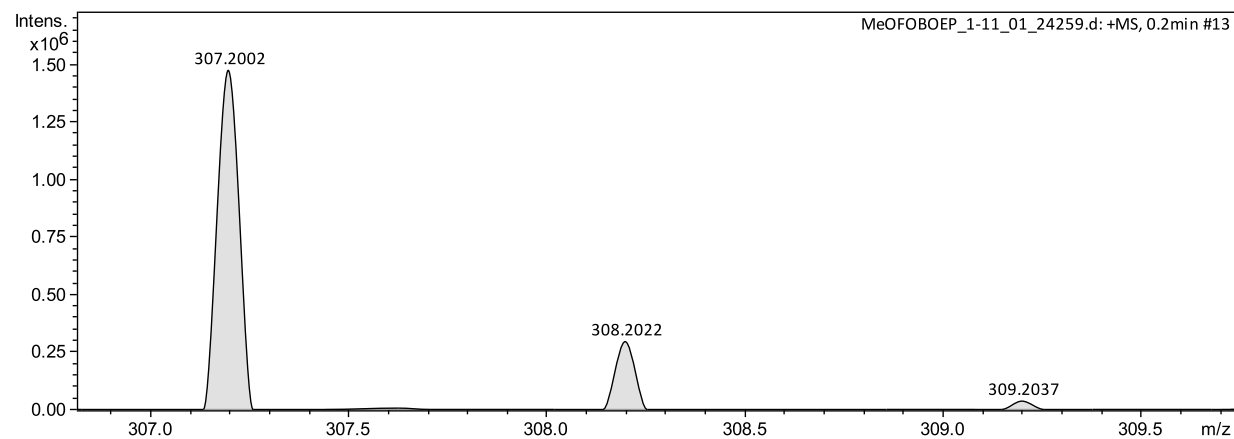
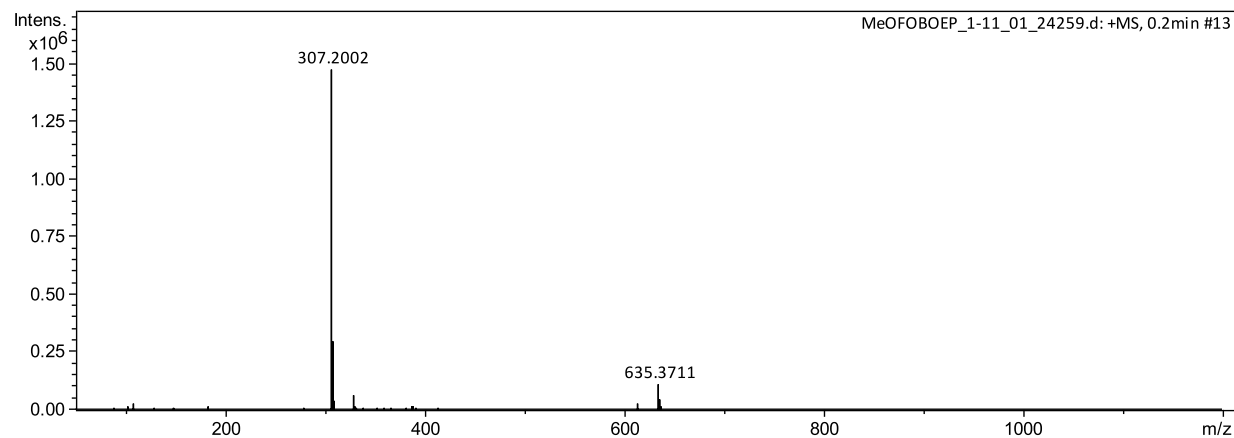


Tabela 59 – Dados de RMN ^{13}C do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c).

RMN ^{13}C 75 MHz (CDCL₃) δ (ppm)

δ 170,84, 153,39, 152,69, 115,34, 114,65, 67,57, 55,75, 52,93, 52,14, 45,39, 41,51, 29,43, 25,04, 11,86.

1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c):**ESPECTRO 54 - Espectrometria de Massas de Alta Resolução do 1-(4-etilpiperazin-1-il) -4-(4-metoxifenoxi) butan-1-ona (8c):**

[M+H]⁺ *m/z* calculado para C₁₇H₂₇N₂O₃: 307,2016, *m/z* encontrado para [M+H]⁺: 307,2002 (erro: 4,55ppm).

ANEXOS

Anexo 1



Serviço Público Federal
Universidade Federal de São Paulo
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa



HISTÓRICO ACADÊMICO

Nome: **ISABELA WILL DE ANDRADE**

Sexo: **F**

CPF: **374.223.358-07**

Nascimento: **17/12/1995**

RG: **39.641.052-2-SSP/SP**

Naturalidade: **SAO PAULO/SP**

Nº da Matrícula: **161250**

Situação: **EM CURSO**

Forma de Ingresso: **REGULAR**

Início: **01/02/2022**

Término Previsto: **31/01/2024**

Homologação do Título:

Nº da Pasta: **20220700338**

Programa: **CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Reconhecido de acordo com o disposto na Portaria MEC nº 809 de 14/03/2019, D.O.U. de 18/03/2019.

Nível: **MESTRADO**

Título da Tese: **SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ARIL-ALQUIPIPERAZINAS COMO LIGANTES DUAIS DE RECEPTORES H3 E COLINESTERASES**

Orientador(a): **JOAO PAULO DOS SANTOS FERNANDES**

Defesa: **26/01/2024**

1ª Língua Estrangeira: **INGLÊS**

2ª Língua Estrangeira:

Graduação: **FARMÁCIA**

Instituição: **UNIVERSIDADE PRESBITERIANA MACKENZIE**

Início: **2017** Término: **2021**

Unidade Curricular

ADVANCED RESEARCH TOPICS ON NEUROINFLAMMATION PHARMACOLOGY

AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS IN SILICO E IN VITRO

PARA O DESENVOLVIMENTO DE MOLÉCULAS BIOTIVAS

ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL DE SUBSTÂNCIAS ORGÂNICAS

FORMAS COVALENTES PARA O TRANSPORTE DE FÁRMACOS

FUNDAMENTOS DE SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL NA ABSORÇÃO ORAL DE FÁRMACOS

METODOLOGIA DA PESQUISA APLICADA ÀS CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PAID: UC QUÍMICA FARMACÊUTICA II

SEMINÁRIOS EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

TÉCNICAS DE SEPARAÇÃO PARA INSUMOS ATIVOS NATURAIS E SINTÉTICOS

Ano	Freq.	Conceito	Créditos
2023	100	A	4
2023	100	B	4
2022	100	A	4
2023	100	B	6
2022	100	A	4
2022	100	A	4
2022	100	A	2
2023	100	A	3
2022	100	A	4
Total de créditos:			35

Legenda:

A-Ótimo / B-Bom / C-Regular / D-Insuficiente

Cursos realizados até dia 31/12/2011: 1 crédito = 12 Horas

Cursos realizados a partir de 01/01/2012: 1 crédito = 15 Horas

Obs: Tipo de Reserva de Vaga atualizado de forma manual conforme solicitação descrita no processo SEI 23089.020517/2023-92

Créditos necessários para o MESTRADO: 25

São Paulo, 15 de fevereiro de 2024

Declaração emitida em **15/02/2024 às 20:49:27** (Horário de Brasília), sob o código **VDD7:9SZM:L4P0:3MCD**. A autenticidade deste documento poderá ser confirmada no endereço <https://www.unifesp.br/verificacao-de-autenticidade> com as informações acima de data, hora e

Anexo 2



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Universidade Federal de São Paulo
Campus Diadema
Departamento de Ciências Farmacêuticas



DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE

Titulo do Projeto de Pesquisa: Síntese e avaliação da atividade de aril-alquilamido-piperazinas como ligantes duais de receptores H_3 e colinesterases

Pesquisador Responsável: João Paulo dos Santos Fernandes

Campus UNIFESP/ Departamento: Diadema/Departamento de Ciências Farmacêuticas

Objetivo acadêmico: Projeto de mestrado

Nome do aluno: Isabela Will de Andrade

Local onde será realizada a pesquisa: Laboratório de Insumos Naturais e Sintéticos/campus Diadema

E-mail para contato: joao.fernandes@unifesp.br

Eu, pesquisador responsável pelo projeto acima especificado, declaro que:

1. O projeto de pesquisa não incluirá participantes de pesquisa, nem utilizará materiais obtidos diretamente de seres humanos (por exemplo células, sangue periférico, tecidos, entre outros), nem utilizará imagem/som/questionários/entrevistas/grupo focal que permitam sua identificação individual, dados de prontuários de assistência do paciente, fichas de cadastros pessoais e/ou fichas escolares;
2. O projeto de pesquisa não utilizará animais vertebrados não humanos nem materiais obtidos diretamente de animais vertebrados não humanos (por exemplo células, sangue periférico, tecidos, entre outros);
3. Estou ciente de que se nesta pesquisa houver manipulação genética (organismos geneticamente modificados), será necessário obter carta de aprovação da Comissão Interna de Biossegurança da Unifesp (CIBio), e que é minha responsabilidade obtê-la antes do início da pesquisa (Lei nº 11.105/2005 <http://www2.unifesp.br/reitoria/orgaos/comissoes/cibio/index.php?cod=apresenta>);
4. Estou ciente de que caso a pesquisa envolva acesso a patrimônio genético brasileiro e/ou conhecimento tradicional, o projeto deverá ser cadastrado no sistema auto declaratório SisGen, conforme Lei nº 13.123/2015, antes da sua publicação e/ou comercialização do produto, sendo de minha responsabilidade realizar e manter este cadastro atualizado (<https://sisgen.gov.br/>);
5. Estou ciente de que caso os dados utilizados nesta pesquisa não forem de acesso público e/ou se a pesquisa não for realizada em local público, será necessário obter o documento de autorização emitido pela instituição em que será realizada a pesquisa e/ou detentora dos dados a serem utilizados, onde deverá conter as atividades que serão desenvolvidas e assinatura do dirigente institucional ou pessoa por ele delegada, com identificação de cargo/função e respectiva assinatura, antes do início da pesquisa (Lei no 12.527/2011);
6. Estou ciente de que se houver coleta de exemplares biológicos e/ou se a pesquisa for realizada em unidades de conservação federais ou em cavidade natural subterrânea, será necessário obter documento de autorização do Ministério do Meio Ambiente, conforme Instrução Normativa nº 03/2014 do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, e é de minha responsabilidade obter este documento antes do início da pesquisa (<https://www.icmbio.gov.br/sisbio/>);

Página 1 de 2

Departamento de Ciências Farmacêuticas
Rua São Nicolau 210 – Centro – Diadema/SP
Telefone: (11) 4044-0500 – dcf.diadema@unifesp.br



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Universidade Federal de São Paulo
Campus Diadema
Departamento de Ciências Farmacêuticas



7. Estou ciente de que se o projeto tiver a possibilidade de gerar conhecimento passível de proteção intelectual (patentes, direito autoral, novos tratamentos, marcas, softwares, cultivares, segredo industrial), é minha responsabilidade entrar em contato com a Agência de Inovação Tecnológica e Social (Agits);
8. Estou ciente de que se houver uso do Hospital São Paulo ou algum de seus ambulatorios ou setores será necessário anexar autorização expedida pelo Comitê de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital São Paulo (CoEPE/HSP), e é minha responsabilidade obter este ofício antes do início da pesquisa (email: coep@huhsp.org.br);
9. Estou ciente de que se houver o uso de agentes radioativos, será necessário obter documento de autorização do Núcleo de Proteção Radiológica (NPR) e é minha responsabilidade obter este documento antes do início da pesquisa (para maiores informações sobre o NPR, contato: npr@unifesp.br; VOIP:2882);
10. O referido projeto cumpre as normas legais vigentes relacionadas à proteção intelectual, boas práticas e ética em pesquisa e que será minha responsabilidade zelar pela correta condução do projeto de pesquisa;
11. Comprometo-me a manter a confidencialidade dos dados coletados e gerados pela pesquisa bem como manter a privacidade de seus conteúdos. Também é minha a responsabilidade não repassar os dados coletados ou o banco de dados em sua íntegra, ou parte dele, a pessoas não envolvidas na equipe da pesquisa;
12. Declaro a precisão de todas as informações acima fornecidas e comprometendo-me a informar todos os demais pesquisadores envolvidos no projeto sobre elas.

Diadema, 03 de janeiro de 2022

Documento assinado digitalmente
gov.br JOÃO PAULO DOS SANTOS FERNANDES
Data: 06/01/2022 14:02:12 -0100
Verifique em <https://verificador.it.br>

Pesquisador Responsável
Prof. Dr. João Paulo dos Santos Fernandes

Isabela W. de Andrade
Assinatura do orientando
Isabela Will de Andrade

De acordo,

Documento assinado digitalmente
gov.br ISIS MACHADO HUEZA
Data: 06/01/2022 17:04:29 -0100
Verifique em <https://verificador.it.br>

Chefe do Departamento ou Diretor de Campus
Prof. Dr. Luiz Elidio Gregório

Anexo 3

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NA PÓS-GRADUAÇÃO

I. Disciplinas realizadas

- a. Seminários em Ciências Farmacêuticas (1º semestre 2022- 1º semestre de 2023);
- b. Metodologia da pesquisa aplicada às ciências farmacêuticas (1º semestre 2022);
- c. Fundamentos de simulação computacional na absorção oral de fármacos (1º semestre 2022);
- d. Elucidação estrutural de substâncias orgânicas (1º semestre 2022);
- e. PAD: UC Química Farmacêutica II (1º semestre 2022);
- f. Técnicas de separação para insumos ativos naturais e sintéticos (2º semestre 2022);
- g. Avaliação de propriedades farmacocinéticas in silico e in vitro para o desenvolvimento de moléculas biotivas (1º semestre 2023).
- h. Formas covalentes para o transporte de fármacos (1º semestre 2023).
- i. Advanced research topics on neuroinflammation pharmacology (2º semestre 2023).

II. Participação em congressos

- a. 11th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry (BrazMedChem 2022). 24-27 de outubro, 2023. Apresentação de pôster: Isabela W. ANDRADE; Marina T. VARELA; Flavia B. LOPES; Cecília M.S.Q. Aranha; João Paulo S. FERNANDES. Design, Synthesis and Evaluation of Phenoxyalkylamido Piperazines as Dual Ligands of H₃ Receptor and Cholinesterases
- b. 10th Brazilian Symposium on Medicinal Chemistry (BrazMedChem 2022). 25-28 de setembro, 2022. Apresentação de pôster: Varela, M. T.; Andrade, I.W.; Redondo, D. V.; Fernandes, J. P. S. Fragment-based design of anticholinesterase agentes on a multitarget approach.
- c. VIII Congresso Acadêmico da Unifesp – Universidade, Conhecimento e Democracia. 27 de junho a 1 de julho, 2022. Apresentação de vídeo-pôster online: Andrade, I. W.; Fernandes, J. P. S. Estudo fatorial para otimização do rendimento sintético de benzilpiperazina.

III. Outras atividades realizadas pelo programa

- a. Estágio pelo Programa de Aperfeiçoamento Didático (PAD), na disciplina de Química Farmacêutica II. Orientação: Prof. Dr. João Paulo dos Santos Fernandes (1º semestre 2022).
- b. Participação como representante dos alunos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF).