

## Artigo

## Butirilcolinesterase - BuChE: um Potencial Alvo para o Desenvolvimento de Fármacos para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Goulart, P. N.; Caruso, L.; Nadur, N. F.; Franco, D. P.; Kümmerle, A. E.;\* Lacerda, R. B.

*Rev. Virtual Quim.*, 2021, 13 (1), 90-126. Data de publicação na Web: 10 de Novembro de 2020

<http://rvq.sbq.org.br>

### Butyrylcholinesterase - BuChE: A Potential Target for Development of Drugs for Alzheimer's Disease Treatment

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is a major cause of senile dementia, being responsible for most of the deaths of elderly people in developed countries. An important feature of AD is the loss of acetylcholine (ACh) in cholinergic and non-cholinergic neurons. However, acetylcholinesterase (AChE) activity is increased in amyloid plaques, which has been important in therapeutic strategy using AChE inhibitors, such as donepezil and galantamine. Butyrylcholinesterase (BuChE) has less affinity for ACh compared to AChE, however its activity seems to be crucial for AD process with decline in AChE levels in the advanced stages of this disease. Thus, research with selective BuChE inhibitors has been increasing considerably as a new perspective for AD treatment. In this review we highlight synthetic and natural selective BuChE inhibitors, described as drug prototypes candidates for AD.

**Keywords:** Butyrylcholinesterase (BuChE); Selective inhibitors; Alzheimer Disease (AD).

### Resumo

A Doença de Alzheimer (DA) é uma das principais causas de demência senil, sendo responsável por grande parte das mortes de idosos em países desenvolvidos. Uma importante marca da DA é a perda de acetilcolina (ACh) nos neurônios colinérgicos e não-colinérgicos. No entanto, a atividade acetilcolinesterase (AChE) está aumentada nas placas amiloides, o que tem sido importante na estratégia terapêutica usando inibidores de AChE, como por exemplo a donepezila e a galantamina. A butirilcolinesterase (BuChE) tem menor afinidade pela ACh se comparada a AChE, no entanto sua atividade parece ser crucial para o processo da DA com o declínio nos níveis de AChE nos estágios avançados desta doença. Dessa forma, a pesquisa com inibidores seletivos de BuChE vem aumentando consideravelmente como uma nova perspectiva para o tratamento da DA. Nesta revisão destacamos inibidores seletivos de BuChE sintéticos e naturais, descritos como candidatos a protótipos de fármacos para a DA.

**Palavras-chave:** Butirilcolinesterase (BuChE); inibidores seletivos; Doença de Alzheimer (DA).

\* Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, CEP 239897-000, Seropédica-RJ, Brasil

 [akummerle@hotmail.com](mailto:akummerle@hotmail.com)  
DOI: [10.21577/1984-6835.20200133](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200133)

## Butirilcolinesterase - BuChE: um Potencial Alvo para o Desenvolvimento de Fármacos para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Paula do N. Goulart,<sup>a</sup> Lucas Caruso,<sup>a</sup> Nathália F. Nadur,<sup>a</sup> Daiana P. Franco,<sup>a</sup> Arthur E. Kümmerle,<sup>a,\*</sup>  Renata B. Lacerda<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, CEP 239897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, CEP 239897-000, Seropédica-RJ, Brasil.

\*[akummerle@hotmail.com](mailto:akummerle@hotmail.com)

*Recebido em 25 de Agosto de 2020. Aceito para publicação em 19 de Outubro de 2020.*

### 1. Introdução

### 2. Doença de Alzheimer (DA)

#### 2.1. Tratamento da DA

### 3. Colinesterases (ChE's)

#### 3.1. Butirilcolinesterase (BuChE)

### 4. Inibidores de Butirilcolinesterase (iBuChE's)

#### 4.1. Derivados Carbamatos

#### 4.2. Derivados Indólicos

#### 4.3. Derivados Benzimidazólicos

#### 4.4. Derivados Fenotiazínicos

#### 4.5. Derivados Quinolínicos

#### 4.6. Derivados da Tacrina

#### 4.7. Derivados Triazólicos

#### 4.8. Outras Classes Químicas de Inibidores de BuChE

#### 4.9. Produtos Naturais Inibidores de BuChE

### 5. Considerações Finais

## 1. Introdução

As colinesterases (ChE's), acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE), são enzimas serina hidrolases, responsáveis pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) (**1**), com a função de interromper sua ação nas junções das várias terminações nervosas colinérgicas com seus

respectivos órgãos efetores ou locais pós-sinápticos.<sup>1</sup> Na junção neuromuscular, a inativação imediata da ACh (**1**, Figura 1) pela AChE é necessária para evitar a difusão lateral e a ativação sequencial dos receptores. Os inibidores de colinesterases, compostos anticolinesterásicos (anti-ChE), são, portanto, agentes que prolongam a existência da acetilcolina (**1**) após sua liberação nas terminações nervosas. Diversos inibidores de colinesterases

são amplamente utilizados como fármacos para o tratamento do glaucoma, na facilitação da motilidade gastrointestinal, etc.<sup>2</sup> Adicionalmente, a existência de inibidores de colinesterases de ação prolongada com capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), tem levado ao estudo e aprovação desses agentes para o tratamento da Doença de Alzheimer (DA). Embora a eficácia desses agentes seja limitada e os mesmos apresentem efeitos colaterais, principalmente hepáticos, esses fármacos ainda constituem os únicos agentes terapeuticamente úteis para o tratamento dos sintomas da demência na DA.<sup>3</sup> Como exemplo desses agentes, podemos destacar a tacrina (**2**, Figura 1), primeiro fármaco para o tratamento da DA, aprovado em 1993 pelo FDA (*Food and Drug Administration*), e, mais recentemente, tivemos a aprovação da donepezila (**3**, Figura 1), que é capaz de melhorar a cognição e retardar a progressão sintomática da DA.<sup>4,5</sup>

A butirilcolinesterase (BuChE) juntamente com a acetilcolinesterase (AChE) são as enzimas colinesterásicas encontradas no sistema nervoso e juntas catalisam a hidrólise da acetilcolina (ACh) (**1**), diminuindo os níveis desse neurotransmissor e cessando a comunicação entre as células nervosas. Entretanto, uma queda acentuada nos níveis desse neurotransmissor resulta na diminuição da função cerebral e, conseqüentemente, na perda progressiva de habilidades intelectuais.<sup>6</sup> A butirilcolinesterase (BuChE) é sintetizada no fígado e encontrada primariamente no plasma e, embora tenha menor afinidade pela ACh se comparada a AChE, é crucial para o processo de hidólise da ACh com o declínio nos níveis de AChE nos estágios mais avançados da DA, por isto os inibidores seletivos de BuChE são vislumbrados como potenciais candidatos para o tratamento desta doença.<sup>7</sup>

## 2. Doença de Alzheimer (DA)

A Doença de Alzheimer (DA) foi descoberta em 1906 pelo Doutor Alois Alzheimer por intermédio de um estudo de caso onde foram observadas

alterações nos emaranhados neurofibrilares,<sup>8</sup> e atualmente representa 50-60% dos casos de demência senil e uma das principais causas de morte de idosos em países desenvolvidos.<sup>9</sup> A DA está associada a um declínio nas capacidades intelectuais de maneira grave o suficiente para afetar o funcionamento social e ocupacional, tendo, portanto, um importante impacto socioeconômico. A DA afeta majoritariamente a população idosa, de modo que as projeções a respeito do envelhecimento populacional sobrepõem a crescente na incidência de doenças crônicas e cognitivas, como o Alzheimer, e estima-se que em 2050, 1 em cada 85 pessoas será afetada por essa doença.<sup>10</sup>

A DA é uma desordem neurodegenerativa progressiva irreversível, de etiologia desconhecida e de provável ação multifatorial, ou seja, causada pela interação de múltiplos mecanismos patogênicos.<sup>10</sup> Uma das principais características da DA é a perda de ACh nos neurônios colinérgicos e não-colinérgicos, que resultam na perda progressiva e irreversível de memória devido ao déficit da função colinérgica.<sup>11</sup> Entretanto, a AChE não está envolvida apenas com o controle dos níveis de ACh, ela também serve como um importante cofator para a agregação do peptídeo Aβ, induzindo alterações conformacionais e bioquímicas em solução e acelerando sua fibrilogênese. Além disso, os complexos AChE-Aβ exibem uma neurotoxicidade consideravelmente maior em comparação com os peptídeos Aβ livres,<sup>12,13</sup> além também de ser capaz de acelerar sua agregação, levando a formação das fibrilas típicas da DA.<sup>14</sup> Desta forma, uma importante estratégia terapêutica para o tratamento da DA tem sido o uso de inibidores de acetilcolinesterase (AChE).

Além da perda de memória recente, os principais sintomas da DA causados pelo déficit colinérgico são as perdas de outras funções cognitivas como capacidade de fazer cálculos, habilidades visioespaciais, capacidade de uso de objetos e ferramentas comuns, além de vários distúrbios psiquiátricos e comportamentais. A morte de pacientes acometidos ocorre em aproximadamente 6-12 anos de doença e é geralmente causada por

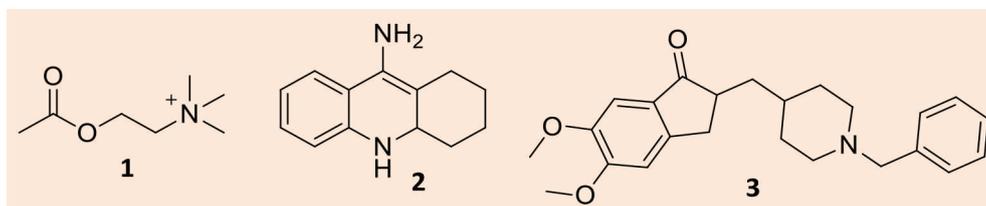


Figura 1. Estruturas químicas da acetilcolina (**1**), tacrina (**2**) e donepezila (**3**)

complicações da imobilidade, como pneumonias, embolia pulmonar, etc.<sup>15</sup>

### 2.1. Tratamento da DA

A acetilcolina (ACh) (**1**) foi o primeiro neurotransmissor descrito. Ela foi descoberta por Henry Dale (1914) e Loewis (1921), os quais dividiram o prêmio Nobel de medicina em 1936 por este feito. A acetilcolina (**1**) é encontrada no cérebro, junções neuromusculares, medula espinhal e gânglios do sistema nervoso autônomo. É biossintetizada pela transferência catalisada enzimaticamente (colina acetiltransferase) do grupo acetila do acetil-CoA para a colina, um álcool de amônio quaternário (**5**, Figura 2), e atua em receptores inotrópicos (nicotínicos) e metabotrópicos (muscarínicos). A acetilcolina livre, não ligada a receptores, é hidrolisada pela acetilcolinesterase (AChE), em ácido acético e colina, como um mecanismo fisiológico para interromper suas ações.<sup>16,17</sup>

A acetilcolina contribui nos processos cognitivos e está intimamente relacionada à DA, o que tem sido importante na estratégia terapêutica usando inibidores de acetilcolinesterases (AChE's) ou anticolinesterásicos. A inibição da AChE aumenta a concentração de ACh nas sinapses e resulta na produção de melhores respostas nos receptores muscarínicos e nicotínicos. A fisostigmina (**8**, Figura 3), um dos primeiros inibidores de acetilcolinesterase

(AChE) estudados, produziu melhorias modestas na cognição e seu uso foi limitado devido ao regime de dosagem frequente e reações adversas severas.<sup>18</sup> Podemos citar como exemplos de fármacos anticolinesterásicos usados no tratamento padrão de primeira linha para pacientes com DA fraca a moderada: a Tacrina (**2**),<sup>4</sup> descontinuada em 2013, Donepezila (**3**),<sup>5</sup> Rivastigmina (**9**, Figura 3),<sup>19</sup> e Galantamina (**10**, Figura 3);<sup>20</sup> os quais, com exceção da rivastigmina (**9**), não tem a função carbamato e são classificados como anticolinesterásicos não-clássicos.

A tacrina (**2**) (tetrahydroaminoacridina, Cognex™) foi o primeiro fármaco aprovado para o tratamento da DA e é classificada como um inibidor de acetilcolinesterase não-clássico. É um inibidor reversível e não competitivo de acetilcolinesterase e butirilcolinesterase.<sup>21</sup> A molécula da tacrina (**2**) foi inicialmente sintetizada como um antisséptico, em 1940 por Adrian Albert na Austrália. Mais tarde, na década de setenta, William Summers começou a usar a tacrina (**2**) para o tratamento do coma por overdose e delírio. Já no início da década de oitenta, Summers e colaboradores, na UCLA, demonstram a utilidade do uso da tacrina (**2**) por via oral para tratar pacientes com DA.<sup>22</sup> Em 1993 acontece a aprovação da tacrina (**2**) pelo FDA para o tratamento da DA. Entretanto, embora houvesse eficácia terapêutica, esse fármaco possuía efeitos adversos significativos relacionados à sua alta hepatotoxicidade, o que levou a sua descontinuação em 2013.<sup>23,24</sup>

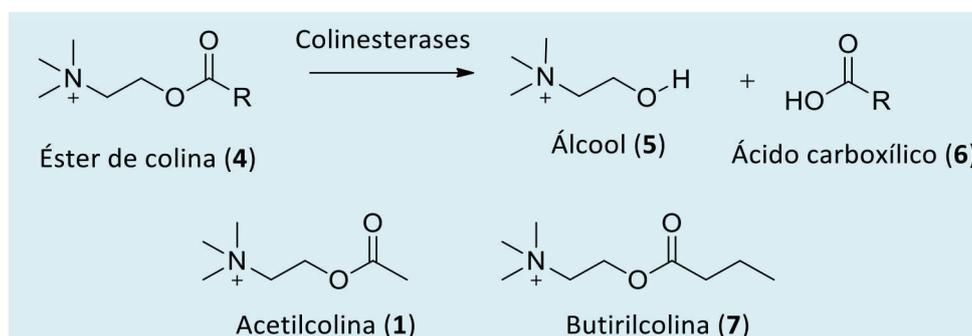


Figura 2. Hidrólise dos éteres de colina pelas colinesterases

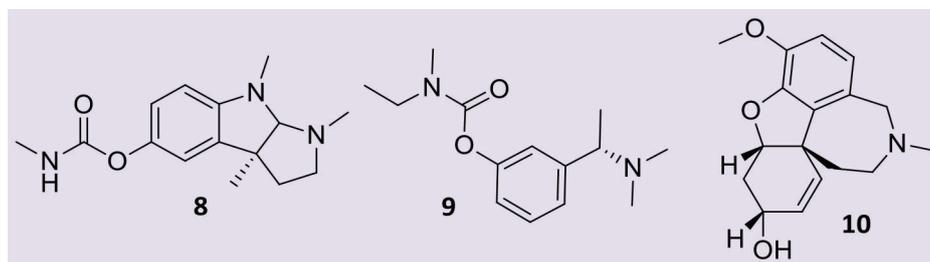


Figura 3. Estruturas químicas da fisostigmina (**8**), rivastigmina (**9**) e galantamina (**10**)

A donepezila (**3**) (Aricept™), uma indanona-benzilpiperidina, é o primeiro de uma nova classe de inibidores reversíveis e não competitivos de acetilcolinesterase não relacionados à tacrina (**2**) ou fisostigmina (**8**). O fármaco apresenta uma alta seletividade para a acetilcolinesterase (570-1250 vezes mais seletivo para AChE do que para BuChE) e possui ação central tendo maior afinidade para a AChE do cérebro do que periférica, aumentando assim os níveis de acetilcolina na fenda sináptica.<sup>25</sup> A donepezila (**3**) é majoritariamente metabolizada pelo fígado, pelas enzimas hepáticas CYP2D6 e CYP3A4, podendo interagir com fármacos que inibem essas enzimas.<sup>26</sup> Quando comparada à tacrina (**2**), a donepezila (**3**) tem maior seletividade para a AChE central, maior tempo de meia-vida e pouco, ou nenhum, potencial para hepatotoxicidade.

A rivastigmina (**9**) (Exelon™) é um arilcarbamatato que possui inibição reversível carbamatoilante de ação longa, que inibe a AChE e a BuChE com afinidades semelhantes,<sup>27</sup> porém seletivo para a AChE cerebral e com baixa toxicidade. Tem meia-vida de apenas duas horas, porém é capaz de continuar inibindo a AChE por mais de dez horas devido à sua lenta dissociação da enzima carbamatoilada. A rivastigmina (**9**) possui metabolismo não hepático, tornando raras as interações medicamentosas.<sup>28</sup>

A galantamina (**10**) (Razadyne™) é um alcaloide terciário que atua na melhora da função colinérgica por dois mecanismos de ação: como inibidor reversível, competitivo e seletivo da acetilcolinesterase (AChE)<sup>29</sup> e como um modulador alostérico dos receptores colinérgicos nicotínicos, onde ao se ligar à subunidade  $\alpha$  potencializa a resposta à ACh.<sup>30</sup> O perfil de efeitos colaterais é semelhante ao observado para a rivastigmina (**9**) e donepezila (**3**), não estando associada ao perfil hepatotóxico que limita o uso da tacrina (**2**).<sup>29</sup>

### 3. Colinesterases (ChE's)

Como descrito no tópico anterior, o principal alvo de tratamento da DA atualmente são as colinesterases. Do ponto de vista estrutural, as colinesterases pertencem à família das serina hidrolases, responsáveis por catalisar a hidrólise de ésteres de colina, sendo o neurotransmissor acetilcolina (**1**) o principal substrato. Existem dois tipos de colinesterase: acetilcolinesterase (AChE, EC 3.1.1.7), também conhecida como a colinesterase

“verdadeira” ou “específica”; e butirilcolinesterase (BuChE, E.C. 3.1.1.18) conhecida como colinesterase “sérica”, “pseudo” ou “não específica”.<sup>31</sup>

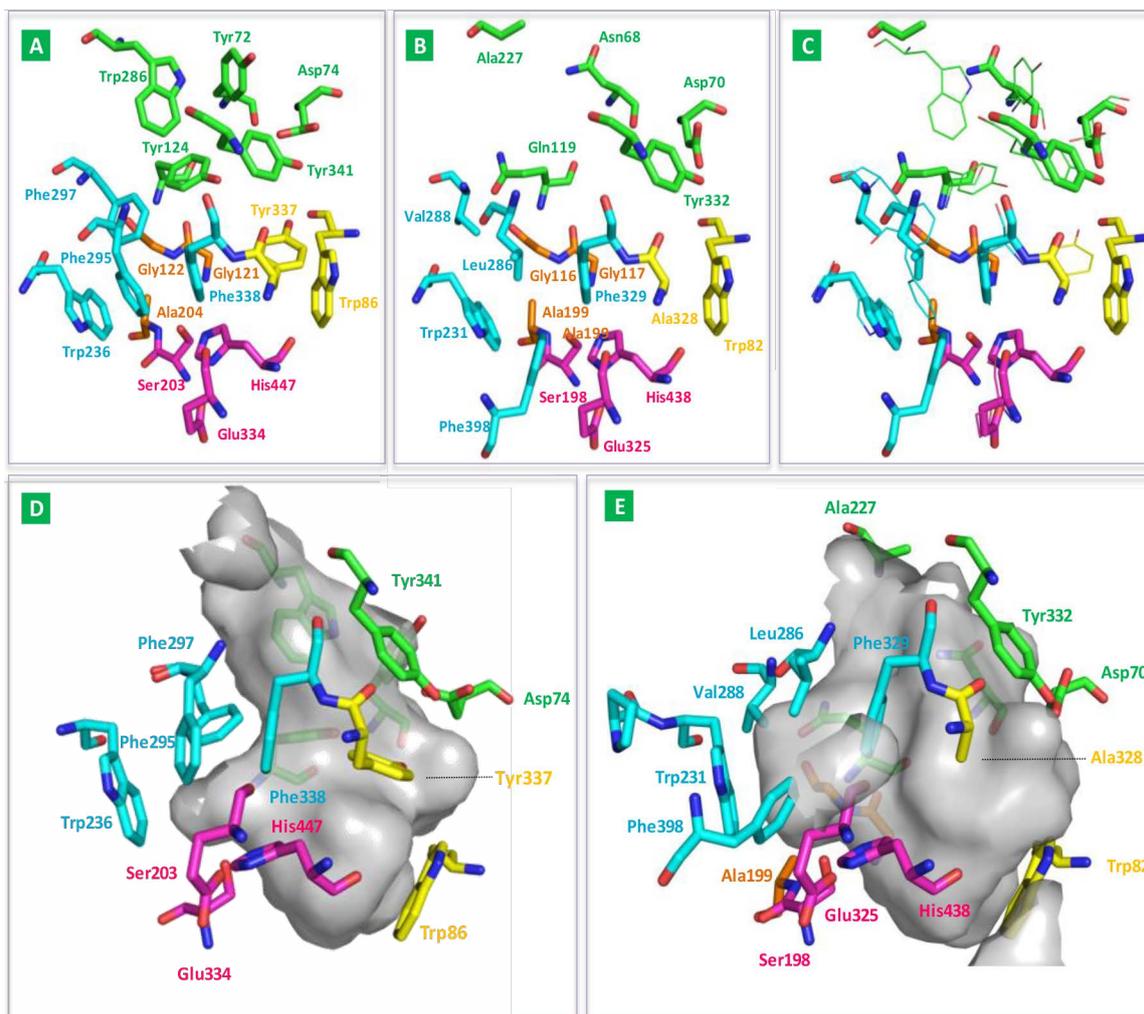
A AChE tem elevada especificidade pela acetilcolina, além de possuir alta eficiência, já que é capaz de hidrolisar  $6 \times 10^5$  moléculas de ACh por minuto,<sup>32,33</sup> sendo responsável por aproximadamente 95% da atividade das colinesterases (ChEs) em um cérebro humano normal.<sup>34</sup> Em contrapartida, a BuChE é inespecífica, hidrolisa tanto a ACh, mas com taxa de hidrólise mais lenta, quanto outros ésteres como a butirilcolina (BuCh).<sup>35</sup>

As colinesterases estão distribuídas de maneira distinta através dos tecidos, sendo a AChE encontrada principalmente no sistema nervoso central e periférico, nas junções neuromuscular e na membrana dos eritrócitos. Enquanto a BuChE é amplamente distribuída em vários tecidos, como no plasma, pulmões, fígado, coração, sistema nervoso central e periférico, principalmente de origem glial.<sup>35</sup>

A AChE e BuChE apresentam 65% de homologia no que se refere às respectivas sequências de aminoácido e dispõem de estruturas terciárias e quaternárias relativamente similares.<sup>36,37</sup> Ambas possuem um canal estreito de aproximadamente 20 Å de profundidade, no qual se encontra o sítio aniônico periférico (PAS) localizado na entrada deste canal, e o sítio de acilação catalítica (CAS) situado na extremidade inferior deste canal (Figura 4).<sup>38</sup>

Ademais, o CAS comporta, além da tríade catalítica, diferentes subsítios importantes para a interação do ligante com a enzima, como: sítio de ligação de acila, responsável por acomodar o grupo acila do substrato durante a catálise; sítio de ligação de colina, capaz de estabilizar a subunidade colina no sítio ativo através de interações cátion- $\pi$ ; cavidade oxianion, capaz de formar fortes ligações de hidrogênio com o oxigênio carboxílico da ACh e ajudar na estabilização da carga negativa gerada durante o reação de hidrólise.<sup>38</sup>

Em ambas as enzimas, os aminoácidos Ser, His, Glu que compõem a tríade catalítica são conservados.<sup>39</sup> Através destes, o mecanismo catalítico envolve a ativação (aumento da nucleofilicidade) do grupo hidroxila da serina via sistema de revezamento de carga envolvendo o ânion carboxilato de glutamato, o ânion imidazol da histidina. O ânion hidroxila da serina formado é capaz de atacar o carbono eletrofílico do substrato, gerando um intermediário tetraédrico. Após sucessivas transferências de prótons entre o intermediário e o resíduo de



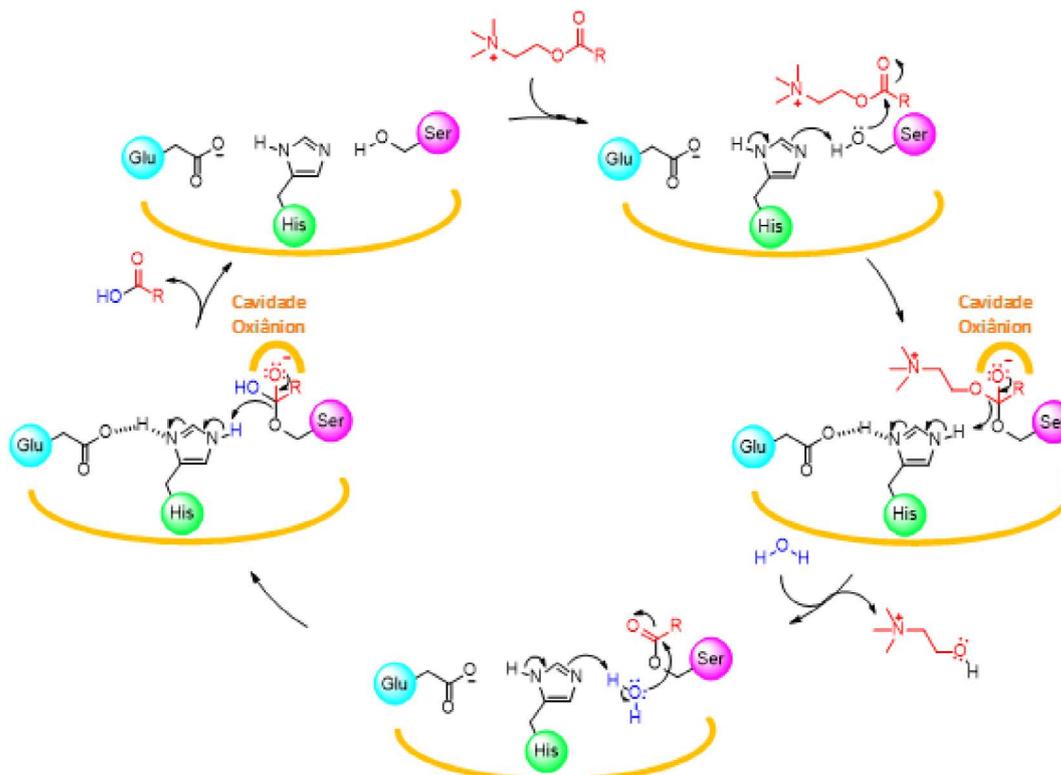
**Figura 4.** A – Sítio ativo da acetilcolinesterase humana (hAChE) (pdb 4ey4). B – Sítio ativo da butirilcolinesterase humana (hBuChE) (B; pdb 1p0i). C – Sobreposição dos sítos ativos da hAChE e hBuChE. D – Representação da superfície do canal profundo da hAChE (cinza). E – Representação da superfície do canal profundo da hBuChE (cinza). Os resíduos estão representados: no PAS (em verde); na tríade catalítica (em magenta); na cavidade oxiânion (em laranja); no sítio de ligação de acil (em ciano); no sítio de ligação de colina (em amarelo)

histidina, a colina é liberada, resultando na serina acetilada. Ao final, a hidrólise da serina acetilada regenera o sítio catalítico da enzima e forma um equivalente do ácido carboxílico correspondente (Figura 5).<sup>40,41</sup>

Embora ambas as enzimas sejam semelhantes, estas possuem diferenças espaciais que contribuem para as respectivas seletividades tanto em relação aos substratos quanto aos inibidores. A diferença mais significativa refere-se à presença de resíduos aromáticos no sítio ativo da AChE (Tyr72, Tyr124, Tyr337, Phe295, Phe297) enquanto na BuChE estão presentes resíduos alifáticos (Asn72, Gln124, Ala337, Leu286, Val288), permitindo que a BuChE acomode substratos mais volumosos<sup>42,43</sup>

### 3.1. Butirilcolinesterase (BuChE)

O papel fisiológico da BuChE ainda não está totalmente elucidado. Embora seja capaz de hidrolisar ACh (**1**) e outras acilcolinas, até agora nenhum substrato natural endógeno foi descrito para esta enzima. Como a BuChE é relativamente abundante no plasma (cerca de 3mg/litro) e é capaz de degradar grande número de compostos contendo éster, ela desempenha importantes funções farmacológicas e toxicológicas, como no metabolismo de lipoproteínas e fármacos. Sendo, por exemplo, uma enzima com potencial desintoxicante usada contra organofosfatos neurotóxicos.<sup>31,44</sup>



**Figura 5.** Representação do mecanismo catalítico de hidrólise pelas colinesterases

Adicionalmente, a BuChE tem sido correlacionada com inúmeras doenças, como diabetes, obesidade, esteatose hepática, hipertireoidismo, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas.<sup>45-50</sup> Entretanto, sua função fisiológica ainda não está completamente esclarecida visto que estudos reportaram que indivíduos que possuem gene de BuChE silencioso, não apresentaram qualquer sinal de deficiência física ou mental.<sup>51</sup> Também foi observado que camundongos *knockout* para BuChE, ou seja, que tiveram o gene da BuChE desativado, não apresentam deficiência fisiológica.<sup>52</sup>

No cérebro saudável, a AChE é a principal enzima responsável pela regulação da ACh, todavia em estágios avançados da DA, o nível de AChE no cérebro diminui gradativamente até 90%, enquanto a BuChE aumenta até 165% dos níveis normais,<sup>46, 53</sup> evidenciando o caráter compensatório da BuChE na ausência de AChE e, conseqüentemente, sua relevância para a hidrólise da ACh em fase tardia da DA. Pesquisas realizadas com modelos de camundongos *knockout* para AChE, confirmaram tal característica, visto que as vias colinérgicas foram mantidas normais mesmo com o gene da AChE desativado neste animais.<sup>54, 55</sup> Desta forma a BuChE parece ter papel importante na hidrólise da ACh em estágios mais avançados da DA e seus os inibidores

seletivos são potenciais candidatos a fármacos para o tratamento da DA em estágios avançados.

Além disso, outras funções não-clássicas das colinesterases têm interferido no avanço da DA, tal como na cascata amilóide. Foi observada, por exemplo, a presença da BuChE entre placas neuríticas, o que sugere que esta enzima esteja envolvida na formação destes agregados peptídicos.<sup>56</sup> Existem evidências de que a inibição da BuChE pode influenciar no processo de redução da formação de Aβ, apesar do mecanismo de ação ainda não ter sido elucidado.<sup>34, 57</sup> Portanto, pesquisas com inibidores da BuChE emergem como uma nova abordagem terapêutica contra a progressão da DA.

#### 4. Inibidores de Butirilcolinesterase (iBuChE's)

Nos últimos anos uma grande variedade de novas entidades químicas (NEQ's) com propriedades inibitórias seletivas sobre a BuChE vem sendo planejadas e investigadas como potenciais candidatos a fármacos para o tratamento da DA. Diversas classes de compostos sintéticos e naturais tem sido descritas na literatura científica e

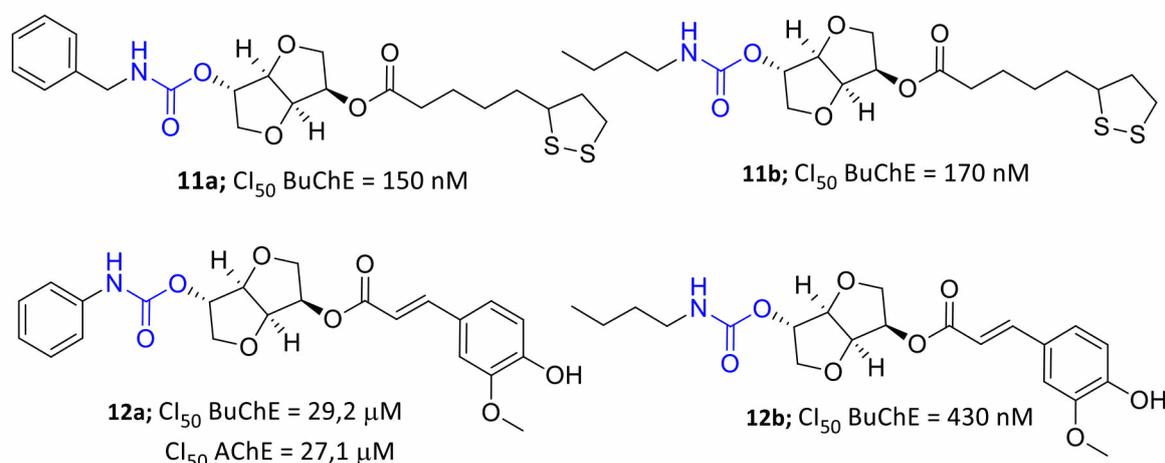
destacamos nesta revisão algumas delas, como os carbamatos, derivados indólicos, benzimidazólicos, fenotiazínicos, quinolínicos, derivados da tacrina e triazóis. Adicionalmente, também destacamos alguns compostos representativos de classes de produtos naturais descritos como inibidores seletivos de BuChE.

#### 4.1. Derivados Carbamatos

Os carbamatos constituem uma importante classe de compostos orgânicos em química medicinal, sendo utilizados também como inseticidas, fungicidas e parasiticidas no setor agrícola. Além disso, esta subunidade pode ser encontrada em estruturas de importantes fármacos anticâncer, anti-HIV e asma, por exemplo, como o irinotecan, efavirenz, ritonavir, zafirlucast, etc.<sup>58</sup> Os carbamatos também se destacam como uma importante classe de derivados anticolinesterásicos, tendo esta subunidade um reconhecido caráter farmacofórico. Os carbamatos anticolinesterásicos são inibidores reversíveis que reagem de maneira covalente com as colinesterases, da mesma forma que a ACh, porém são hidrolisados pela AChE muito mais lentamente. Podemos destacar como importantes exemplos de anticolinesterásicos clinicamente úteis, o alcaloide fisostigmina (**8**), um metilcarbamato natural também denominado eserina, ( $Cl_{50}$  AChE 28nM e  $Cl_{50}$  BuChE 16nM), usado no tratamento do glaucoma desde 1877, e a rivastigmina (**9**), um análogo simplificado do primeiro, importante no tratamento de primeira linha para pacientes com DA leve a moderada.<sup>59,60</sup> Diferentes estruturas contendo a subunidade

carbamato tem sido extensivamente estudadas também na busca por inibidores seletivos de BuChE, como mostrado nos exemplos relacionados a seguir.

Jones e colaboradores descreveram uma nova série de derivados 2-aryl e 2-alkylcarbamato-isossorbida inibidores potentes de BuChE (Figura 6), os quais foram planejados por hibridação molecular<sup>61</sup> com os ácidos ferúlico e lipóico, conhecidos por suas atividades antioxidantes. O planejamento destes compostos híbridos visou a obtenção de protótipos capazes de modular a DA através da inibição seletiva da BuChE humana (hBuChE), previamente descrita em derivados do tipo carbamoilésteres de isossorbida,<sup>62</sup> e a inibição de processos oxidativos responsáveis pela morte neuronal. Dentre os compostos sintetizados e testados, de forma geral os derivados lipoatos foram os inibidores de BuChE mais potentes, com destaque para o derivado benzilcarbamato (**11a**) contendo a subunidade éster lipoato ( $Cl_{50}$  = 150 nM) e o butilcarbamato correspondente (**11b**) ( $Cl_{50}$  = 170 nM). O derivado de ferulato mais potente foi o butilcarbamato correspondente (**12b**) ( $Cl_{50}$  = 430 nM). Os compostos 2-alkyl e 2-arylcarbamato-isossorbida se mostraram inibidores seletivos e potentes da BuChE, sendo o derivado híbrido ferulato **12a** o único que apresentou atividade moderada como inibidor de AChE ( $Cl_{50}$  = 27,1  $\mu$ M). O derivado híbrido 2-benzilcarbamato-isossorbida-5-lipoato (**11a**), mais potente e seletivo inibidor da BuChE dentre os compostos estudados no trabalho em questão, mostrou mecanismo de inibição pseudo-irreversível e foi o melhor como neuroprotetor em linhagem de células hipocampais



**Figura 6.** Estruturas químicas dos compostos híbridos carbamato-isossorbida-5-lipoato (**11a-b**) e carbamato-isossorbida-5-ferulato (**12a-b**)

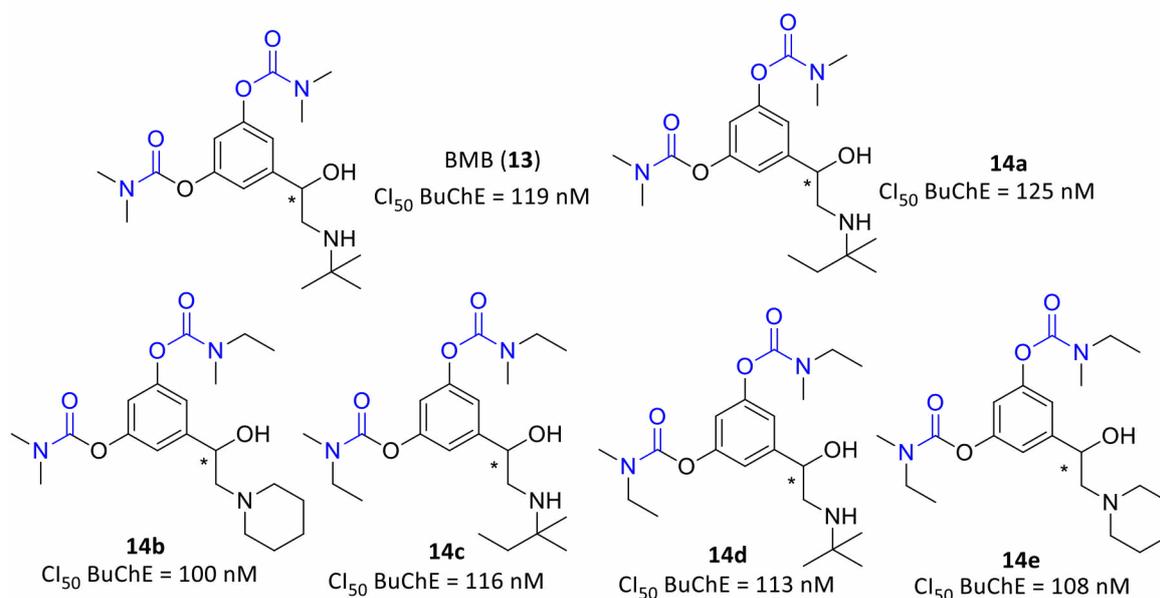
murinas, no modelo de citotoxicidade induzida por glutamato.<sup>63</sup>

Em 2017, Wu e colaboradores descreveram uma série de treze carbamatos desenhados como análogos estruturais do bambuterol (BMB) (**13**), um pró-fármaco do agonista  $\beta$ -adrenérgico terbutalina. O BMB (**13**) é um potente inibidor de BuChE, porém com limitações como a incapacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) e a possibilidade de ocorrência de efeitos colaterais cardíacos, causados pelo seu metabólito ativo. Os novos análogos foram desenhados variando-se os grupos alquila ligados às subunidades carbamatos e à amina secundária. Os treze compostos sintetizados foram seletivos para BuChE equina, eqBuChE, com  $Cl_{50}$  entre 100-4700 nM e cinco deles foram equipotentes ao BMB (**13**) (Figura 7). Estudos adicionais com os derivados **14a** e **14c** mostraram que os mesmos são inibidores específicos e potentes da hBuChE. Adicionalmente, os estudos de cinética de inibição da hBuChE com estes dois derivados mostraram inibição pseudo-irreversível tempo e concentração dependente. Os autores também estudaram o efeito do BMB (**13**) e dos análogos **14a** e **14b** na frequência cardíaca de ratos anestesiados, e os análogos reduziram efeitos colaterais cardíacos, o que significa uma importante vantagem terapêutica sobre o BMB. Os análogos também apresentaram maiores valores de logP que o protótipo original, o que pode significar melhores condições de atravessar a BHE. Os estudos de Wu e colaboradores evidenciam que o BMB (**13**) e

seus análogos estruturais são inibidores potentes e seletivos da BuChE potencialmente úteis para o tratamento da DA.<sup>64</sup>

Novos derivados alquila e arilcarbamatos contendo assubunidades *N*-fenilpiperazina, *N*-benzilpiperazina e 4-benzilpiperidina foram desenhados como inibidores seletivos de BuChE no trabalho reportado por Bajda.<sup>65</sup> Dentre os derivados sintetizados, três compostos (**15a-c**, Figura 8) se destacaram com valores de  $Cl_{50}$  entre 2,0 e 3,3  $\mu$ M para BuChE, melhores que o padrão de referência utilizado, a rivastigmina (**9**,  $Cl_{50}$  = 4,7  $\mu$ M). Adicionalmente, estes três derivados se mostraram seletivos para a BuChE, uma importante vantagem com relação ao padrão (**9**). Os resultados também demonstraram a importância da subunidade carbamato para a atividade dos compostos estudados, o que foi corroborado por estudos de *docking* mostrando a possibilidade da interação da subunidade carbamato com a tríade catalítica, viabilizando a carbamoilação da serina 198 da BuChE.

Uma nova série de derivados salicilanilida carbamatos *N,N*-dissubstituídos foi descrita por Krakty e colaboradores. Os autores descrevem o planejamento e síntese de quinze derivados carbamatos e cinco derivados tiocarbamatos candidatos a protótipos inibidores de ChE's. Os novos compostos foram avaliados sobre as enzimas AChE e BuChE, bem como quanto a seletividade, segurança (citotoxicidade em células de carcinoma hepatocelular – HepG2) e estudos *in silico* sobre as enzimas alvo. A rivastigmina (**9**)



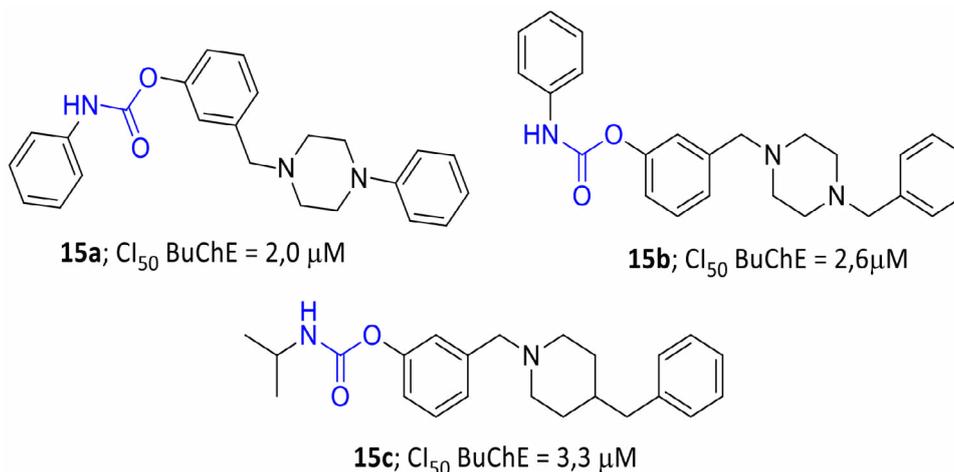
**Figura 7.** Bambuterol (**13**) e seus análogos estruturais (**14a-e**). Inibidores potentes e seletivos de BuChE

e galantamina (**10**) foram utilizados como padrões de referência. Dentre os compostos sintetizados os carbamatos foram melhores que os tiocarbamatos. Cinco carbamatos se destacaram pela seletividade sobre a BuChE e se mostraram mais efetivos que os padrões utilizados, sendo os derivados **16d** e **16e** os mais potentes (Figura 9).<sup>66</sup>

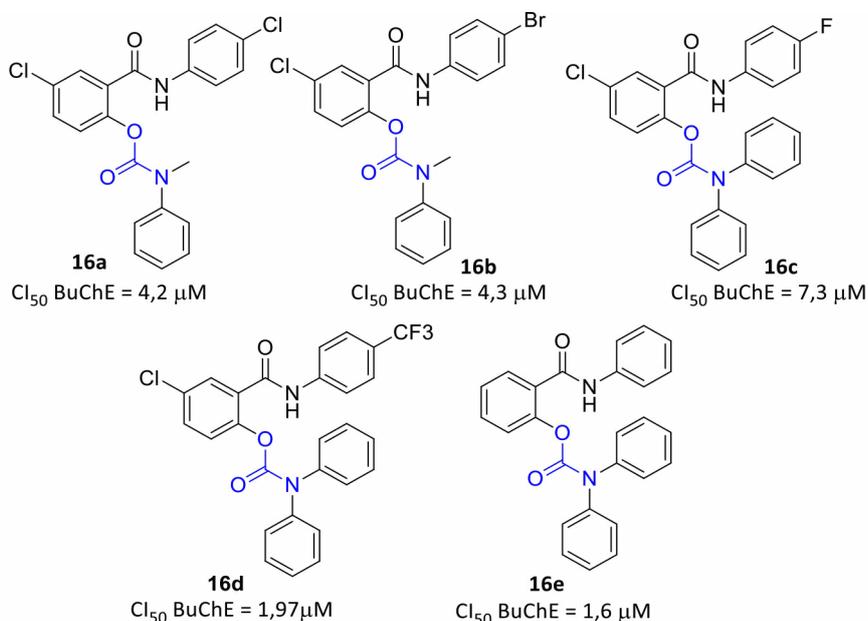
#### 4.2. Derivados Indólicos

O núcleo indólico é um importante heteroaromático bicíclico, constituído pela fusão

dos anéis benzeno e pirrol. É um heterociclo extremamente importante em síntese orgânica e química medicinal,<sup>67</sup> está presente nas proteínas na forma do aminoácido triptofano, nos alcaloides indólicos, como a estricnina e LSD (dietilamina do ácido lisérgico), e em importantes fármacos de diferentes classes como no AINE indometacina, no fármaco para enxaqueca sumatriptano e no antiemético ondansetron, usado como adjuvante no tratamento de quimioterapia do câncer.<sup>68</sup> O núcleo indólico também está presente em diversos protótipos inibidores seletivos de BuChE



**Figura 8.** Estruturas químicas dos aril e alquilcarbamatos alquil-piperidínicos e alquil-piperazínicos (**15a-c**) inibidores seletivos de BuChE



**Figura 9.** Estruturas dos derivados salicilanilida carbamatos N,N-dissubstituídos inibidores seletivos de BuChE (**16a-d**)

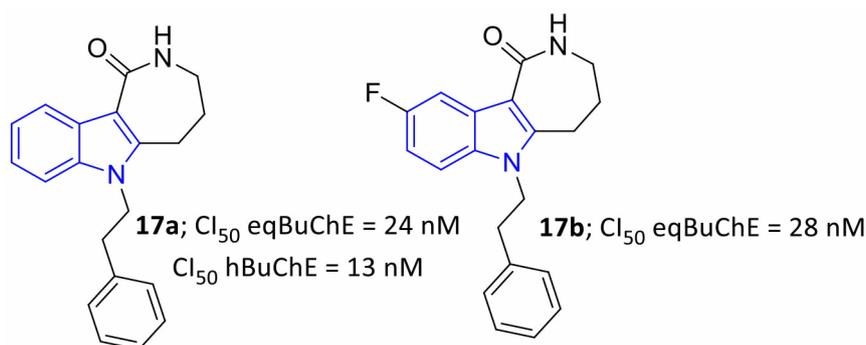
descritos na literatura, alguns dos quais são descritos abaixo.

O trabalho de De Candia e colaboradores levou a identificação de novos derivados indólicos como importantes *hits* para o desenvolvimento de novos fármacos para a DA.<sup>69</sup> A nova série de derivados contendo o núcleo heterocíclico tetrahydroazepinoindol (THAI) foi sintetizada e testada para atividade anticolinesterásica *in vitro*, além de ensaios de neuroproteção, neurotoxicidade e hepatotoxicidade *in vitro*. A presença do substituinte fenetila se mostrou fundamental para potência e seletividade dos novos derivados, tendo o composto 6-fenetil-2,3,4,5-tetrahydroazepino[4,3-*b*]indol-1(6*H*)-ona (**17a**) e seu análogo 9-flúor (**17b**) se destacado pela potência de inibição para eqBuChE na faixa de nanomolar (24 nM e 28 nM, respectivamente), bem como pela seletividade *versus* AChE (Figura 10). O derivado **17a** foi identificado como um novo *hit* potente e seletivo para hBuChE ( $Cl_{50}$  = 13 nM), com efeito neuroprotetor moderado no modelo de toxicidade em células SH-SY5Y induzido por NMDA, além de não apresentar neuro ou hepatotoxicidade *in vitro*.

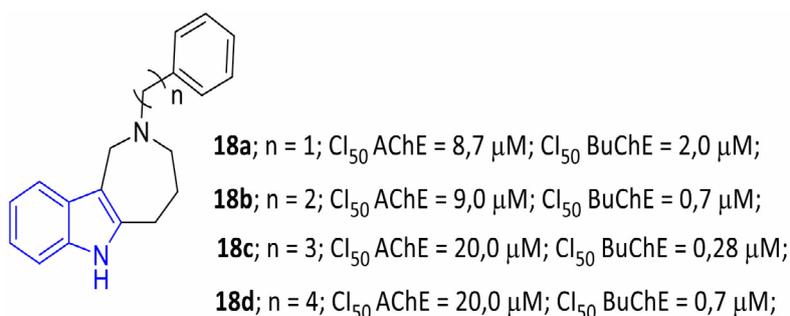
Inspirados pelo trabalho de De Candia, Purgatorio e colaboradores planejaram e sintetizaram uma nova série de vinte derivados 1,2,3,4,5,6-hexahidroazepino[4,3-*b*]indol (HHAI), os quais foram testados para atividade anticolinesterásica e agregação A $\beta$  amiloide.<sup>70</sup> Os novos derivados HHAI's foram capazes de inibir ambas as colinesterases na faixa de micromolecular e subsequentes modificações estruturais levaram à identificação de inibidores potentes e seletivos de BuChE (**18a-d**, Figura 11). A inibição da BuChE foi estrutura dependente, tendo sido demonstrada a importância do maior volume molecular e aumento da lipofilicidade. Cabe destacar a importância do

tamanho da cadeia alquílica espaçadora entre o anel azepina e fenila: a atividade inibidora da AChE não foi afetada com a mudança de uma para duas unidades metilênicas e diminuiu com 3 e 4 unidades metilênicas. Por outro lado, a atividade inibidora de BuChE foi potencializada com o aumento do número de unidades metilênicas na cadeia espaçadora dos derivados **18a-d**, o que corrobora com as características dos respectivos sítios ativos de AChE e BuChE. O derivado indólico otimizado **18d** foi o mais potente (0,17  $\mu$ M) e seletivo (100x) inibidor de BuChE, sendo identificado como um inibidor misto capaz de inibir, *in vitro*, a agregação do peptídeo neurotóxico  $\beta$ -amilóide (A $\beta$ ) e com efeitos neuroprotetores em linhagem celular de neuroblastoma (SH-SY5Y). O derivado **18d** é um importante candidato a protótipo para otimização e desenvolvimento de fármacos para o tratamento da neurodegeneração relacionada a DA.

Novos derivados indólicos, promissores inibidores seletivos de BuChE, também foram descritos no trabalho de Wiecekowska e colaboradores.<sup>71</sup> Os autores planejaram, sintetizaram e testaram novos análogos da donepezila (**3**) nos quais a subunidade *N*-benzilpiperidina foi mantida e o núcleo indanona foi trocado pelo anel indólico, com o objetivo de explorar interações adicionais que este núcleo pode realizar no sítio aniônico periférico das colinesterases. Com o intuito de potencializar a atividade anti-BuChE, o que foi corroborado pelos estudos de modelagem molecular, cadeias alquílicas espaçadoras mais longas foram introduzidas entre o núcleo indólico e a amina secundária. A atividade anti-BuChE também foi melhorada pela introdução do grupo 4-hidroxila, resultando nos derivados mais ativos e seletivos da série indólica (**19b**,  $Cl_{50}$  para BuChE = 0,52  $\mu$ M,



**Figura 10.** Novos protótipos indólicos inibidores BuChE, 6-fenetil-2,3,4,5-tetrahydroazepino[4,3-*b*]indol-1(6*H*)-ona (**17a**) e seu análogo 9-flúor (**17b**)

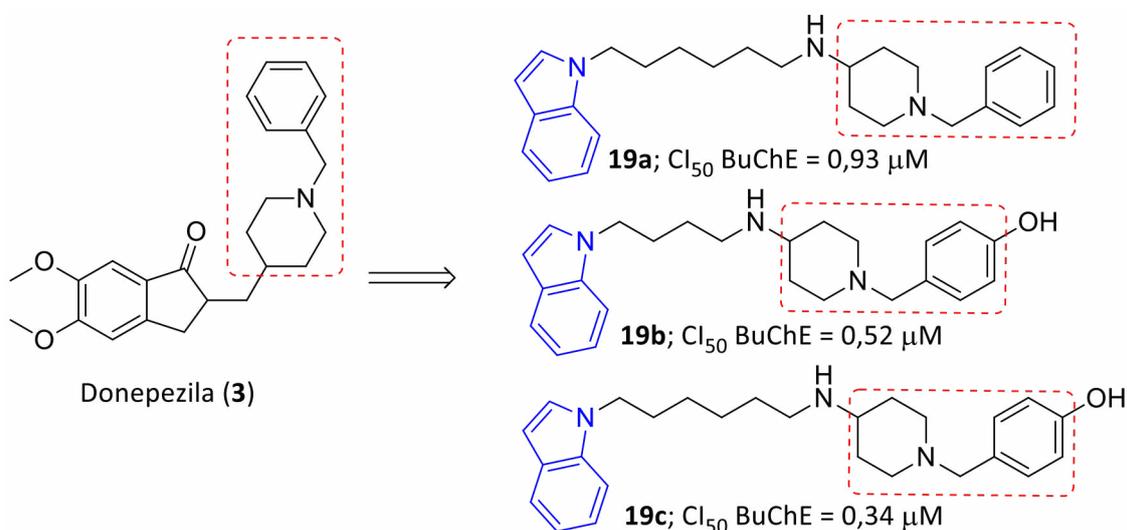


**Figura 11.** Novos protótipos indólicos inibidores BuChE, (**18a-d**)

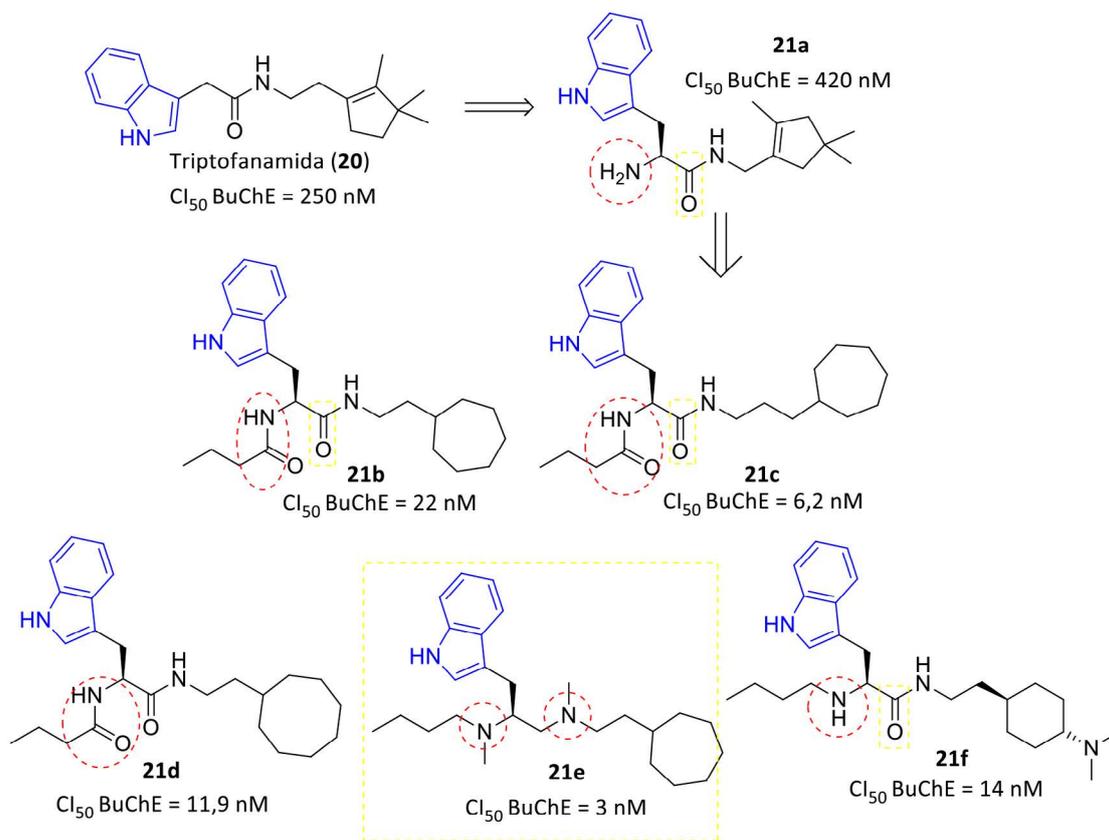
e **19c**,  $Cl_{50}$  para BuChE = 0,34  $\mu$ M; ambos inativos frente à AChE). Adicionalmente, o derivado indólico **19a**, não substituído no anel benzílico, também foi identificado como um inibidor potente e seletivo de BuChE ( $Cl_{50}$  BuChE = 0,93  $\mu$ M /  $Cl_{50}$  AChE = 29,6  $\mu$ M), além de inibir 76,5% da agregação  $\beta$ -amilóide (a 10  $\mu$ M) e possuir lipofilicidade adequada para transpor a BHE (Figura 12).

Meden e colaboradores descreveram uma nova série de compostos indólicos derivados do triptofano, os quais se mostraram potentes e seletivos inibidores de BuChE com baixa citotoxicidade e boa penetração na BHE.<sup>72</sup> Os autores também demonstraram, através da cristalografia de raios X do melhor composto da série em complexo com a hBuChE, um novo modo de interação. Foi construída uma biblioteca virtual de 399 compostos desenhados a partir da estrutura da Triptofanamida (**20**) em combinação com diferentes derivados indólicos, terpenos e carbociclos simples. A biblioteca foi

submetida a uma triagem *in silico* e os melhores compostos foram selecionados para síntese, otimização e avaliação da atividade anti-BuChE *in vitro*. Os resultados de relação estrutura-atividade (REA) mostraram que a subunidade terpênica, presente no protótipo, poderia ser substituída por anéis mais simples sem prejuízo para a atividade anti-BuChE. Dessa forma, os autores exploraram diferentes carbociclos homólogos, bem como cadeias laterais alquílicas homólogas ligadas ao grupo  $\alpha$ -amino (**21b-d**) (Figura 13). De forma geral, os enantiômeros *S* foram melhores que os *R* e a troca do grupo amino básico pela amida correspondente, ou outros derivados carbonilados, levou a perda de potência. A presença do grupo amino terciário em conjunto com a remoção da carbonila da amida levou a identificação do derivado mais potente da série (**21e**), o qual foi pouco citotóxico e com boa predição para penetração na BHE. Os autores também demonstraram a importância



**Figura 12.** Novos protótipos indólicos análogos da donepezila (**3**) inibidores seletivos de BuChE (**19a-c**)



**Figura 13.** Novos protótipos indólicos derivados do triptofano (**21a-f**), inibidores potentes e seletivos de BuChE

do núcleo indólico, já que os oxindóis e indolinas correspondentes foram menos ativos.

### 4.3. Derivados Benzimidazólicos

O núcleo benzimidazol, o benzoderivado do imidazol, também conhecido como 1,3-benzodiazol, está presente em várias classes importantes de fármacos, como os anti-helmínticos albendazol, fenbendazol, oxfenbendazol, thiabendazol e mebendazol e, os inibidores da bomba de próton, úteis no tratamento da úlcera péptica, omeprazol, lansoprasol e pantoprasol. A versatilidade sintética, bem como a diversidade de atividades farmacológicas fazem deste núcleo uma importante estrutura privilegiada em química medicinal.<sup>73,74</sup>

Willians e colaboradores exploraram a combinação de técnicas *in silico* e *in vitro* na busca por novos inibidores seletivos de BuChE.<sup>75</sup> Os autores utilizaram a tacrina (**2**) como protótipo e caracterizaram seu modo de interação com AChE e BuChE através da modelagem molecular. Posteriormente, foram propostas modificações estruturais capazes de potencializar as interações

com a BuChE em detrimento da AChE, graças as diferenças entre os respectivos sítios que fazem com que a BuChE acomode melhor a presença de grupamentos mais volumosos e flexíveis. Esses estudos permitiram a identificação do derivado bis-benzimidazólico (**22**, Figura 14) como um inibidor potente e seletivo de BuChE ( $Cl_{50}$  = 32nM).

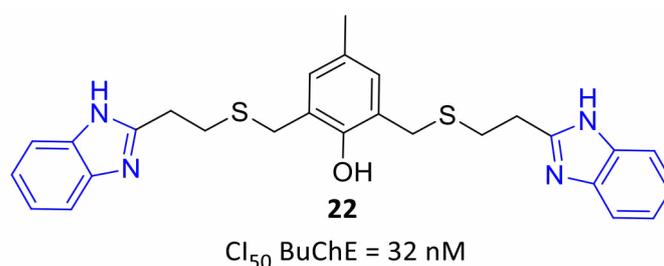
Uma nova série de derivados amino-benzimidazólicos, planejados como ligantes duais de BuChE e do receptor canabinoide humano tipo 2 ( $hCB_2R$ ), foi descrita por Dolles e colaboradores como potenciais candidatos a protótipos para o tratamento de doenças neurodegenerativas.<sup>76</sup> Os autores usaram o benzimidazol **23**, um importante ligante  $hCB_2R$  e inibidor moderado porém seletivo de BuChE, como protótipo. Um modelo farmacofórico para inibidores de BuChE foi aplicado ao composto **23** e as modificações propostas levaram a síntese e avaliação farmacológica de 21 derivados. Os resultados obtidos permitiram a identificação de dois novos protótipos amino-benzimidazólicos (**24a-b**, Figura 15) com boa afinidade e seletividade para BuChE, além de afinidade na faixa de micromolar para os receptores  $CB_2$ . Os estudos

de REA e modelagem molecular mostraram a importância da subunidade básica amina, capaz de realizar interação polar com a Ser287, e do núcleo benzimidazólico para a atividade anti-BuChE.

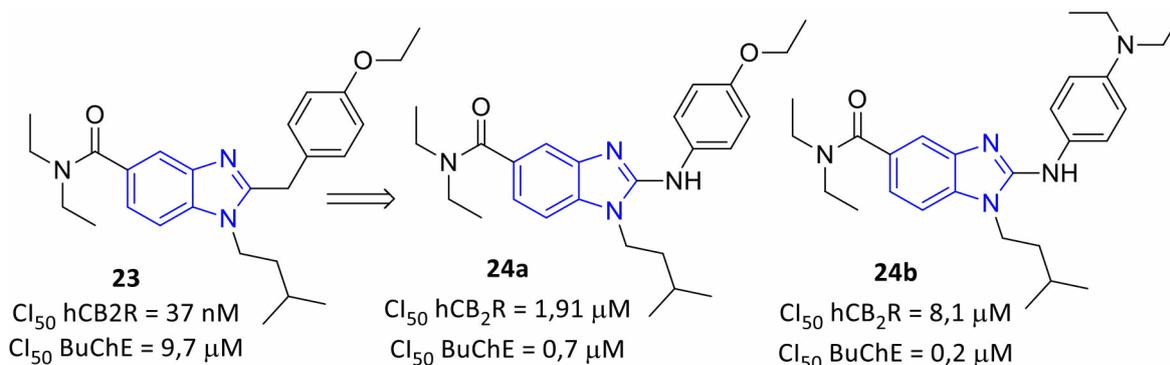
Zhu e colaboradores descreveram a síntese através de irradiação micro-ondas, bem como avaliação biológica e modelagem molecular de novos derivados 2-amino-benzimidazólicos substituídos.<sup>77</sup> Dentre os compostos da série, o derivado bis-benzimidazol (**25a**) e os derivados piperidínicos (**25b-c**) foram identificados como inibidores seletivos de BuChE (Figura 16). Adicionalmente, os benzimidazóis não foram

citotóxicos a 100  $\mu\text{M}$  (células PC12 ou HepG2). Os estudos de *docking* mostraram a importância do núcleo benzimidazólico, o qual interage com o resíduo de Trp82 via interações de empilhamento  $\pi$ . Para composto **25a**, uma interação adicional é observada entre o segundo anel benzimidazol e o indol do Trp82. Além disso, o composto **25b** apresenta interações adicionais com o oxigênio de His438 no sítio catalítico da BuChE.

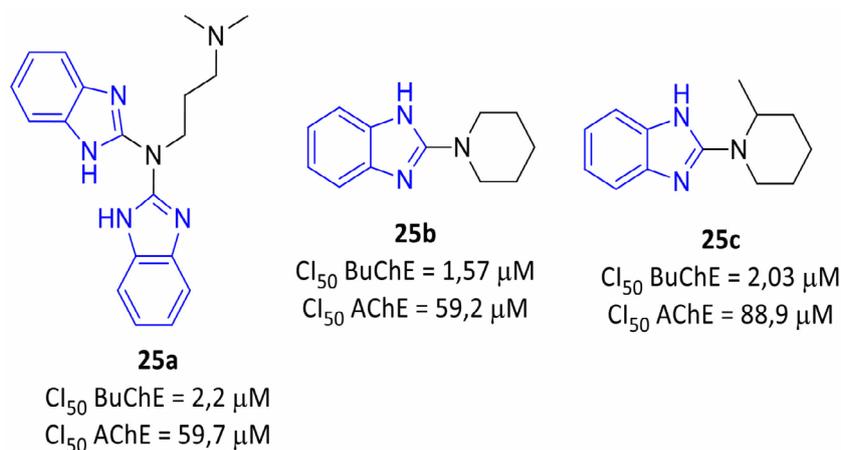
Coban e colaboradores<sup>78</sup> sintetizaram uma série de quinze *o*-aminoetóxi-2-fenil-benzimidazóis variando os substituintes na posição 5 do núcleo principal e a cadeia alquilamina ligada ao grupo



**Figura 14.** Protótipo bis-benzimidazólico (**22**) inibidor seletivos de BuChE



**Figura 15.** Derivados benzimidazólico (**23, 24a-b**) ligantes duais de BuChE e  $\text{hCB}_2\text{R}$



**Figura 16.** Derivados benzimidazólico (**25a-c**) inibidores seletivos de BuChE.

etoxila *orto*-fenílico. Dentre a série sintetizada, sete compostos (**26a-g**, Figura 17) merecem destaque pela potência inibitória submicromolar para BuChE e índice de seletividade (IS) versus AChE. Os melhores derivados da série possuem o grupo dietila, piperolidina e piperidina ligados ao nitrogênio terminal. Os melhores compostos também apresentaram valores de LogP compatíveis com a possibilidade de boa penetração na BHE. Estudos de modelagem molecular mostraram interação do tipo empilhamento  $\pi$  entre o benzimidazol e Trp82, além de ligação de hidrogênio do nitrogênio do heterociclo com His438.

#### 4.4. Derivados Fenotiazínicos

O núcleo heteroaromático tricíclico fenotiazina (10*H*-dibenzo[*b,e*]-1,4-tiazina) é um dos heterociclos mais importantes em química medicinal e está presente em diversos compostos com diversas atividades terapêuticas. Podemos citar como algumas das importantes classes de fármacos contendo este heterociclo, os anti-Parkinsonianos, neurolépticos, antidepressivos e anti-histamínicos.<sup>79</sup> Alguns derivados fenotiazínicos inibidores seletivos de BuChE são descritos a seguir.

Os trabalhos de Gonzalez-Munoz e colaboradores levaram à identificaram de

novos derivados *N*-acilamino-fenotiazinas como inibidores seletivos de BuChE com potencial para atravessar BHE.<sup>80,81</sup> Os derivados **27a-h** (Figura 18) se destacaram, com  $Cl_{50}$  para BuChE entre 0,4 e 3,0  $\mu$ M; e  $Cl_{50}$  para AChE maior que 100 $\mu$ M. Os novos derivados também apresentaram propriedades neuroprotetoras contra os danos causados por estresse oxidativo tanto exógeno quanto mitocondrial, por meio de um mecanismo que envolve a ativação de vias antioxidantes e/ou a eliminação de radicais livres. Adicionalmente, o derivado **27f** se destacou como um modulador da concentração de cálcio citosólica e neuroprotetor em células humanas de neuroblastoma. Os estudos de REA revelaram a importância das duas unidades metilênicas como espaçador, bem como da presença da amina terciária na cadeia lateral. Tais propriedades fazem dessas *N*-acilamino-fenotiazinas candidatas promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos úteis no tratamento de DA.

Tasso e colaboradores<sup>82</sup> investigaram a ação anticolinesterásica de uma série de 48 compostos, entre fenotiazinas e outros sistemas tricíclicos relacionados. Dentre os derivados fenotiazínicos avaliados, dois derivados (**28b-c**) merecem destaque pela potência inibitória sobre a BuChE comparável à do padrão de referência utilizado, etopropazina (**28a**) (Figura 19). O composto **28a** é um conhecido fármaco usado no tratamento da doença de

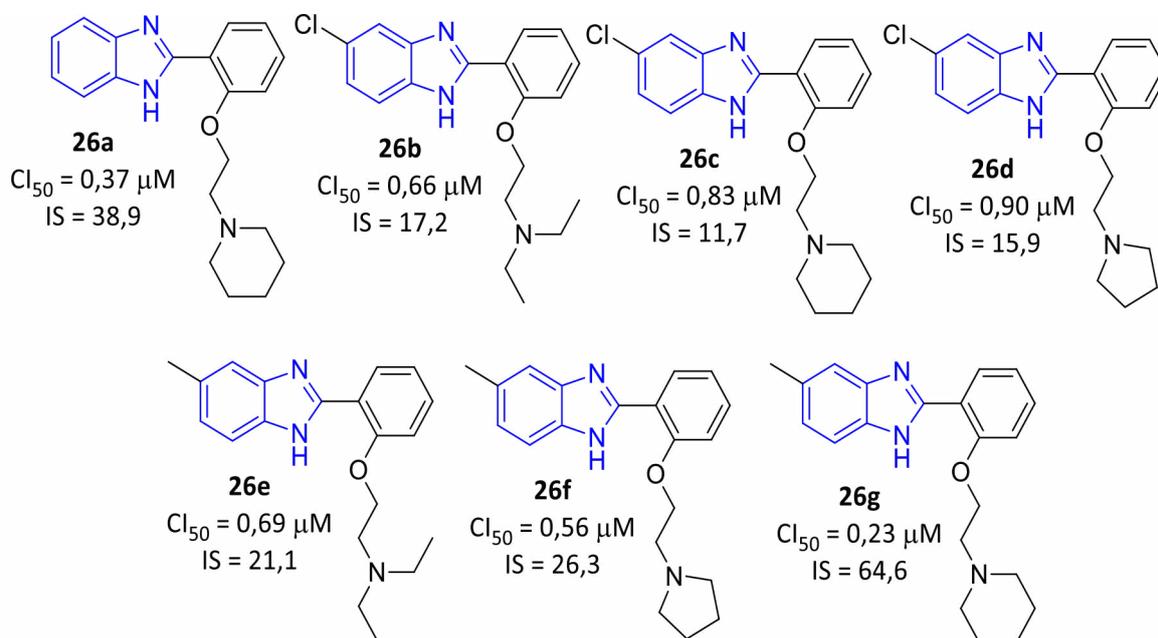
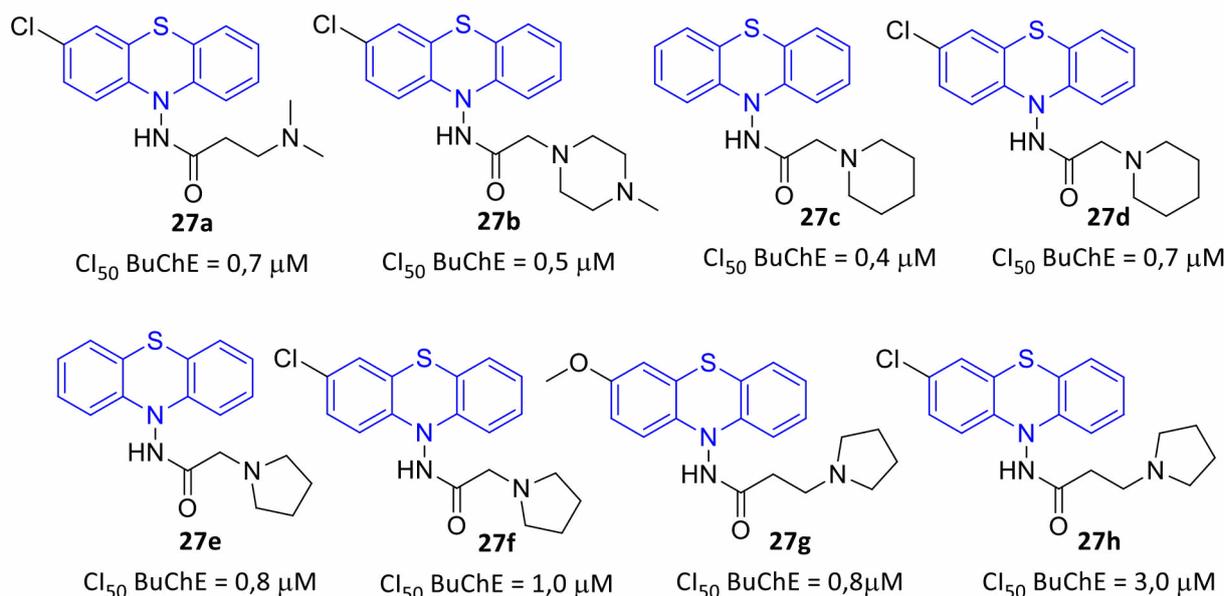


Figura 17. Derivados o-aminoetóxi-2-fenil-benzimidazóis (**26a-g**) inibidores seletivos de BuChE

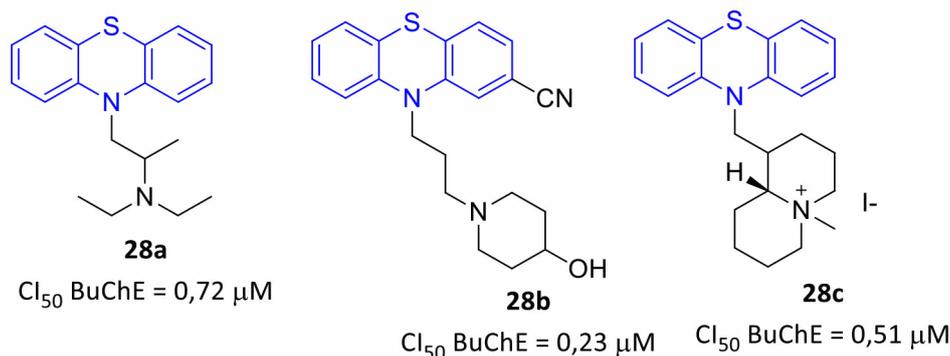


**Figura 18.** Derivados *N*-acilaminotiazinicos-phenotiazinicos (**27a-h**) inibidores seletivos de BuChE

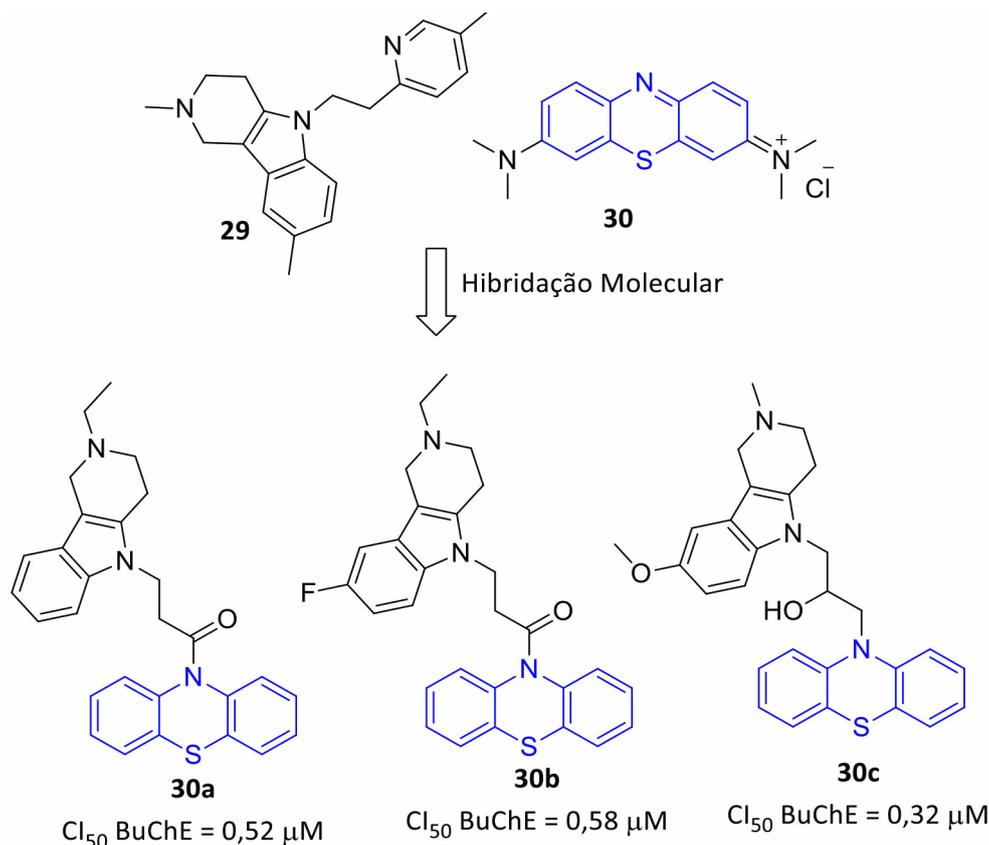
Parkinson por mais de trinta anos e já descrito por sua ação anticolinesterásica.<sup>83,84,85</sup> Dentre os resultados obtidos, os autores destacam a importância da descoberta da alta potência e seletividade do derivado quinolizidinila (**28c**), a periciazina,<sup>86</sup> um fármaco antipsicótico com ação sedativa e cujas ações anti-BuChE descobertas merecem melhor investigação para possível emprego no tratamento de pacientes com DA associada a distúrbios psicóticos.

Makhaeva e colaboradores<sup>87</sup> descreveram uma série de derivados híbridos  $\gamma$ -carbolina-aquil-phenotiazinicos planejados como candidatos a protótipos de fármacos multialvos para o tratamento da DA. Os novos compostos foram planejados pela hibridação molecular entre dois compostos com atividades neuroprotetoras: o anti-histamínico latrepiridina (**29**),<sup>88,89</sup> também conhecido como dimebon, e o azul de metileno (**30**),<sup>90-92</sup> um inibidor

da óxido nítrico sintase e guanilato ciclase. Os novos compostos híbridos foram avaliados através de ensaios *in vitro* sobre as enzimas ChE's, estudos de modelagem molecular e estudos de interação com o receptor de NMDA. Os derivados phenotiazinicos **31a-c** (Figura 20) se destacaram pela inibição seletiva da BuChE ( $Cl_{50}$  0,52  $\mu$ M; 0,58  $\mu$ M e 0,32  $\mu$ M; respectivamente) e os estudos de cinética mostraram inibição do tipo mista. Os estudos de modelagem molecular revelaram interações de empilhamento  $\pi$  entre o núcleo phenotiazinico e o anel indólico do Trp82 e, ligação de hidrogênio entre a hidroxila de **30c** com o centro oxianion da BuChE. Adicionalmente, foram observadas interações de empilhamento  $\pi$  fracas entre a  $\gamma$ -carbolina e Phe329. Os estudos de ligação com o receptor NMDA apontaram que **30a** e **30b** se ligam a este receptor, caracterizando a ação dual destes compostos.



**Figura 19.** Derivados phenotiazinicos inibidores seletivos de BuChE: **28a** (Etopromazina), **28b** e **28c** (periciazina)



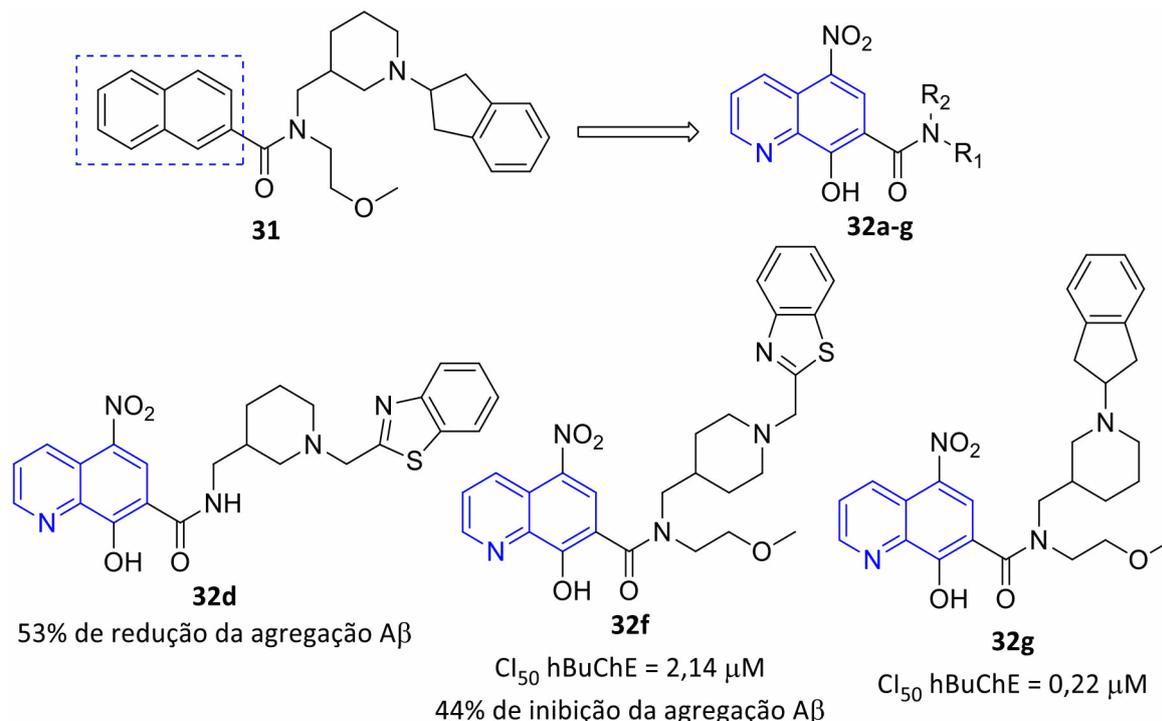
**Figura 20.** Derivados fenotiazínicos híbridos inibidores seletivos de BuChE e ligantes do receptor NMDA (30a-c)

#### 4.5. Derivados Quinolínicos

A quinolina, 1-aza-naftaleno ou benzo[b]piridina, é um composto heteroaromático de nitrogênio. O núcleo quinolínicos pode ser encontrado em diversos compostos bioativos naturais e sintéticos, com diversas atividades como: antimaláricos, antibacterianos, antifúngicos, anti-inflamatórios, analgésicos, etc.<sup>93</sup>

Baseados em um potente inibidor seletivo de BuChE descrito por seu grupo de pesquisa anteriormente (**31**,  $Cl_{50}$  hBuChE = 2,7 nM),<sup>94</sup> Knez e colaboradores<sup>95</sup> planejaram sete derivados (**32a-g**) a partir de modificações moleculares em **31**. Para os novos derivados, os autores propuseram a troca do anel naftila pelo núcleo 5-nitro-8-hidróxi-quinolina além de modificações no padrão de substituição do grupamento amida (Figura 21). Todos os compostos foram avaliados frente a inibição da hBuChE, AChE murina e agregação A $\beta$ . Nenhum derivado da série foi capaz de inibir agregação A $\beta$  significativamente a enzima AChE à 30  $\mu$ M e os derivados **32f** e **32g** foram os mais potentes frente à hBuChE, com valores de  $Cl_{50}$  = 2,14  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  = 0,215  $\mu$ M,

respectivamente. Os autores constataram que a remoção do grupamento metóxi-etileno em R<sub>1</sub> reduziu drasticamente a atividade colinesterásica. Os compostos, em geral, apresentaram atividades razoáveis na inibição da agregação A $\beta$ . Os derivados **32d** e **32f** foram os mais eficazes com 53% e 44%, respectivamente, de redução da agregação à 10  $\mu$ M, enquanto o derivado **32g** apresentou 20% de inibição. A estrutura co-cristalizada do derivado **32g** com a hBuChE foi resolvida e apresentou pose similar ao obtido anteriormente para o composto **31**, além de uma interação adicional observada entre o grupo hidroxila do núcleo 5-nitro-8-hidroxi-quinolina com o resíduo His438. A técnica espectroscópica UV-vis foi empregada na investigação da capacidade complexante de metais dos derivados quinolínicos. Todos os compostos foram capazes de complexar com íons relacionados a fragmentos A $\beta$  e, o composto **32g** foi seletivo para o íon Cu<sup>+2</sup> com estequiometria 1:2. A seletividade e potência inibitória da BuChE apresentada pelo derivado **32g**, a seletividade para complexação de íons de Cu<sup>+2</sup> e capacidade de inibição da agregação A $\beta$  fazem dele um protótipo

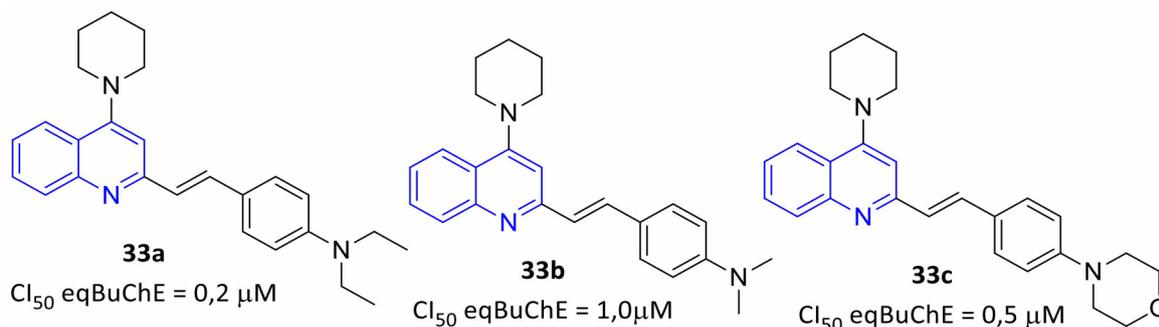


**Figura 21.** Derivados quinolínicos inibidores seletivos de BuChE (**32**) candidatos a agentes multifuncionais para o tratamento da DA

promissor para otimização no desenvolvimento de fármacos multifuncionais para tratamento da DA.

Wang e colaboradores sintetizaram e avaliaram 36 derivados 2-ariletênil-quinolínicos frente à inibição das enzimas AChE de enguia elétrica (eeAChE), eqBuChE, capacidade de inibição da agregação A $\beta$ , atividade antioxidante e complexação de metais.<sup>96</sup> A maioria dos compostos apresentou baixa inibição das colinesterases, entretanto os derivados 4-piperidinílicos **33a**, **33b** e **33c** (Figura 22) se destacaram como os mais potentes e seletivos para BuChE, apresentando  $Cl_{50}$  = 0,2  $\mu$ M,  $Cl_{50}$  = 1,0  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  = 0,49  $\mu$ M respectivamente. Dentre os compostos mais ativos

para BuChE, os derivados **33a** e **33b** também apresentaram a maior capacidade de inibição de agregação A $\beta$ , com  $Cl_{50}$  = 9,7  $\mu$ M para **33a** e  $Cl_{50}$  = 10,3  $\mu$ M para **33b**, sendo mais potente que o padrão resveratrol ( $Cl_{50}$  = 11,4  $\mu$ M). O composto **33b** também se destacou nos ensaios antioxidantes *in vitro* utilizando o método ORAC-FL e em células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) através do método DCFH-DA, além de ser um agente complexante seletivo para íons de Cu<sup>+2</sup> e Fe<sup>+2</sup>, envolvidos na DA. Estes resultados indicam que os derivados 4-piperidinil-2-ariletênil-quinolína são compostos promissores para o desenvolvimento de protótipos multialvos para o tratamento da DA.



**Figura 22.** Derivados 4-piperidinil-2-ariletênil-quinolínicos inibidores seletivos de BuChE (**33a-c**), candidatos a protótipos multialvos para o tratamento da DA

Martins e colaboradores sintetizaram uma série de onze derivados furano-tetrahydroquinolinas e três pirrolo-tetrahydroquinolinas análogos da tacrina.<sup>97</sup> Os compostos foram avaliados frente as enzimas eeAChE, eqBuChE, hAChE e hBuChE. Todas as furano-quinolinas se mostraram seletivas para eqBuChE, sendo os derivados **34a** e **34b** os mais potentes da série (**34a**:  $Cl_{50}$  (eqBuChE) = 3,6  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  (hBuChE) = 3,78  $\mu$ M; **34b**:  $Cl_{50}$  (eqBuChE) = 2,9  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  (hBuChE) = 119  $\mu$ M). Dentre as pirrolo-quinolinas, o composto **34c** se destacou pela capacidade de inibir significativamente a enzima AChE,  $Cl_{50}$  (eqAChE) = 0,61  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  (hAChE) = 45,5  $\mu$ M, porém com seletividade para BuChE,  $Cl_{50}$  (eqBuChE) = 0,074  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  (hBuChE) = 8,57  $\mu$ M) (Figura 23). A pirrolo-quinolina **34c** foi identificada como o derivado mais promissor dentre os compostos avaliados, com inibição do tipo mista e menos citotóxica que a tacrina no ensaio de MTT em células de neuroblastoma (SH-SY5Y). Adicionalmente, **34c** foi neuroprotetor frente à toxicidade induzida pelo peptídeo Ab em concentrações próximas à 0,300  $\mu$ M, o que o caracteriza como um protótipo multifuncional para o tratamento da DA.

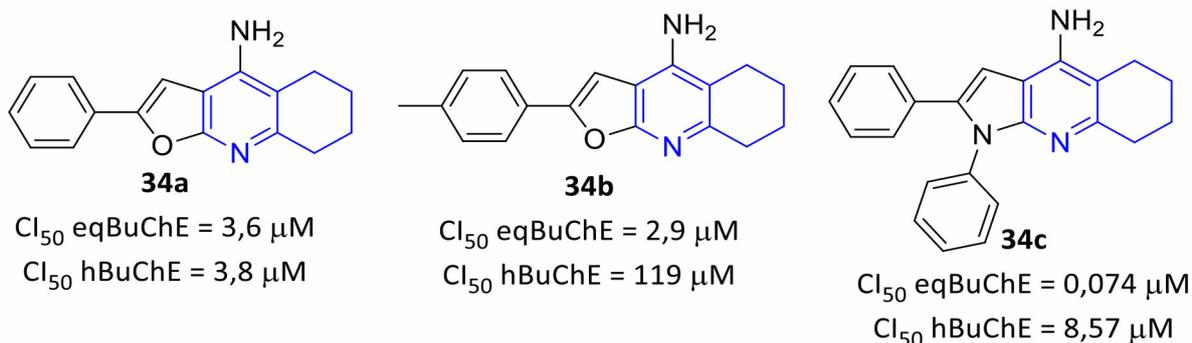
#### 4.6. Derivados da Tacrina

O núcleo nitrogenado tricíclico 1,2,3,4-tetrahydroacridina está presente na molécula da tacrina (9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridina), primeiro anti-ChE aprovado para o tratamento da DA.<sup>4</sup> Devido à toxicidade hepática da tacrina, uma grande variedade de derivados tem sido extensivamente investigada na busca por fármacos mais seguros para o tratamento da DA.

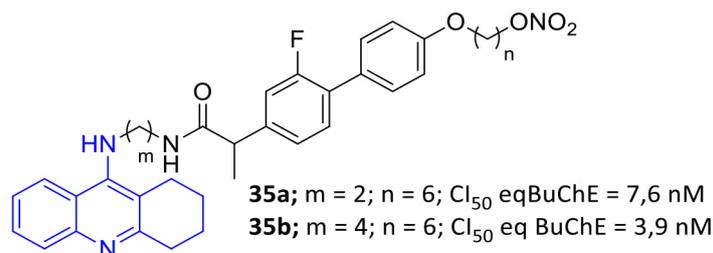
Uma série de doze derivados híbridos tacrina-flurbiprofeno foi descrita por Chen e colaboradores como promissores inibidores seletivos de

BuChE candidatos a agentes multialvos para o tratamento da DA.<sup>98</sup> A nova série contém o núcleo farmacofórico para as colinesterases, 9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridina (tacrina), ligado ao esqueleto do flurbiprofeno através de espaçadores alquílicos de diferentes tamanhos. Adicionalmente, a cadeia lateral alifática tem um grupo doador de óxido nítrico, cuja liberação está relacionada à relaxação vascular. A investigação da atividade anti-colinesterásica foi realizada com eeAChE e eqBuChE. Todos os derivados apresentaram ótima atividade e seletividade para BuChE ( $Cl_{50}$  eeAChE = 112,4 – 4309,5 nM;  $Cl_{50}$  eqBuChE = 3,9 – 13,9 nM) comparáveis à tacrina ( $Cl_{50}$  eeAChE = 69,8 nM;  $Cl_{50}$  eqBuChE = 10,6 nM). Após um estudo de REA, os autores concluíram que maiores espaçadores em *m* e *n* favoreceram a seletividade para BuChE (**35a** *m* = 2, *n* = 6:  $Cl_{50}$  eqBuChE = 7,6 nM, índice de seletividade = 567; **35b** *m* = 4, *n* = 6:  $Cl_{50}$  eqBuChE = 3,9 nM, índice de seletividade = 373) (Figura 24). Estudos de cinética enzimática realizadas entre **35a** e eqBuChE sugerem uma inibição do tipo mista, onde o composto **35a** é capaz de interagir tanto com o sítio catalítico quanto periférica da enzima. A capacidade dos compostos de promover a liberação de NO foi quantificada através da reação de Griess e, os resultados de atividade de relaxação vascular mostraram que os novos derivados promovem relaxamento significativos dos vasos sanguíneos em comparação com a tacrina (**35a** = 21,9%, **35b** = 31,3%, tacrina = 3,4%, todos à 100 $\mu$ M). Estes resultados sugerem que a liberação de NO pode estar associada a capacidade de relaxamento vascular dos derivados.

Baseados em moléculas híbridas da tacrina e ácido ferúlico (**36**), descritos anteriormente por Fang e colaboradores<sup>99</sup> como potentes inibidores



**Figura 23.** Furano-tetrahydroquinolinas e pirrolo-tetrahydroquinolinas inibidoras seletivas de BuChE (34a-c), candidatos a protótipos multialvos para o tratamento da DA

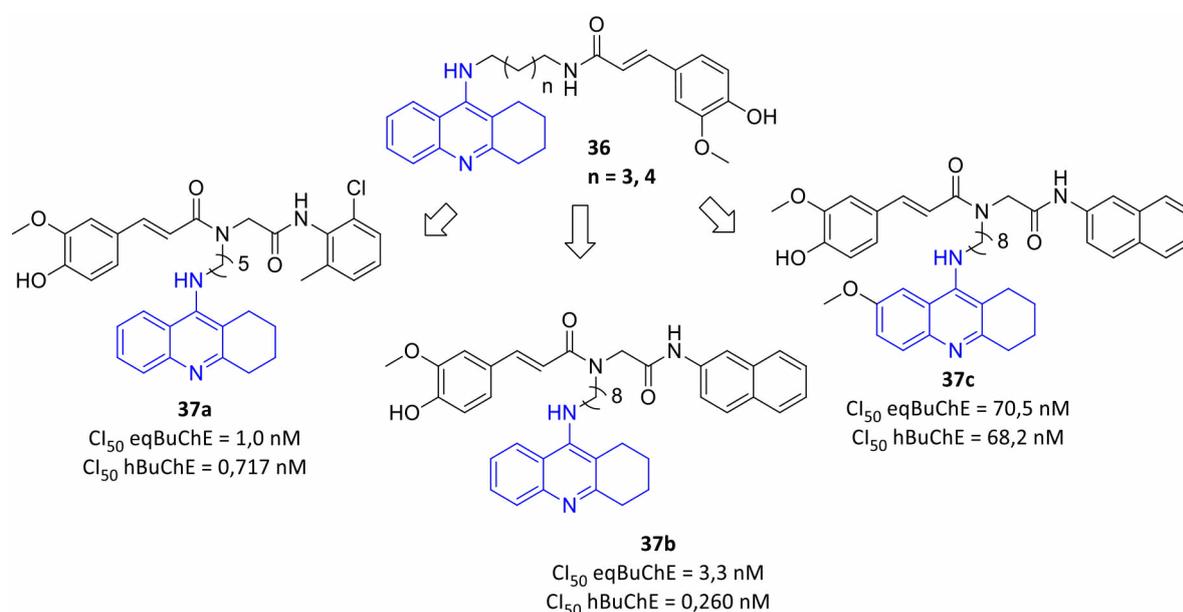


**Figura 24.** Derivados híbridos tacrina-flurbiprofeno inibidores seletivos de BuChE (**35a-b**), candidatos a protótipos multialvos para o tratamento da DA

de AChE e BuChE com atividade antioxidante, o grupo de Benckroun planejou uma nova série de derivados híbridos da tacrina e ácido ferúlico contendo a subunidade glicinil-substituída.<sup>100</sup> Os novos derivados, sintetizados através da reação multicomponente de Ugi,<sup>101</sup> passaram por ensaios *in vitro* de inibição colinesterásica, ação antioxidante, inibição da agregação Ab, capacidade de permeabilizar a BHE, além dos estudos *in silico* de propriedades ADMET e modelagem molecular. Dentre os compostos testados vale destacar o derivado **37a**, o mais potente e seletivo para eqBuChE versus eeAChE com  $Cl_{50}$  eqBuChE = 1,0 nM e  $Cl_{50}$  eeAChE = 115,5 nM, se mostrando 115 vezes mais seletivo. Já o derivado **37b** apresentou maior seletividade para BuChE em enzimas humanas ( $Cl_{50}$  hAChE = 76,5 nM e  $Cl_{50}$  hBuChE = 0,260 nM) sendo 294 vezes mais seletivo. Ambos os compostos foram menos hepatotóxicos em células HepG2 que a tacrina, mesmo em concentrações elevadas

(1000  $\mu$ M), e **37a** e **37c** não foram citotóxicos em células de neuroblastoma (SH-SY5Y) em concentração de até 10  $\mu$ M. Todos os compostos apresentaram atividade antioxidante quantificada pelo método ORAC-FL na mesma faixa que o ácido ferúlico e foram capazes de inibir a agregação Ab, com valores variando de 50,1 - 80,8% a 50  $\mu$ M. Estudos de modelagem molecular mostraram que os derivados são capazes de interagir tanto com os sítios catalítico e periférico das colinesterases, o que foi confirmado pelo estudo de cinética enzimática demonstrando uma inibição do tipo mista. Através do ensaio PAMPA-BBB foi possível mensurar a capacidade das moléculas de permear a BHE, onde o derivado **37a** apresentou baixa permeabilidade ( $6,5 \cdot 10^{-6}$   $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ ), o **37b** alta permeabilidade ( $27,6 \cdot 10^{-6}$   $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ ) e o **37c** foi o melhor de todos com valores de  $61,5 \cdot 10^{-6}$   $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$

Utilizando a estratégia de hibridação molecular, Lu e colaboradores desenvolveram uma nova série

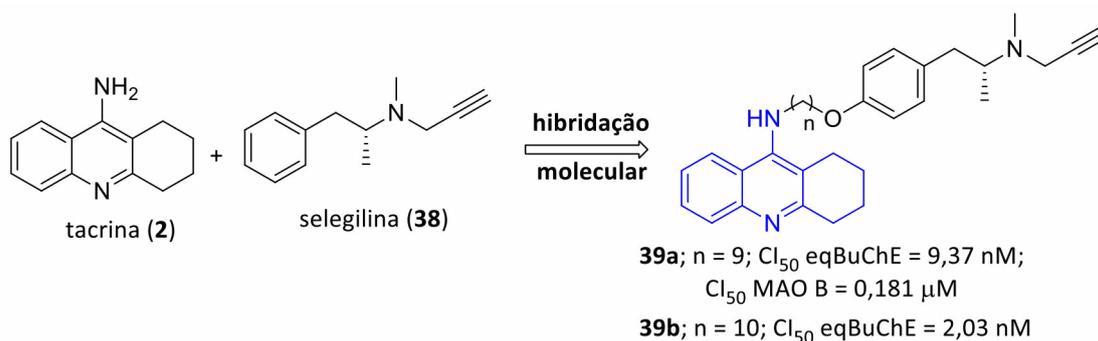


**Figura 25.** Novos derivados híbridos tacrina-ácido ferúlico (**33, 37a-c**) inibidores seletivos de BuChE

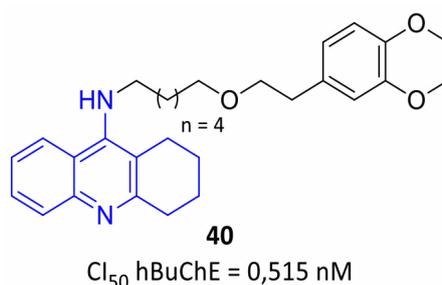
de moléculas multialvos candidatas a fármacos para o tratamento da DA.<sup>102</sup> Com intuito de obter moléculas capazes de atuar nas enzimas colinesterásicas (AChE e BuChE) e nas isoformas de monoamino-oxidase (MAO-A e MAO-B), os autores planejaram uma série de derivados híbridos da tacrina e selegilina (**38**), um potente inibidor seletivo para MAO-B. A principal diferença entre os compostos foi o tamanho da cadeia alquílica espaçadora responsável pela conexão entre as subunidades dos protótipos utilizados. A atividade inibitória dos treze compostos da série foi avaliada frente às enzimas eeAChE, eqBChE, hMAO-A e hMAO-B. Os derivados **39a** (n = 9) e **39b** (n = 10) foram os mais potentes inibidores de BuChE,  $Cl_{50}$  = 9,37 nM e  $Cl_{50}$  = 2,03 nM respectivamente, sendo o **39a** quatro vezes mais seletivo e o **39b** dez vezes, ambos apresentando valores melhores que a tacrina ( $Cl_{50}$  eqBuChE = 21,6 nM) (Figura 26). A nova série também apresentou ótimos valores de inibição das duas isoformas da MAO, variando de  $Cl_{50}$  = 0,1926 – 43,38  $\mu$ M para MAO-A e  $Cl_{50}$  = 0,1670 – 18,11  $\mu$ M para MAO-B, menores que o inibidor seletivo de MAO-A, a glorgilina ( $IC_{50}$  = 0,0041  $\mu$ M), e comparáveis ao inibidor seletivo de MAO-B, a pargylina ( $IC_{50}$  = 0,1880  $\mu$ M). O derivado **39a** se destacou como um dos compostos mais ativos para a MAO-B ( $Cl_{50}$  = 0,1810  $\mu$ M), com inibição do tipo

irreversível, e foi identificado como um protótipo promissor para o desenvolvimento de fármacos multialvos para o tratamento da DA.

Uma grande série de derivados da tacrina (**2**), altamente seletivos e potentes para inibição da enzima hBuChE foi descrita pelo grupo de Roldán-Peña.<sup>103</sup> Foram sintetizados e avaliados 23 compostos híbridos da tacrina (**2**) e derivados de polifenóis conectados por diferentes espaçadores, como inimas, aminas, diaminas, éteres e aminas cíclicas. Os novos derivados passaram primeiramente por uma triagem frente à eeAChE e eqBChE, e os melhores resultados seguiram para avaliação nas respectivas enzimas humanas. Os compostos da série éter apresentaram notável seletividade para BuChE, com valores de  $Cl_{50}$  variando de 0,497 - 35,6 nM para hBChE e  $Cl_{50}$  142 - 542 nM para hAChE. O derivado **40** (Figura 27) foi identificado como o mais promissor, apresentando  $Cl_{50}$  hAChE = 168 nM,  $Cl_{50}$  hBuChE = 0,515 nM e IS de 323. O composto **40** também foi capaz de inibir 64% da agregação Ab na concentração de 50  $\mu$ M, foi seguro para células de neurônios em altas concentrações (5  $\mu$ M), foi pouco hepatotóxico em concentrações ainda maiores (10  $\mu$ M) e mostrou boa estabilidade plasmática. Diante dos resultados promissores descritos, o derivado **40** é considerado um bom candidato para o desenvolvimento de fármacos multialvo para o tratamento da DA.



**Figura 26.** Novos derivados híbridos tacrina-selegilina (39a-b) inibidores seletivos de BuChE e MAO



**Figura 27.** Derivado híbrido da tacrina (**40**), inibidor seletivo de BuChE e protótipo de fármaco multifuncional para o tratamento da DA

Spilovska e colaboradores<sup>104</sup> desenvolveram derivados híbridos da 7-metóxi-tacrina (7-MEOTA) e adamantina unidas por um espaçador tiourea de modo que o farmacóforo 7-MEOTA interaja com o sítio catalítico das colinesterases e a subunidade derivada da adamantina interaja com o sítio periférico. Foram sintetizados sete derivados híbridos com espaçadores metilênicos variando de 2 a 8 unidades. Os derivados **41-43** ( $n = 6-8$ ;  $Cl_{50}$  BuChE = 0,33 / 0,15 / 0,26  $\mu\text{M}$ ; respectivamente) foram os mais ativos e seletivos para BuChE (Figura 28). O derivado **42** foi o mais promissor da série, com boa atividade contra hBuChE e 23 vezes mais seletividade para hBuChE em relação à hAChE ( $Cl_{50}$  hBuChE = 0,15  $\mu\text{M}$ ,  $Cl_{50}$  hAChE = 3,47  $\mu\text{M}$ ). Estudos *in silico* de *docking* molecular indicam que os derivados são capazes de interagir tanto com o sítio catalítico quanto o periférico de ambas as enzimas.

O grupo farmacofórico 7-metóxi-tacrina também inspirou Korabecny e colaboradores<sup>105</sup> na síntese de quatro cloridratos derivados da tacrina (**2**), nos quais foram explorados substituintes

aromáticos e alicíclicos como substituintes do grupo amina. Neste trabalho, os autores identificaram o derivado fenilpropílico (**44**,  $Cl_{50}$  hAChE = 3,21  $\mu\text{M}$ ,  $Cl_{50}$  hBuChE = 0,17  $\mu\text{M}$ ) como um inibidor potente e seletivo de BuChE (Figura 28).

Lou e colaboradores planejaram uma série de derivados híbridos tacrina-metilenodioxibenzeno e tacrina-trimetoxibenzeno.<sup>106</sup> A maioria dos compostos mostrou excelente inibição de ambas as colinesterases e diferentes perfis de seletividade. Em especial, os derivados **45a-c** (Figura 29) se destacaram pela potência e seletividade para BuChE. Adicionalmente, o derivado **45c** foi um dos compostos da série com melhor capacidade de inibição de agregação Ab (67% a concentração de 20  $\mu\text{M}$ ), apresentando valor de inibição melhor que o padrão utilizado (curcumina: 51% a 20  $\mu\text{M}$ ).

#### 4.7. Derivados Triazólicos

O núcleo heterocíclico denominado triazol se refere a um anel de cinco membros contendo dois

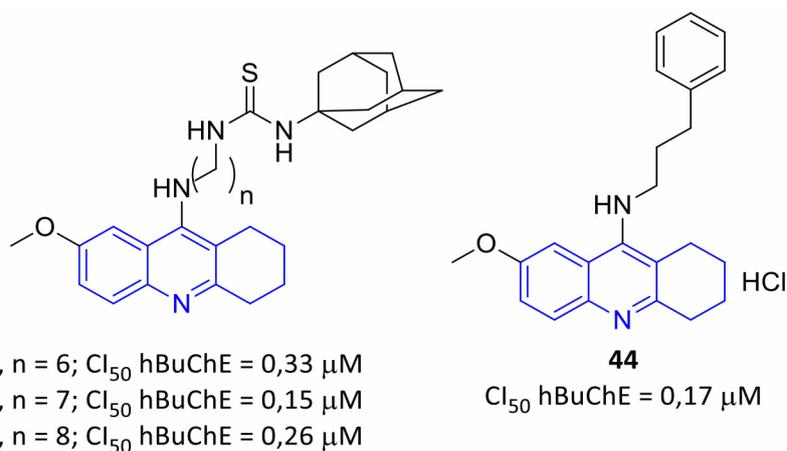


Figura 28. Derivados híbridos da tacrina (**41-44**)

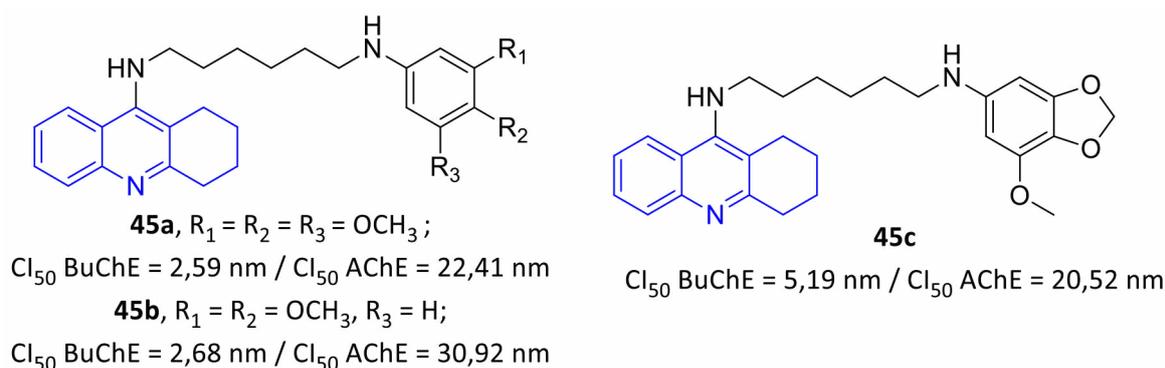


Figura 29. Derivados híbridos tacrina-metilenodioxibenzeno e tacrina-trimetoxibenzeno inibidores seletivos de BuChE (**45a-c**)

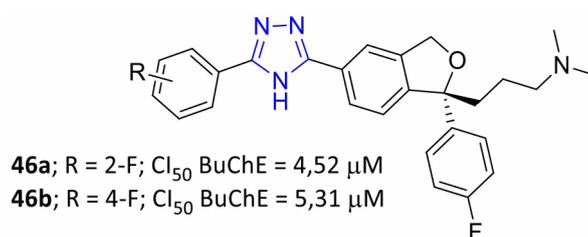
átomos de carbono e três átomos de nitrogênio, de fórmula  $C_2H_3N_3$  e podendo existir dois isômeros dependendo da posição relativa entre os átomos de nitrogênio, 1,2,3-triazóis e 1,2,4-triazóis. Triazóis podem ser obtidos através de diversas estratégias sintéticas e com várias possibilidades de derivatização, o que tem levado ao aumento da utilização deste heterociclo nas pesquisas em síntese e química medicinal. Diversos protótipos bioativos contendo o núcleo triazólico são descritos por suas atividades anticâncer, antibacterianas, antiparasitárias, antimaláricos, antivirais, neuroprotetores, inibidores de colinesterases, etc.<sup>107,108</sup>

Devido à ampla utilização de derivados triazólicos em compostos biologicamente ativos, Nisa e colaboradores descreveram uma nova série de derivados 1,2,4-triazóis do escitalopram.<sup>109</sup> Os derivados triazólicos foram submetidos aos ensaios de inibição da atividade de ambas enzimas colinesterásicas. Dois derivados foram identificados como bons inibidores seletivos de BuChE: **46a** (R = 2-F) e **46b** (R = 4-F),  $Cl_{50}$  = 4,52  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  = 5,31  $\mu$ M respectivamente, com **46a** sendo 41 vezes mais seletivo para BuChE e **46b** sendo 49 vezes mais seletivo (Figura 30). Os estudos de modelagem molecular mostraram que **46a** e **46b** obtiveram melhores valores de DG (-9,04 kcal/mol e -8,51 kcal/mol, respectivamente) corroborando com os resultados *in vitro*. Ambos os derivados realizam interações hidrofóbicas com diversos resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima e **46a** mostrou uma ligação de hidrogênio adicional com o resíduo de Thr120, o que poderia justificar sua melhor atividade entre os outros derivados.

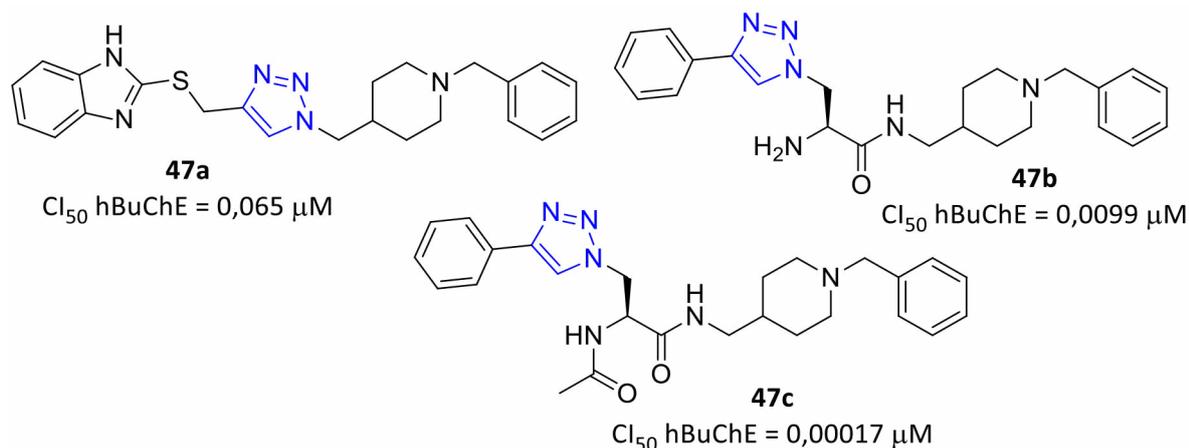
Inspirados na donepezila (**3**), de Andrade colaboradores<sup>110</sup> planejaram duas séries de derivados 1,2,3-triazólicos mantendo a subunidade farmacofórica benzil-piperidina de **3** e substituindo a indanona por aromáticos ou heteroaromáticos conectados ao núcleo triazólico. Os autores também propuseram derivados nos quais a indanona de **3** foi substituída pelo núcleo 4-fenil-1,2,3-triazol

conectado à fenil-piperidina por uma cadeia dialquil-amida espaçadora de diferentes tamanhos. O composto triazólico **47a** apresentou valor de  $Cl_{50}$  na faixa de micromolar para BuChE e seletividade *versus* AChE ( $Cl_{50}$  hAChE = 7,33  $\mu$ M,  $Cl_{50}$  hBuChE = 0,065  $\mu$ M, IS = 112), sendo um derivado muito promissor visto que não há substituinte no anel do mercaptobenzoimidazol, tornando-o um bom protótipo para futura otimização. Já os derivados 4-fenil-1,2,3-triazólicos tiveram excelentes resultados de inibição da hBuChE ( $IC_{50}$  = 0,00017 - 1,02  $\mu$ M). Os derivados **47b** e seu derivado *N*-acetilado **47c** foram os mais potentes,  $Cl_{50}$  hBuChE = 0,0099  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  hBuChE = 0,00017  $\mu$ M respectivamente, sendo **47c** mais de 58000 vezes mais seletivo para BuChE em relação à AChE, ambos apresentando uma inibição do tipo mista e não citotóxicos (Figura 31). Estudos de relação estrutura atividade mostraram que o menor valor de *n* (espaçador alquílico) bem como a *N*-acetilação também favoreceram a inibição da BuChE.

Marques e colaboradores descreveram duas séries de 1,2,3-triazóis derivados da isatina planejados como agentes inibidores das enzimas ChE's e da agregação Ab.<sup>111</sup> No geral os compostos não foram capazes de inibir a AChE ( $Cl_{50}$  eeAChE > 100  $\mu$ M) e apresentaram boa seletividade para enzima BuChE. O derivado **48b** (Figura 32) foi o mais potente em ambas as enzimas BuChE testadas ( $Cl_{50}$  eqBuChE = 0,46  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  hBuChE = 0,51  $\mu$ M) sendo 217 vezes mais seletivo para BuChE *versus* AChE. O derivado **48c** (Figura 32) também apresentou bons resultados inibição para a BuChE ( $Cl_{50}$  eqBuChE = 41  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  hBuChE = 10  $\mu$ M). As análises de cinética enzimática demonstraram que os derivados apresentam tipos de inibição distintos, **48b** apresentou inibição o tipo mista enquanto **48c** apresentou inibição do tipo não competitiva. Os derivados avaliados contra agregação do peptídeo Ab não obtiveram bons resultados, sendo o melhor deles o composto **48a** (Figura 32) ( $Cl_{50}$  eqBuChE = 14,0  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  hBuChE = 2,2  $\mu$ M), capaz de inibir



**Figura 30.** Derivados híbridos triazol-escitalopram inibidores seletivos de BuChE (**46a-b**)



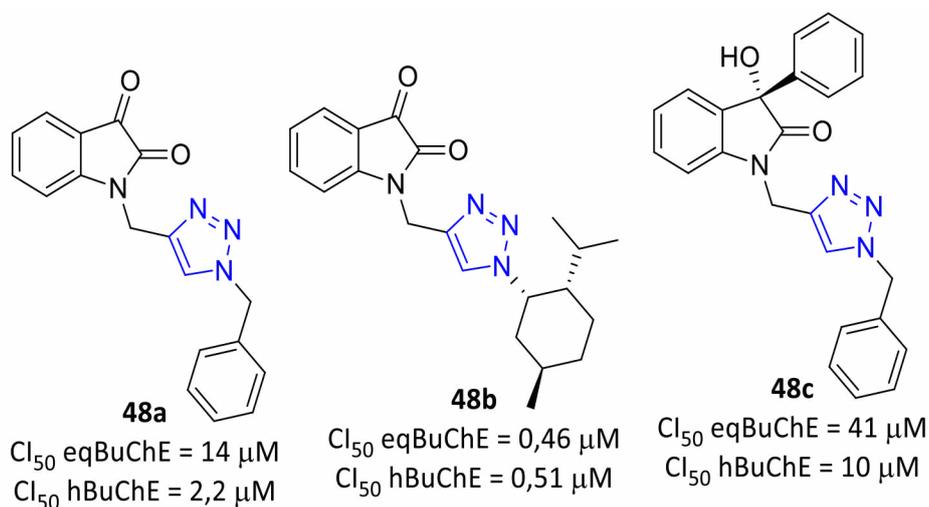
**Figura 31.** Derivados híbridos triazol-benzilpiperidínicos inibidores seletivos de BuChE (**47a-c**)

16% da agregação Aβ à 50 μM, valor bem menor que outros compostos descritos na literatura. As análises *in silico* de *docking* molecular se correlacionaram com os valores de atividade observados experimentalmente e mostraram que as principais interações realizadas pelo composto **48b**, mais ativo de todos os derivados sintetizados, são uma ligação de hidrogênio entre o oxigênio da carbonila da isatina com o resíduo de Thr120 e uma interação p-p *stacking* entre o anel 1,2,3-triazol e o Trp82. Adicionalmente, os compostos não foram hepatotóxicos e pouco neurotóxicos.

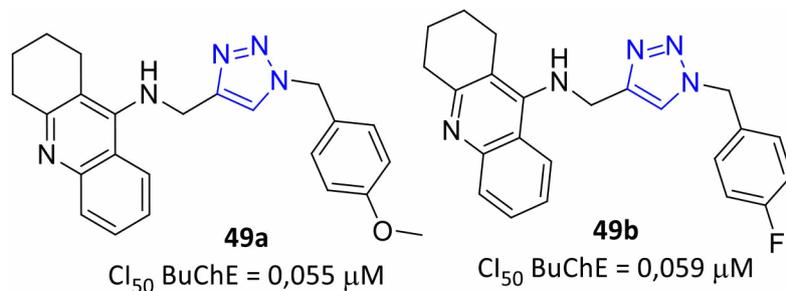
Novos derivados híbridos tacrina-1,2,3-triazol foram descritos por Najafi e colaboradores.<sup>112</sup> O derivado híbrido **49a** (Figura 33, R = 4-OMe) apresentou Cl<sub>50</sub> de 2,00 μM para AChE e 0,055 μM para BuChE (IS = 36 para BuChE). O composto **49b** (Figura 33, R = 4-F) apresentou Cl<sub>50</sub> AChE =

2,38 μM e Cl<sub>50</sub> BuChE = 0,059 μM (IS = 40 para BuChE). Estudos de cinética enzimática indicaram que o derivado **49a** possui inibição do tipo mista, interagindo tanto com o sítio catalítico quanto periférico da enzima BuChE. Os estudos de modelagem molecular previram que a subunidade da tacrina do derivado híbrido **49a** interage com o resíduo Trp82 através de uma interação p-p *stacking*, o núcleo triazólico realiza outra interação importante do tipo ânion-p com o resíduo Asp70, além da interação entre a região benzílica com o resíduo de Ser72.

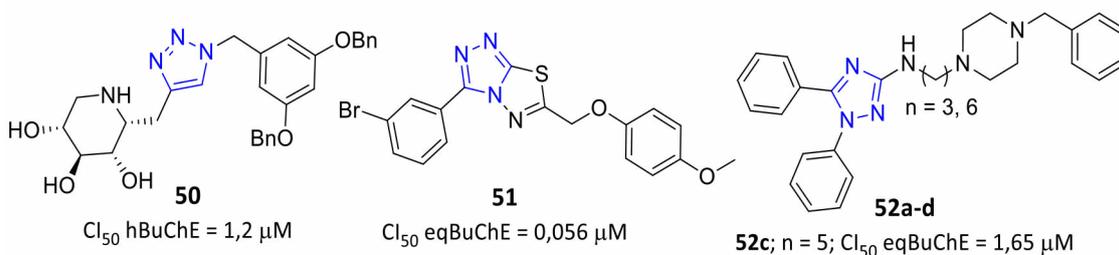
Uma nova classe de derivados híbridos 1,2,3-triazóis-iminoacúcares, Inibidores seletivos de hBuChE, foi descrita por Decroocq.<sup>113</sup> Os compostos tiveram valores de Cl<sub>50</sub> de até 15 μM, sendo o composto **50** (Figura 34) o mais potente com Cl<sub>50</sub> para hBuChE de 1,2 μM.



**Figura 32.** Derivados híbridos triazol-isatina inibidores seletivos de BuChE (**48a-c**)



**Figura 33.** Derivados híbridos triazol-tricina inibidores seletivos de BuChE (**49a-b**)



**Figura 34.** Derivados híbridos triazólicos inibidores seletivos de BuChE (**50, 51 e 52**)

O grupo de Khan descreveu uma quimioteca de 1,2,4-triazóis-tiadiazóis planejados como agentes duais inibidores de ChE's e MAO.<sup>114</sup> O derivado **51** (Figura 34) apresentou  $Cl_{50}$  de 0,056  $\mu\text{M}$  para a eqBuChE e se mostrou um inibidor não seletivo para as monoaminoxidases ( $Cl_{50}$  MAO-A = 2,89  $\mu\text{M}$  e  $Cl_{50}$  MAO-B = 2,97  $\mu\text{M}$ ), valor comparável com o inibidor seletivo clorgylina utilizada como padrão ( $Cl_{50}$  MAO-A = 3,64  $\mu\text{M}$ ).

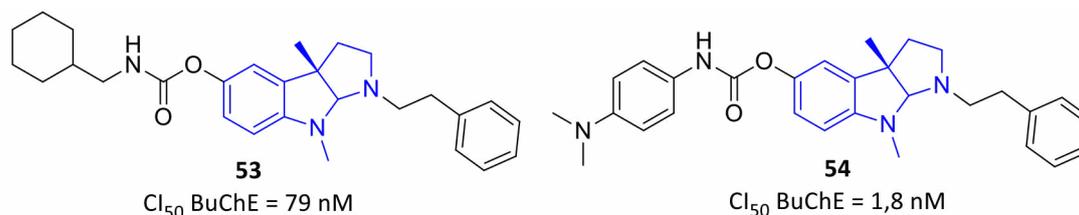
Novos derivados 3-amino-1,2,4-triazóis (**52a-d**, Figura 34), planejados através da hibridação molecular com a donepezila (**3**) e bioisosterismo não clássico, foram descritos por Santos e colaboradores.<sup>115</sup> Os autores desenvolveram uma nova rota sintética regioseletiva para obtenção dos derivados e os mesmos foram avaliados quanto sua capacidade inibitória frente as enzimas eeAChE e eqBChE. O amino-triazol **52c** ( $n = 5$ ) foi o mais seletivo para BuChE ( $Cl_{50}$  eeAChE = 11,00  $\mu\text{M}$  e  $IC_{50}$  eqBChE = 1,65  $\mu\text{M}$ ) demonstrando ser mais potente em eqBChE que o padrão utilizado (donepezila:  $IC_{50}$  eqBChE = 2,39  $\mu\text{M}$ ).

#### 4.8. Outras Classes Químicas de Inibidores de BuChE

Takahashi e colaboradores descreveram uma série de inibidores potentes e seletivos para BuChE baseados em modificações estruturais no núcleo da norfisostigmina.<sup>116</sup> Ao total foram

sintetizados 21 derivados variando o substituinte da subunidade carbamato. Todos os compostos sintetizados pelo grupo apresentaram seletividade para BuChE em relação à AChE. Os resultados mostraram a importância do grupo fenético em  $N^1$  para a seletividade para BuChE, todos os derivados fenéticos foram seletivos e o composto substituído pelo grupo metila em  $N^1$  foi seletivo para a AChE. Dentre os compostos investigados, destacam-se os resultados obtidos para o derivado **53** ( $Cl_{50}$  AChE > 100000 nM e  $Cl_{50}$  BuChE = 79 nM) sendo mais de 1266 vezes mais seletivo para BuChE e o derivado **54** ( $Cl_{50}$  AChE = 2500 nM e  $Cl_{50}$  BuChE = 1,8 nM) apresentando 1388 vezes mais seletividade para a BuChE.

Na pesquisa por compostos multialvos para o tratamento da DA, Ozden e colaboradores desenvolveram novas séries de oximidas e fumaramidas planejadas como inibidores de colinesterases e complexantes de metais envolvidos na DA.<sup>117</sup> Destacam-se os resultados para a oximida **55a** com  $Cl_{50}$  eeAChE > 100  $\mu\text{M}$  e  $Cl_{50}$  eqBuChE = 0,02  $\mu\text{M}$ , sendo mais de 5000 vezes mais seletivo para BuChE em relação à AChE e 661 vezes mais potente que o padrão (galatamina:  $Cl_{50}$  eqBChE = 13,22  $\mu\text{M}$ ). A fumaramida **55b** também se mostrou muito seletiva para BuChE ( $Cl_{50}$  eeAChE > 100  $\mu\text{M}$  e  $Cl_{50}$  eqBuChE = 0,05  $\mu\text{M}$ ), mais de 2000 vezes mais seletivo e 264 vezes mais potente que a galantamina. O derivado dibromado **55c** foi o



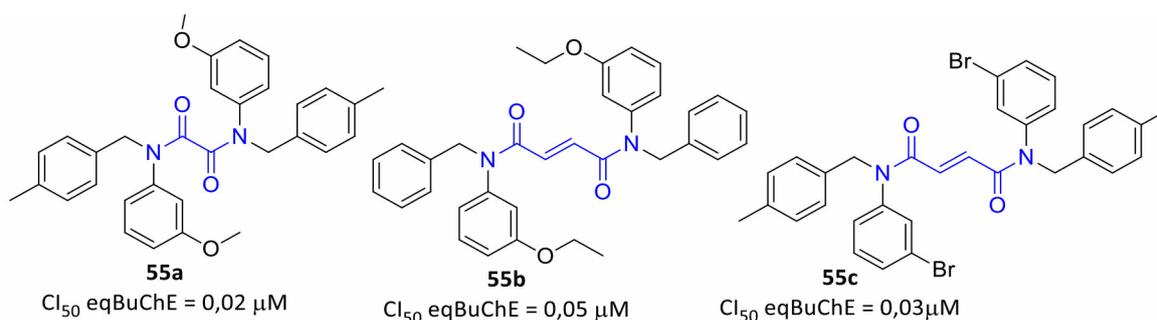
**Figura 35.** Inibidores seletivos de BuChE derivados da fisostigmina (**53** e **54**)

mais potente, mas com perda de seletividade ( $Cl_{50}$  eeAChE = 0,24  $\mu$ M,  $Cl_{50}$  eqBuChE = 0,03  $\mu$ M e IS = 8). Os estudos de modelagem molecular sugerem que o derivado **55a** interage somente com o sítio periférico da BuChE enquanto o composto **55c** é capaz de interagir somente com o sítio catalítico.

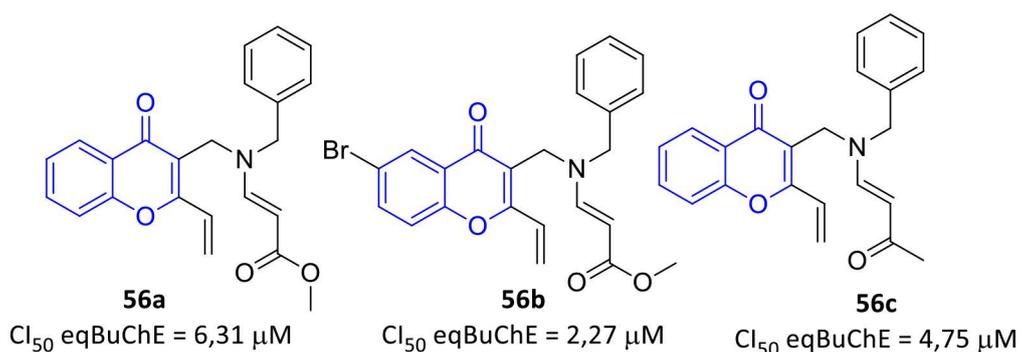
Uma classe de derivados 2-vinil-cromona, descrita Makhaeva e colaboradores,<sup>118</sup> foi avaliada frente a hAChE, eqBuChE e carboxiesterase. Nenhum dos compostos inibiu significativamente as enzimas acetilcolinesterase e carboxiesterase na concentração de 20  $\mu$ M. Os derivados **56a**, **56b** e **56c** foram os mais potentes inibidores de BuChE, com  $Cl_{50}$  eqBuChE = 6,31  $\mu$ M,  $Cl_{50}$  eqBuChE = 2,27  $\mu$ M e  $IC_{50}$  eqBuChE = 4,75  $\mu$ M respectivamente, e todos apresentaram inibição do tipo mista.

Jiang e colaboradores realizaram um grande estudo *in silico* para triagem de uma quimioteca 1225

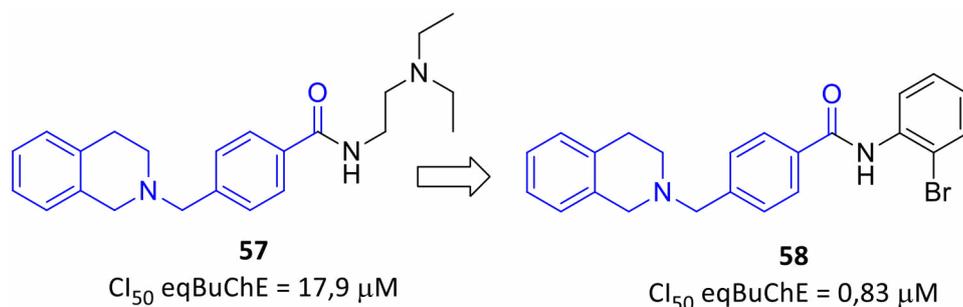
compostos.<sup>119</sup> Os estudos de modelagem molecular aliados à síntese e avaliação *in vitro* dos melhores compostos, levaram a identificação do protótipo inibidor seletivo de BuChE dihidroisoquinolina **57** ( $Cl_{50}$  BuChE = 17,9  $\mu$ M /  $Cl_{50}$  AChE > 50  $\mu$ M). Subseqüentes estudos de modelagem molecular e modificações estruturais levaram a identificação de novos derivados mais potentes e seletivos. Destaque para o inibidor seletivo de BuChE **58** ( $Cl_{50}$  BuChE = 0,83  $\mu$ M /  $Cl_{50}$  AChE > 50  $\mu$ M), o qual não foi tóxico mesmo em concentrações muito elevadas, até 200  $\mu$ M, no ensaio de citotoxicidade em células SH-SY5Y. Adicionalmente, **58** também foi muito eficaz na inibição *in vitro* da agregação de peptídeo Ab (inibição de 44% 10  $\mu$ M), mais potente que o padrão donepezila (25,8% a 10  $\mu$ M), e neuroprotetor em células SH-SY5Y contra a neurotoxicidade induzida por peptídeo Ab (**58**: 98% a 10  $\mu$ M).



**Figura 36.** Oximida (**55a**) e fumaramidas (**55b-c**) inibidores seletivos de BuChE



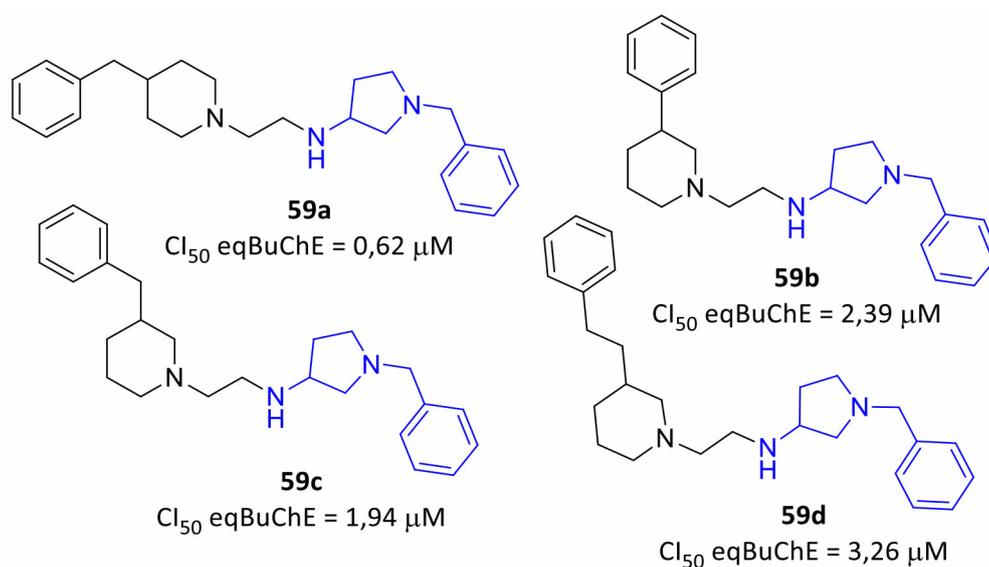
**Figura 37.** Derivados vinil-cromonas (**56a-c**) inibidores seletivos de BuChE



**Figura 38.** Inibidores seletivos de BuChE derivados de dihidroisoquinolinas (**57** e **58**)

Na pesquisa por compostos multialvos úteis no tratamento da DA, Wichur e colaboradores descreveram a síntese e avaliação biológica de diversos derivados da 3-amino-1-benzilpiperidina, classe cujo potencial terapêutico já tinha sido abordado em trabalhos anteriores.<sup>120</sup> Os melhores compostos identificados foram os inibidores seletivos para BuChE **59a-d** (**59a**:  $Cl_{50}$  eqBuChE = 0,62  $\mu$ M; **59b**:  $Cl_{50}$  eqBuChE = 2,39  $\mu$ M; **59c**:  $IC_{50}$  eqBuChE = 1,94  $\mu$ M; **59d**:  $IC_{50}$  eqBuChE = 3,26  $\mu$ M), os quais também foram avaliados quanto a capacidade inibitória da agregação A $\beta$  e  $\tau$ . Os resultados indicaram que o padrão de substituição 1,4 no anel da piperidina é mais favorável à inibição. Além disso, os derivados também se mostraram seletivos para complexação de íons  $Cu^{+2}$ , metal com função importante na DA. As propriedades multialvo apresentadas por essa classe, além de suas características físico-químicas favoráveis, demonstram o potencial terapêutico desta classe para o tratamento da DA.

Baseando-se no potente e seletivo inibidor de BuChE descrito por Brus (**31**,  $Cl_{50}$  hBuChE = 2,7 nM),<sup>94</sup> Kosak e colaboradores propuseram uma série de modificações moleculares, como a troca do núcleo di-idroindeno pelo grupo benzila.<sup>121</sup> As modificações propostas levaram a uma nova série de derivados sulfonamídicos que culminou na identificação de um novo inibidor reversível e seletivo de hBuChE: a sulfonamida **60** com 4,9 nM de  $Cl_{50}$  para hBuChE. Os mesmos autores conseguiram otimizar ainda mais o protótipo **31**, através de modificações estruturais guiadas pela estrutura deste inibidor co-cristalizado com a hBuChE, levando à identificação da amida **61** como um inibidor na faixa de picomolar ( $Cl_{50}$  = 0,04 nM).<sup>122</sup> A sulfonamida **60** e a amida **61** também foram capazes de inibir a BuChE em cérebros de rato. Os estudos *in vivo* demonstraram a capacidade destes inibidores em melhorar a memória, as funções cognitivas e habilidades de aprendizado



**Figura 39.** Derivados 3-amino-1-benzil-pirrolidinas inibidores seletivos de BuChE, candidatos a fármacos multifuncionais para o tratamento da DA (**59a-d**)

em modelos que simulam os sintomas do déficit colinérgico na DA em ratos, sem produzir efeitos colaterais colinérgicos agudos. Adicionalmente, os compostos também têm a capacidade de cruzar a BHE, têm propriedades neuroprotetoras e não foram citotóxicos. Os resultados *in vivo* obtidos para a sulfonamida **60** e amida **61** representam um importante avanço nas pesquisas com inibidores seletivos de BuChE para o tratamento da DA, pois estes representam os primeiros exemplos de inibidores seletivos de BuChE com atividade *in vivo* em modelo da doença.

#### 4.9. Produtos Naturais Inibidores de BuChE

Kim e colaboradores isolaram nove flavonoides a partir do extrato metanoico de

raízes de *Morus ilhou* cultivada na Coreia, os compostos foram devidamente caracterizados por técnicas espectroscópicas e avaliados frente às colinesterases.<sup>123</sup> Embora baixa, todos os compostos apresentaram seletividade para BuChE em relação à AChE e os compostos mais potentes foram a nova flavona identificada **62a** (R = OCH<sub>3</sub>) e o flavonoide **62b** (R = H) com Cl<sub>50</sub> AChE = 10,95 μM e Cl<sub>50</sub> BuChE = 3,43 μM para **62a** e, Cl<sub>50</sub> AChE = 16,21 μM e Cl<sub>50</sub> BuChE = 7,93 μM para **62b**. Ambos apresentaram inibição do tipo mista.

Alcaloides bisindólicos isolados das folhas de *Voacanga globosa* da região das Filipinas,<sup>124</sup> foram avaliados quanto sua capacidade de impedir a replicação de *Mycobacterium tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv e inibição das colinesterases. O alcaloide **63a** (R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = H e X = O) obteve resultados

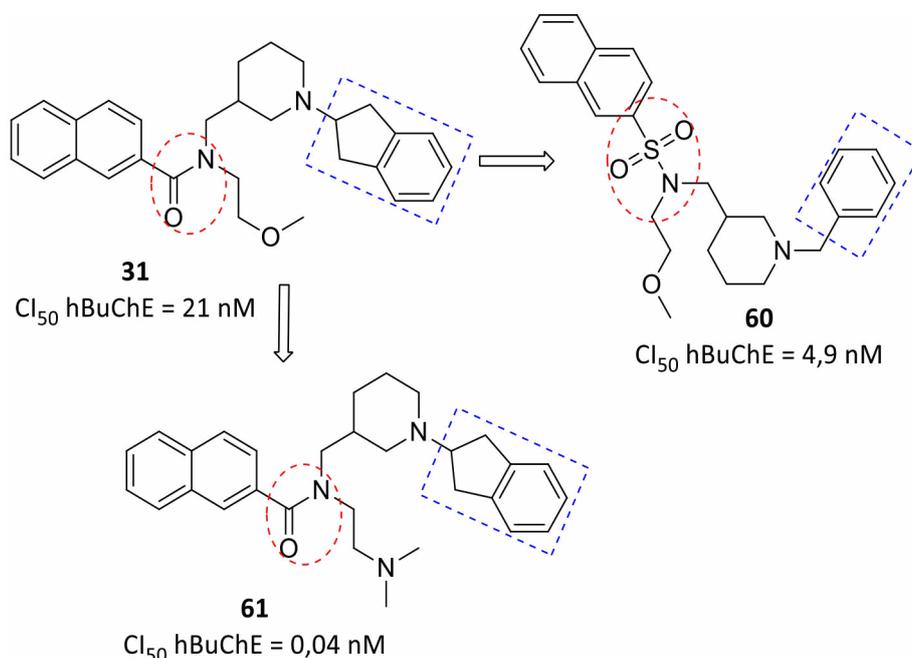


Figura 40. Inibidores potentes e seletivos de BuChE com atividade *in vivo* (**60** e **61**)

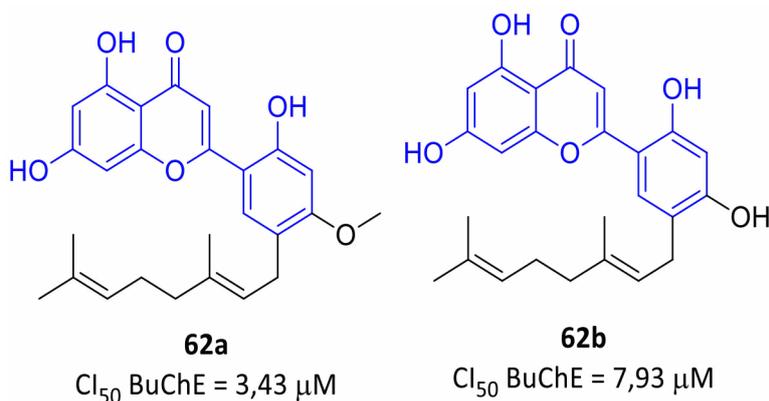


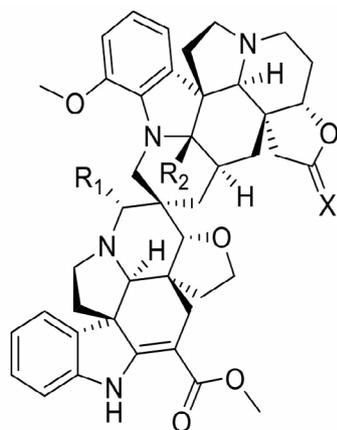
Figura 41. Flavonoides (62a-b) inibidores seletivos de BuChE

promissores nos ensaios antituberculose e 16,4  $\mu\text{M}$  de  $\text{Cl}_{50}$  para inibição da BuChE. Nenhum dos compostos inibiu significativamente a AChE a ponto de ter seu  $\text{Cl}_{50}$  mensurado, por outro lado, todos apresentaram boa capacidade inibitória frente a BuChE, com  $\text{Cl}_{50}$  variando de 6,2  $\mu\text{M}$  a 20,2  $\mu\text{M}$ , sendo o alcaloide **63b** ( $\text{R}_1 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$  e  $\text{X} = \text{H}_2$ ) o mais potente ( $\text{Cl}_{50}$  BuChE = 6,2  $\mu\text{M}$ ).

Diversos triterpenos isolados a partir da *Garcinia hombroniana* tiveram sua atividade inibitória contra AChE e BuChE mensurada. O composto **64a** (garcihombronane I) foi o mais seletivo para BuChE ( $\text{Cl}_{50}$  eeAChE = 212,3  $\mu\text{M}$  e  $\text{Cl}_{50}$  eqBuChE = 71,7  $\mu\text{M}$ ) e o composto **64b** (garcihobranane N) se mostrou o mais potente pra BuChE ( $\text{IC}_{50}$  eqBuChE = 10,4  $\mu\text{M}$ ). Também foram realizados estudos de modelagem molecular que indicaram o perfil de interação entre o composto **64b** e a BuChE, tendo como interações mais importantes as ligações de hidrogênio entre o ácido carboxílico de os resíduos de His438 e Ser198.<sup>125</sup>

A partir dos frutos de *Paulownia tomentosa* obtidas na Coreia, Cho e colaboradores isolaram, da fração metanoica, nove flavonoides com atividade anticolinesterase.<sup>126</sup> Todos os compostos isolados foram mais potentes contra BuChE em relação à AChE e apresentaram inibição do tipo mista. A flavanona **65** ( $\text{R}_1 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_3 = \text{OH}$  e  $\text{R}_4 = \text{OH}$ ) foi a mais potente e seletiva para BuChE dentre todos os flavonoides isolados, com  $\text{Cl}_{50}$  hAChE = 7,2  $\mu\text{M}$  e  $\text{Cl}_{50}$  eqBuChE = 1,4  $\mu\text{M}$ . Os autores concluíram que a presença do substituinte na posição C6 é muito favorável para inibição da BuChE, visto que o composto **65** é um inibidor 800 vezes mais potente que seu análogo não substituído em C6 (eriodictiol:  $\text{Cl}_{50}$  eqBuChE = 1124,4  $\mu\text{M}$ ).

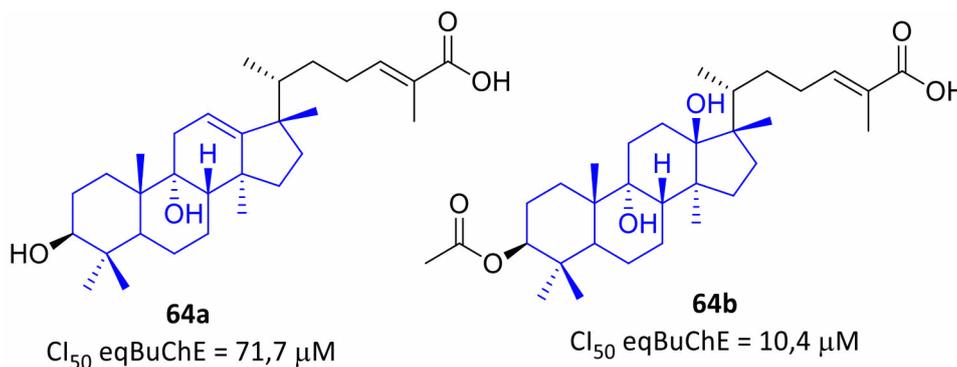
Quatro derivados de 2-aryl-benzofurano foram isolados em extratos metanoicos de raízes de *Morus alba*,<sup>127</sup> os compostos **66a-d** foram avaliados quanto suas capacidades inibitórias frente às enzimas importantes na DA: AChE, BuChE e beta-secretase 1 (BACE1). Os compostos



**63a**;  $\text{R}_1 = \text{OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$  e  $\text{X} = \text{O}$ ;  $\text{Cl}_{50}$  BuChE = 16,4  $\mu\text{M}$

**63b**;  $\text{R}_1 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$  e  $\text{X} = \text{H}_2$ ;  $\text{Cl}_{50}$  BuChE = 6,2  $\mu\text{M}$

Figura 42. Alcaloides bisindólicos (**63a-b**) inibidores seletivos de BuChE



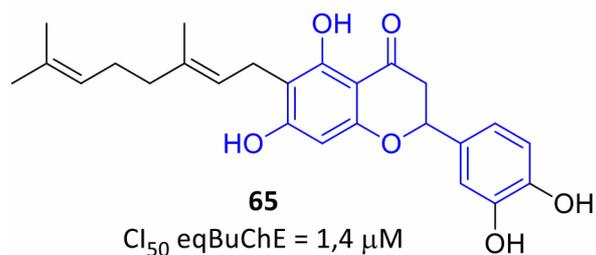
**64a**

$\text{Cl}_{50}$  eqBuChE = 71,7  $\mu\text{M}$

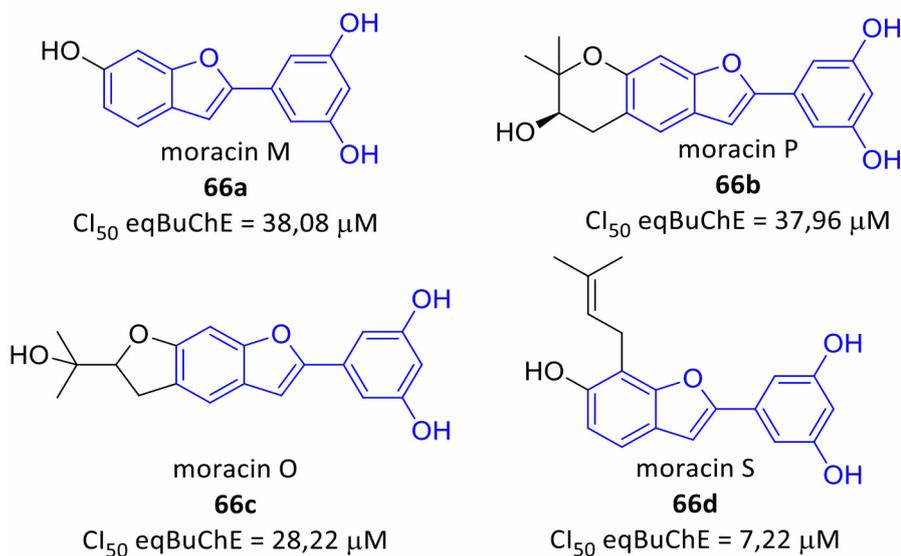
**64b**

$\text{Cl}_{50}$  eqBuChE = 10,4  $\mu\text{M}$

Figura 43. Triterpenos (**64a-b**) inibidores seletivos de BuChE



**Figura 44.** Flavonol (65) inibidor seletivo de BuChE



**Figura 45.** Compostos naturais derivados de 2-aryl-benzofurano inibidores seletivos de BuChE

(moracin M, P, O e S) apresentaram moderada capacidade de inibir a enzima AChE, com valores de  $Cl_{50}$  eeAChE variando de 21,63 - 52,59  $\mu$ M. Por outro lado, o moracin S apresentou uma boa potência de inibição da BuChE ( $Cl_{50}$  eqBuChE = 7,22  $\mu$ M), sendo mais potente que o padrão utilizado (berberina,  $Cl_{50}$  eqBChE = 22,96  $\mu$ M). Quanto à inibição da BACE1, moracin M, P e O apresentaram valores de  $Cl_{50}$  que variaram de 18,15 - 36,08  $\mu$ M e, novamente, moracin S se destacou sendo mais ativo que o padrão (quercitina), com  $Cl_{50}$  BACE1 = 3,08  $\mu$ M e  $Cl_{50}$  BACE1 = 7,91  $\mu$ M, respectivamente. Os compostos isolados também apresentaram atividade antioxidante e inibição de agregação Ab.

não-colinérgicos, a principal estratégia terapêutica atual são os inibidores de AChE. Entretanto esse tratamento possui alguma eficácia somente em estágios iniciais da doença, enquanto nos estágios avançados a BuChE parece ser crucial com o declínio nos níveis de AChE. Esta revisão teve como objetivo trazer essa discussão a tona, já que grande parte das vezes os pesquisadores buscam apenas os inibidores de AChE, enquanto os inibidores de BuChE ficam à margem da discussão. Procuramos destacar aqui inibidores seletivos de BuChE, sintéticos e naturais, descritos como candidatos a protótipos de fármacos para a DA e esperamos que esse compedium possa ser útil no desenvolvimento de novos ligantes seletivos para essa enzima.

## 5. Considerações Finais

A DA é uma das principais causas de demência senil e até hoje não possui um tratamento que reverta a doença. Como uma característica da DA é a perda de acetilcolina nos neurônios colinérgicos e

## Referências Bibliográficas

<sup>1</sup> Massoulié, J.; Pezzementi, L.; Bon, S.; Krejci, E.; Vallete, Françoise-Marie. Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Progress in Neurobiology* 1993, 41, 31. [CrossRef]

- <sup>2</sup> Taylor, P. Em Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica, 10a. Ed.; Brunton, L. L.; Lazo, J. S.; Parker, K. L., eds.; Mc Graw Hill: New York, **2006**, cap. 8.
- <sup>3</sup> Standaert, D. G.; Young, A. B. Em Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica, 10a. Ed.; Brunton, L. L.; Lazo, J. S.; Parker, K. L., eds.; Mc Graw Hill: New York, **2006**, cap. 20.
- <sup>4</sup> Kumar, V.; Becker, R. E. Clinical pharmacology of tetrahydroaminoacridine: a possible therapeutic agent for Alzheimer's disease. *International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology* **1989**, *27*, 478. [[PubMed](#)]
- <sup>5</sup> Li, Q.; He, S.; Chen, Y.; Feng, F.; Qu, W.; Sun, H. Donepezil-based multi-functional cholinesterase inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *158*, 463. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>6</sup> Masson, P.; Carletti, E.; Nachon, F. Structure, activities and biomedical applications of human butyrylcholinesterase. *Protein & Peptide Letters* **2009**, *16*, 1215. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>7</sup> Greig, N. H.; Utsuki, T.; Igran, D. K.; Wang, Y.; Pepeu, G.; Scali, C.; Yu, Q-S.; Mamczarz, J.; Holloway, H. W.; Giordano, T.; Chen, D.; Furukawa, K.; Sambamurti, K.; Brossi, A.; Lahiri, D. K. Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer  $\beta$ -amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, *102*, 17213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>8</sup> Caixeta, L.; *Doença de Alzheimer*, 1a ed, Artmed: Porto Alegre, 2012.
- <sup>9</sup> ADI - Alzheimer's Disease International. Disponível em: < <http://www.alz.co.uk/about-dementia> >. Acesso em: 28 março 2020. [[Link](#)]
- <sup>10</sup> WHO. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs362/en/> >. Acesso em: 28 março 2020. [[Link](#)]
- <sup>11</sup> Anand, R.; Gill, K. D.; Mahdi, A. A. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology* **2014**, *76*, Pt A:27. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>12</sup> Quinn, D. M. Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chemical Reviews* **1987**, *87*, 955. [[CrossRef](#)]
- <sup>13</sup> Alvarez, A.; Alarcón, R.; Opazo, C.; Campos, E. O.; Munoz, F. J.; Calderon, F. H.; Dajas, F.; Gentry, M. K.; Doctor, B. P.; De Mello, F. G.; Inestrosa, N. C. Stable complexes involving acetylcholinesterase and amyloid- $\beta$  peptide change the biochemical properties of the enzyme and increase the neurotoxicity of Alzheimer's fibrils. *Journal of Neuroscience* **1998**, *18*, 3213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>14</sup> Han, X.; He, G. Toward a rational design to regulate  $\beta$ -amyloid fibrillation for alzheimer's disease treatment. *ACS chemical neuroscience* **2018**, *9*, 198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>15</sup> Todd, S.; Barr, S.; Passmore, A. P. Cause of death in Alzheimer's disease: a cohort study. *QJM: An International Journal of Medicine* **2013**, *106*, 747. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>16</sup> Tansey, E. M. Henry Dale and the discovery of acetylcholine. *Comptes Rendus Biologies* **2006**, *329*, 419. [[CrossRef](#)]
- <sup>17</sup> Rang, R.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Flower, R. J.; Henderson, G.; *Farmacologia*, Elsevier Brasil: São Paulo, 2015.
- <sup>18</sup> Peters, B. H.; Levin, H. S. Effects of physostigmine and lecithin on memory in Alzheimer disease. *Annals of Neurology* **1979**, *6*, 219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>19</sup> Onor, M. L.; Trevisiol, M.; Aguglia, E. Rivastigmine in the treatment of Alzheimer's disease: an update. *Clinical Interventions in Aging* **2007**, *2*, 17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>20</sup> Razay, G.; Wilcock, G. K. Galantamine in Alzheimer's disease. *Expert Review of Neurotherapeutics* **2008**, *8*, 9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>21</sup> Pacheco, G.; Palacios-Esquivel, R.; Moss, D. E. Cholinesterase inhibitors proposed for treating dementia in Alzheimer's disease: selectivity toward human brain acetylcholinesterase compared with butyrylcholinesterase. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1995**, *274*, 767. [[PubMed](#)]
- <sup>22</sup> Summers, W. K.; Majovski, L. V.; Marsh, G. M.; Tachild, K.; Kling, A.; Oral tetrahydroaminoacridine in long-term treatment of senile dementia, Alzheimer type. *The New England journal of Medicine* **1986**, *315*, 1241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>23</sup> Watkins, P. B.; Zimmerman, H. J.; Knapp, M. J.; Gracon, S. I.; Lewis, K. W. Hepatotoxic Effects of Tacrine Administration in Patients With Alzheimer's Disease. *Journal of the American Medical Association* **1994**, *271*, 992. [[CrossRef](#)]
- <sup>24</sup> Crismon, M. I. Tacrine: First Drug Approved for Alzheimer's Disease. *The Annals of Pharmacotherapy* **1994**, *28*, 744. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>25</sup> Szeto, J. Y.; Lewis, S. J. Current Treatment Options for Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease Dementia. *Current Neuropharmacology* **2016**, *14*, 326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>26</sup> Blennow, K.; De Leon, M. J.; Zetterberg, H. Alzheimer's disease. *Lancet* **2006**, *368*, 387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>27</sup> Weinstock, M. Selectivity of cholinesterase inhibition. *CNS drugs* **1999**, *12*, 307. [[CrossRef](#)]

- <sup>28</sup> Jann, M. W.; Shirley, K. L.; Small, G. W. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors. *Clinical pharmacokinetics* **2002**, *41*, 719. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>29</sup> Mucke, H. A. The case of galantamine: repurposing and late blooming of a cholinergic drug. *Future Science OA* **2015**, *1*, 4. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>30</sup> Samochocki, M.; Höffle, A.; Fehrenbacher, A.; Jostock, R.; Ludwig, J.; Christner, C.; Radina, M.; Zerlin, M.; Ullmer, C.; Pereira, E. F. R.; Lübbert, H.; Albuquerque, E. X.; Maelicke, A. Galantamine is an allosterically potentiating ligand of neuronal nicotinic but not of muscarinic acetylcholine receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2003**, *305*, 1024. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>31</sup> Chatonnet, A.; Lockridge, O. Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochemical Journal* **1989**, *260*, 625. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>32</sup> Wilson, I. B.; Harrison, M. A. The turnover number of acetylcholinesterase. *The Journal of Biological Chemistry* **1961**, *236*, 2292. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>33</sup> Picciotto, M. R.; Higley, M. J.; Mineur, Y. S. Acetylcholine as a Neuromodulator: Cholinergic Signaling Shapes Nervous System Function and Behavior. *Neuron* **2012**, *76*, 116. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>34</sup> Giacobini, E. Cholinesterase Inhibitors: New Roles and Therapeutic Alternatives. *Pharmacological Research* **2004**, *50*, 433. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>35</sup> Mendel, B.; Rudney, H. Studies on cholinesterase: 1. Cholinesterase and pseudo-cholinesterase. *Biochemical Journal* **1943**, *37*, 59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>36</sup> Nicolet, Y.; Lockridge, O.; Masson, P.; Fontecilla-Camps, J. C.; Nachon, F. Crystal structure of human butyrylcholinesterase and of its complexes with substrate and products. *The Journal of Biological Chemistry* **2003**, *278*, 41141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>37</sup> Cheung, J.; Rudolph, M. J.; Burshteyn, F.; Cassidy, M. S.; Gary, E. N.; Love, J.; Franklin, M. C.; Height, J. J. Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 10282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>38</sup> Rosenberry, T. L.; Brazzolotto, X.; Macdonald, I. R.; Wandhammer, M.; Trovaslet-Leroy, M.; Darvesh, S.; Nachon, F. Comparison of the Binding of Reversible Inhibitors to Human Butyrylcholinesterase and Acetylcholinesterase: A Crystallographic, Kinetic and Calorimetric Study. *Molecules* **2017**, *22*, 2098. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>39</sup> Shafferman, A.; Kronman, C.; Flashner, Y.; Leitner, M.; Grosfeld, H.; Ordentlich, A.; Gozes, Y.; Cohen, S.; Ariel, N.; Barak, D.; Harell, M.; Silman, I.; Sussman, J. L.; Vela, B. Mutagenesis of human acetylcholinesterase. Identification of residues involved in catalytic activity and in polypeptide folding. *Journal of Biological Chemistry* **1992**, *267*, 17640. [[PubMed](#)]
- <sup>40</sup> Harel, M.; Quinn, D.; Nair, H.; Silman, I.; Sussman, J. The X-ray structure of a transition state analog complex reveals the molecular origins of the catalytic power and substrate specificity of acetylcholinesterase. *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 2340. [[CrossRef](#)]
- <sup>41</sup> Ferreira-Vieira, T.; Guimaraes, I.; Silva, F.; Ribeiro, F. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. *Current Neuropharmacology* **2016**, *14*, 101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>42</sup> Taylor, P.; Radic, Z. The Cholinesterases: From Genes to Proteins. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **1994**, *34*, 281. [[CrossRef](#)]
- <sup>43</sup> Brus, B.; Košak, U.; Turk, S.; Pišlar, A.; Coquelle, N.; Kos, J.; Stojan, J.; Colletier, J.-P.; Gobec, S. Discovery, Biological Evaluation, and Crystal Structure of a Novel Nanomolar Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *57*, 8167. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>44</sup> Mack, A.; Robitzki, A. The key role of butyrylcholinesterase during neurogenesis and neural disorders: an antisense-5'butyrylcholinesterase-DNA study. *Progress in Neurobiology* **2000**, *60*, 607. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>45</sup> Carolan, C. G.; Dillon, G. P.; Khan, D.; Ryder, S. A.; Gaynor, J. M.; Reidy, S.; Marquez, J. F.; Jones, M.; Holland, V.; Gilmer, J. F. Isosorbide-2-benzyl carbamate-5-salicylate, a peripheral anionic site binding subnanomolar selective butyrylcholinesterase inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53*, 1190. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>46</sup> Mushtaq, F.; Greig, N. H.; Khan, J. A.; Kamal, M. A.; Status of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets* **2014**, *13*, 1432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>47</sup> Paes, A. M.; Carniatto, S. R.; Francisco, F. A.; Brito, N. A.; Mathias, P. C. Acetylcholinesterase activity changes on visceral organs of VMH lesion-induced obese rats. *International Journal of Neuroscience* **2006**, *116*, 1295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>48</sup> Cucuianu, M.; Nistor, T.; Hancu, N.; Orbai, P.; Muscurel, C.; Stoian, I. Serum cholinesterase activity correlates with serum insulin, C-peptide and free fatty acids levels in patients with type 2 diabetes. *Romanian journal of internal medicine* **2002**, *40*, 43. [[PubMed](#)]

- <sup>49</sup> Kutty, K. M.; Payne, R. H. Serumpseudocholinesterase and very-low-density lipoprotein metabolism. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **1994**, *8*, 247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>50</sup> Grantham, C.; Geerts, H. The rationale behind cholinergic drug treatment for dementia related to cerebrovascular disease. *Journal of the Neurological Sciences* **2002**, *203*, 131. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>51</sup> Manoharan, I.; Boopathy, R.; Darvesh, S.; Lockridge, O. A medical health report on individuals with silent butyrylcholinesterase in the Vysya community of India. *Clinica Chimica Acta*, **2007**, *378*, 128. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>52</sup> Li, B.; Duysen, E. G.; Carlson, M.; Lockridge, O. The butyrylcholinesterase knockout mouse as a model for human butyrylcholinesterase deficiency. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2008**, *324*, 1146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>53</sup> Greig, N. H.; Utsuki, T.; Yu, Q.; Zhu, X.; Holloway, H. W.; Perry, T.; Lee, B.; Ingram, D. K.; Lahiri, D. K. A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: attention to butyrylcholinesterase. *Current Medical Research and Opinion* **2001**, *17*, 159. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>54</sup> Greig, N. H.; Utsuki, T.; Ingram, D. K.; Wang, Y.; Pepeu, G.; Scali, C.; Yu, Q. S.; Mamczarz, J.; Holloway, H. W.; Giordano, T.; Chen, D.; Furukawa, K.; Sambamurti, K.; Brossi, A.; Lahiri, D. K. Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer beta-amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2005**, *102*, 17213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>55</sup> Mesulam, M. M.; Guillozet, A.; Shaw, P.; Levey, A.; Duysen, E. G.; Lockridge, O. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* **2002**, *110*, 627. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>56</sup> Inestrosa, N. C.; De Ferrari, G. V.; Garrido, J. L.; Alvarez, A.; Olivares, G. H.; Barria, M. I.; Bronfman, M.; Chacón, M. A. Wnt signaling involvement in  $\beta$ -amyloid-dependent neurodegeneration. *Neurochemistry International* **2002**, *41*, 341. [[CrossRef](#)]
- <sup>57</sup> Giacobini, E. Selective inhibitors of butyrylcholinesterase: a valid alternative for therapy of Alzheimer's disease?. *Drugs and Aging* **2001**, *18*, 891. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>58</sup> Arun K. Ghosh and Margherita Brindisi. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, *58*, 2895. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>59</sup> Colović, M. B.; Krstić, D. Z.; Lazarević-Pašti, T. D.; Bondžić, A. M.; Vasić, V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology* **2013**, *11*, 315. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>60</sup> Darvesh, S.; Darvesh, K. V.; McDonald, R. S. Mataija, D.; Walsh, R.; Oksana Lockridgell, M.; Martin, E. Carbamates with differential mechanism of inhibition toward acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *51*, 4200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>61</sup> 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. *Current Medicinal Chemistry* **2007**, *14*, 1829. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>62</sup> Carolan, C. G.; Dillon, G. P.; Gaynor, J. M.; Reidy, S.; Ryder, S. A.; Khan, D.; Marquez, J. F.; Gilmer, J. F. Isosorbide-2-carbamate esters: potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *51*, 6400. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>63</sup> Jones, M.; Wang, J.; Harmon, S.; Kling, B.; Heilmann, J.; Gilmer, J. F. Novel Selective Butyrylcholinesterase Inhibitors Incorporating Antioxidant Functionalities as Potential Bimodal Therapeutics for Alzheimer's Disease. *Molecules* **2016**, *21*, 440. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>64</sup> Wu, J.; Tian, Y.; Wang, S.; Pistolozzi, M.; Jin, Y.; Zhou, T.; Roy, G.; Xu, L.; Tan, W. Design, synthesis and biological evaluation of bambuterol analogues as novel inhibitors of butyrylcholinesterase. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *126*, 61. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>65</sup> Bajda, M.; Łątka, K.; Hebda, M.; Jończyk, J.; Malawska, B. Novel carbamate derivatives as selective butyrylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic Chemistry* **2018**, *78*, 29. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>66</sup> Krátký, M.; Štěpánková, Š.; Vorčáková, K.; Švarcová, M.; Vinšová, J. Novel Cholinesterase Inhibitors Based on O-Aromatic *N,N*-Disubstituted Carbamates and Thiocarbamates. *Molecules* **2016**, *21*, 191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>67</sup> de Sá Alves, F. R.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. From nature to drug discovery: the indole scaffold as a 'privileged structure'. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* **2009**, *9*, 782. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>68</sup> Garg, V.; Maurya, R. K.; Thanikachalam, P. V.; Bansal, G.; Monga, V. An insight into the medicinal perspective of synthetic analogs of indole: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *180*, 562. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- <sup>69</sup>De Candia, M.; Zaetta, G.; Denora, N.; Tricarico, D.; Majellaro, M.; Cellamare, S.; Altomare, C. D. New azepino[4,3-b]indole derivatives as nanomolar selective inhibitors of human butyrylcholinesterase showing protective effects against NMDA-induced neurotoxicity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2017**, *125*, 288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>70</sup>Purgatorio, R.; de Candia, M.; Catto, M.; Carrieri, L.; De Palma, A.; Toma, M.; Ivanova, O. A.; Voskressensky, L. G.; Altomarea, C. D. Investigating 1,2,3,4,5,6-hexahydroazepino[4,3-b]indole as scaffold of butyrylcholinesterase-selective inhibitors with additional neuroprotective activities for Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *177*, 414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>71</sup>Więckowska, A.; Więckowski, K.; Bajda, M.; Brusci, B.; Salat, K.; Paulina, S.; Czerwińska, P.; Gobec, S.; Filippek, B.; Malawska, B. Synthesis of new N-benzylpiperidine derivatives as cholinesterase inhibitors with  $\beta$ -amyloid anti-aggregation properties and beneficial effects on memory in vivo. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2015**, *23*, 2445. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>72</sup>Meden, A.; Knez, D.; Jukič, M.; Brazzolotto, X.; Gršič, M.; Pišlar, A.; Zahirović, A.; Kos, J.; Nachon, F.; Svete, J.; Gobec, S.; Grošelj, U. Tryptophan-derived butyrylcholinesterase inhibitors as promising leads against Alzheimer's disease. *Chemical Communications (Camb)* **2019**, *55*, 3765. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>73</sup>Velík, J.; Baliharová, V.; Fink-Gremmels, J.; Bull, S.; Lamka, J.; Skálová, L. Benzimidazole drugs and modulation of biotransformation enzymes. *Research in Veterinary Science* **2004**, *76*, 95. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>74</sup>Ajani, O. O.; Aderohunmu, D. V.; Ikpo, C. O.; Adedapo, A. E.; Olanrewaju, I. O. Functionalized Benzimidazole Scaffolds: Privileged Heterocycle for Drug Design in Therapeutic Medicine. *Archiv der Pharmazie (Weinheim)* **2016**, *349*, 475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>75</sup>Williams, A.; Zhou, S.; Zhan, C. G. Discovery of potent and selective butyrylcholinesterase inhibitors through the use of pharmacophore-based screening. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2019**, *29*, 126754. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>76</sup>Dolles, D.; Nimczick, M.; Scheiner, M.; Ramler, J.; Stadtmüller, P.; Sawatzky, E.; Drakopoulos, A.; Sotriffer, C.; Wittmann, H.-J.; Strasser, A.; Decker, M. Aminobenzimidazoles and Structural Isomers as Templates for Dual-Acting Butyrylcholinesterase Inhibitors and hCB2 R Ligands To Combat Neurodegenerative Disorders. *ChemMedChem* **2016**, *11*, 1270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>77</sup>Zhu, J.; Wu, C. F.; Li, X. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling of substituted 2-aminobenzimidazoles as novel inhibitors of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Bioorg Med Chem* **2013**, *21*, 4218. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>78</sup>Coban, G.; Carlino, L.; Tarikogullari, A. H.; Parlar, S.; Sarıkaya, G.; Alptüzün, V.; Alpan, A. S.; Güneş, H. S.; Erciyas, E. 1H-benzimidazole derivatives as butyrylcholinesterase inhibitors: synthesis and molecular modeling studies. *Medicinal Chemistry Research* **2016**, *25*, 2005. [[CrossRef](#)]
- <sup>79</sup>Gopi, C.; Dhanaraju, M. D. Recent Progress in Synthesis, Structure and Biological Activities of Phenothiazine Derivatives. *Review Journal of Chemistry* **2019**, *9*, 95. [[CrossRef](#)]
- <sup>80</sup>González-Muñoz, G. C.; Arce, M. P.; López, B.; Pérez, C.; Villarrooy, M.; López, M. G.; García, A. G.; Conde, S.; Rodríguez-Franco, M. I. Old phenothiazine and dibenzothiadiazepine derivatives for tomorrow's neuroprotective therapies against neurodegenerative diseases. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *45*, 6152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>81</sup>González-Muñoz, G. C.; Arce, M. P.; López, B.; Pérez, C.; Romero, A.; del Barrio, L.; Martín-de-Saavedra, M. D.; Ejea, J.; León, R.; Villarrooy, M.; López, M. G.; García, A. G.; Conde, S.; Rodríguez-Franco, M. I. N-acylaminophenothiazines: neuroprotective agents displaying multifunctional activities for a potential treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46*, 2224. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>82</sup>Tasso, B.; Catto, M.; Nicolotti, O.; Novelli, F.; Tonelli, M.; Giangreco, I.; Pisani, L.; Sparatore, A.; Boido, V.; Carotti, A.; Sparatore, F. Quinolizidinyl derivatives of bi- and tricyclic systems as potent inhibitors of acetyl- and butyrylcholinesterase with potential in Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46*, 2170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>83</sup>Simeon-Rudolf, V.; Sinko, J.; Stuglin, A.; Reiner, E. Inhibition of human blood acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase by ethopropazine, *Croatica Chemica Acta* **2001**, *74*, 173.
- <sup>84</sup>Sinko, G.; Kovarik, Z.; Reiner, E.; Simeon-Rudolf, V.; Stojan, J. Mechanism of stereoselective interaction between butyrylcholinesterase and ethopropazine enantiomers. *Biochimie* **2011**, *93*, 1797. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>85</sup>Mikalsen, A.; Andersen, R. A.; Alexander, J. Use of ethopropazine and BW 284C51 as selective inhibitors for cholinesterases from various species. *Comparative Biochemistry and physiology* **1985**, *83*, 447. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- <sup>86</sup> Matar, H. E.; Almerie, M. Q.; Makhoul, S.; Xia, J.; Humphreys, P. Pericyazine for schizophrenia. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* **2014**, 5, CD007479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>87</sup> Makhaeva, G. F.; Lushchekina, S. V.; Boltneva, N. P.; Sokolov, V. B.; Grigoriev, V. V.; Serebryakova, O. G.; Vikhareva, E. A.; Aksinenko, A. Y.; Barreto, G. E.; Aliev, G.; Bachurin, S. O. Conjugates of  $\gamma$ -Carbolines and Phenothiazine as new selective inhibitors of butyrylcholinesterase and blockers of NMDA receptors for Alzheimer Disease. *Scientific Reports* **2015**, 5, 13164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>88</sup> Bharadwaj, P. R.; Bates, K. A.; Porter, T.; Teimouri, E.; Perry, G.; Steele, J. W.; Gandy, S.; Groth, D.; Martins, R. N.; Verdile, G. Latrepirdine: molecular mechanisms underlying potential therapeutic roles in Alzheimer's and other neurodegenerative diseases. *Translational psychiatry* **2013**, 3, 332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>89</sup> Cano-Cuenca, N.; Solis-Garcia del Pozo, J. E.; Jordan, J. Evidence for the efficacy of latrepirdine (Dimebon) treatment for improvement of cognitive function: a meta-analysis. *Journal of Alzheimer's disease: JAD* **2014**, 38, 155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>90</sup> Oz, M.; Lorke, D. E.; Petroianu, G. A. Methylene blue and Alzheimer's disease. *Biochemical pharmacology* **2009**, 78, 927. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>91</sup> Atamna, H.; Kumar, R. Protective role of methylene blue in Alzheimer's disease via mitochondria and cytochrome c oxidase. *Journal of Alzheimer's disease* **2010**, 20, S439. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>92</sup> Ginimuge, P. R.; Jyothi, S. D. Methylene blue: revisited. *Journal of anaesthesiology, clinical pharmacology* **2010**, 26, 517. [[PubMed](#)]
- <sup>93</sup> Marella, A.; Tanwar, O. P.; Saha, R.; Ali, M. R.; Srivastava, S.; Akhter, M.; Shaquizzaman, M.; Alam, M. M. Quinoline: A versatile heterocyclic. *Saudi pharmaceutical journal* **2013**, 21, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>94</sup> Brus, B.; Kosak, U.; Turk, S.; Pislari, A.; Coquelle, N.; Kos, J.; Stojan, J.; Colletier, J. P.; Gobec, S. Discovery, Biological Evaluation, and Crystal Structure of a Novel Nanomolar Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, 57, 8167. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>95</sup> Knez, D.; Brus, B.; Coquelle, N.; Sosič, I.; Šink, R.; Brazzolotto, X.; Mravljak, J.; Colletier, J. P.; Gobec, S. Structure-based development of nitroxoline derivatives as potential multifunctional anti-Alzheimer agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2015**, 23, 4442. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>96</sup> Wang, X. Q.; Xia, C. L.; Chen, S. B.; Tan, J. H.; Ou, T. M.; Huang, S. L.; Li, D.; Gu, L. Q.; Huang, Z. S. Design, synthesis, and biological evaluation of 2-arylethenylquinoline derivatives as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 89, 349. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>97</sup> Martins, C.; Carreiras, M. C.; León, R.; de los Ríos, C.; Bartolini, M.; Andrisano, V.; Iriepa, I.; Moraleda, I.; Gálvez, E.; García, M.; Egea, J.; Samadi, A.; Chioua, M.; Marco-Contelles, J. Synthesis and biological assessment of diversely substituted furo[2,3-b]quinolin-4-amine and pyrrolo[2,3-b]quinolin-4-amine derivatives, as novel tacrine analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, 46, 6119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>98</sup> Chen, Y.; Sun, J.; Huang, Z. NO-donating tacrine derivatives as potential butyrylcholinesterase inhibitors with vasorelaxation activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2013**, 23, 3162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>99</sup> Fang, L.; Kraus, B.; Lehmann, J.; Heilmann, J.; Zhang, Y.; Decker, M. Design and synthesis of tacrine-ferulic acid hybrids as multi-potent anti-Alzheimer drug candidates. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2008**, 18, 2905. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>100</sup> Benchekroun, M.; Bartolini, M.; Egea, J. Novel tacrine-grafted Ugi adducts as multipotent anti-Alzheimer drugs: a synthetic renewal in tacrine-ferulic acid hybrids. *ChemMedChem* **2015**, 10, 523. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>101</sup> Dömling, A.; Wang, W.; Wang, K. Chemistry and biology of multicomponent reactions. *Chemical Reviews* **2012**, 112, 3083. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>102</sup> Lu, C.; Zhou, Q.; Yan, J.; Du, Z.; Huang, L.; Li, X. A novel series of tacrine-selegiline hybrids with cholinesterase and monoamine oxidase inhibition activities for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, 62, 745. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>103</sup> Roldán-Peña, J. M.; Romero-Real, V.; Hicke, J.; Maya, I.; Franconetti, A.; Lagunes, I.; Padrón, J. M.; Petralla, S.; Poeta, E.; Naldi, M.; Bartolini, M.; Monti, B.; Bolognesi, M. L.; López, O.; Fernández-Bolaños, J. G. Tacrine-O-protected phenolics heterodimers as multitarget-directed ligands against Alzheimer's disease: Selective subnanomolar BuChE inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, 181, 111550. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- <sup>104</sup> Spilovska, K.; Korabecny, J.; Kral, J.; Horova, a.; Musilek, K.; Soukup, O.; Drtinova, I.; Gazova, Z.; Siposova, K.; Kuca, K. 7-Methoxytacrine-adamantylamine heterodimers as cholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease treatment—synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies. *Molecules* **2013**, *18*, 2397. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>105</sup> Korabecny, J.; Janovec, L.; Musilek, K.; Zemek, F.; Horova, A.; Nepovimova, E.; Dolezal, R.; Opletalova, V.; Hroudova, J.; Fisar, Z.; Jung, Y. S.; Kuca, K. Comparison of Novel Tacrine and 7-MEOTA Derivatives with Aromatic and Alicyclic Residues: Synthesis, Biological Evaluation and Docking Studies. *Letters in Organic Chemistry* **2013**, *10*, 291. [CrossRef]
- <sup>106</sup> Luo, W.; Li, Y. P.; He, Y.; Huang, S. L.; Tan, J. H.; Ou, T. M.; Li, D.; Gu, L. Q.; Huang, Z. S. Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-multialkoxybenzene hybrids as dual inhibitors for cholinesterases and amyloid beta aggregation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2011**, *19*, 763. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>107</sup> Bozorov, K.; Zhao, J.; Aisa, H. A. 1,2,3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2019**, *27*, 3511. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>108</sup> Xu, M.; Peng, Y.; Zhu, L.; Wang, S.; Ji, J.; Rakesh, K. P. Triazole derivatives as inhibitors of Alzheimer's disease: Current developments and structure-activity relationships. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *180*, 656. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>109</sup> Mehr-un-Nisa; Munawar, M. A.; Chattha, F. A.; Kousar, S.; Munir, J.; Ismail, T.; Ashraf, M.; Khan, M. A. Synthesis of novel triazoles and a tetrazole of escitalopram as cholinesterase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2015**, *23*, 6014. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>110</sup> de Andrade, P.; Mantoani, S.P.; Gonçalves Nunes, P. S. Highly potent and selective aryl-1,2,3-triazolyl benzylpiperidine inhibitors toward butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2019**, *27*, 931. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>111</sup> Marques, C. S.; López, Ó.; Bagetta, D.; Carreiro, E. P.; Petralla, S.; Bartolini, M.; Hoffmann, M.; Alcaro, S.; Monti, B.; Bolognesi, M. L.; Decker, M.; Fernández-Bolaños, J. G.; Burke, A. J. N-1,2,3-triazole-isatin derivatives for cholinesterase and  $\beta$ -amyloid aggregation inhibition: A comprehensive bioassay study. *Bioorganic Chemistry* **2020**, *98*, 103753. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>112</sup> Najafi, Z.; Mahdavi, M.; Saeedi, M.; Karimpour-Razkenari, E.; Asatouri, R.; Vafadarnejad, F.; Moghadam, F. H.; Khanavi, M.; Sharifzadeh, M.; Akbarzadeh, T. Novel tacrine-1,2,3-triazole hybrids: In vitro, in vivo biological evaluation and docking study of cholinesterase inhibitors. *European Journal Medicinal Chemistry* **2017**, *125*, 1200. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>113</sup> Decroocq, C.; Stauffert, F.; Pamlard, O.; Oulaïdi, F.; Gallienne, E.; Martin, O. R.; Guillou, C.; Compain, O. Iminosugars as a new class of cholinesterase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2015**, *25*, 830. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>114</sup> Khan, I.; Bakht, S. M.; Ibrar, A.; Abbas, S.; Hameed, S.; White, J. M.; Rana, U. A.; Zaib, S.; Shahid, M.; Iqbal, J. Exploration of a library of triazolothiadiazole and triazolothiadiazine compounds as a highly potente and selective family of cholinesterase and monoamine oxidase inhibitors: design, synthesis, Xray diffraction analysis and molecular docking studies. *RSC Advances* **2015**, *5*, 21249. [Crossref]
- <sup>115</sup> Santos, S. N.; Souza, G. A.; Pereira, T. M.; Franco, D. P.; Del Cistia, C. N.; Sant'Anna, C. M. R.; Lacerda, R. B.; Kummerle, A. E. Regioselective microwave synthesis and derivatization of 1,5-diaryl-3-amino-1,2,4-triazoles and a study of their cholinesterase inhibition properties. *RSC Advances* **2019**, *9*, 20356 [CrossRef]
- <sup>116</sup> Takahashi, J.; Hijikuro, I.; Kihara, T.; Muruges, M. G.; Fuse, S.; Tsumura, Y.; Akaike, A.; Niidome, T.; Takahashi, T.; Sugimoto, H. Design, synthesis and evaluation of carbamate-modified (-)-N(1)-phenethylmorphysostigmine derivatives as selective butyrylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 1721. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>117</sup> Yerdelen, K. O.; Tosun, E.; Synthesis, docking and biological evaluation of oxamide and fumaramide analogs as potential AChE and BuChE inhibitors. *Medicinal Chemistry Research* **2015**, *24*, 588. [CrossRef]
- <sup>118</sup> Makhaeva, G. F.; Boltneva, N. P.; Lushchekina, S. V.; Rudakova, E. V.; Serebryakova, O. G.; Kulikova, L. N.; Beloglazkin, A. A.; Borisov, E. S.; Richardson, R. J. Synthesis, molecular docking, and biological activity of 2-vinyl chromones: Toward selective butyrylcholinesterase inhibitors for potential Alzheimer's disease therapeutics. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2018**, *26*, 4716. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>119</sup> Jiang, C. S.; Ge, Y. X.; Cheng, Z. Q.; Wang, Y. Y.; Tao, H. R.; Zhu, K.; Zhang, H. Discovery of New Selective Butyrylcholinesterase (BChE) Inhibitors with Anti- $A\beta$  Aggregation Activity: Structure-Based Virtual Screening, Hit Optimization and Biological Evaluation. *Molecules* **2019**, *24*, 2568. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>120</sup> Wichur, T.; Więckowska, A.; Więckowski, K.; Godyń, J.; Jończyk, J.; Valdivieso, A. D. R.; Panek, D.; Pasięka, A.; Sabaté, R.; Knez, D.; Gobec, S.; Malawska, B. 1-Benzylpyrrolidine-3-amine-based BuChE inhibitors with anti-aggregating, antioxidant and metal-chelating properties as multifunctional agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *187*, 111916. [CrossRef] [PubMed]

- <sup>121</sup> Košak, U.; Brus, B.; Knez, D.; Šink, R.; Žakelj, S.; Trontelj, J.; Pišlar, A.; Šlenc, J.; Gobec, M.; Živin, M.; Tratnjek, L.; Perše, M.; Sałat, K.; Podkowa, A.; Filipek, B.; Nachon, F.; Brazzolotto, X.; Więckowska, A.; Malawska, B.; Stojan, J.; Raščan, I. M.; Kos, J.; Coquelle, N.; Colletier, J. P.; Gobec, S. Development of an in-vivo active reversible butyrylcholinesterase inhibitor. *Scientific Reports* **2016**, *6*, 39495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>122</sup> Košak, U.; Brus, B.; Knez, D.; Žakelj, S.; Trontelj, J.; Pišlar, A.; Sink, R.; Jukic, M.; Zivin, M.; Podkowa, A.; Nachon, F.; Brazzolotto, X.; Stojan, J.; Kos, J.; Coquelle, N.; Sałat, K.; Colletier, J. P.; Gobec, S. The Magic of Crystal Structure-Based Inhibitor Optimization: Development of a Butyrylcholinesterase Inhibitor with Picomolar Affinity and in Vivo Activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **2018**, *61*, 119. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>123</sup> Kim, J. Y.; Lee, W. S.; Kim, Y. S.; Curtis-Long, M. J.; Lee, B. W.; Ryu, Y. B.; Park, K. H. Isolation of cholinesterase-inhibiting flavonoids from *Morus lhou*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2011**, *59*, 4589. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>124</sup> Macabeo, A. P.; Vidar, W. S.; Chen, X.; Decker, M.; Heilmann, J.; Wan, B.; Franzblau, S. G.; Galvez, E. V.; Aguinaldo, M. A. M.; Cordell, G. A. Mycobacterium tuberculosis and cholinesterase inhibitors from *Voacanga globosa*. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *46*, 3118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>125</sup> Jamila, N.; Yeong, K. K.; Murugaiyah, V.; Atlas, A.; Khan, I.; Khan, N.; Khan, S. N.; Khairuddean, M.; Osman, H. Molecular docking studies and in vitro cholinesterase enzyme inhibitory activities of chemical constituents of *Garcinia hombroniana*. *Natural Product Research* **2015**, *29*, 86. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>126</sup> Cho, J. K.; Ryu, Y. B.; Curtis-Long, M. J.; Ryu, H. W.; Yuk, H. J.; Kim, D. W.; Kim, H. J.; Lee, W. S.; Park, K. W. Cholinesterase inhibitory effects of geranylated flavonoids from *Paulownia tomentosa* fruits [published correction appears in *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2012**, *20*, 4882. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- <sup>127</sup> Seong, S. H.; Há, M. T.; Min, B. S.; Jung, H. A.; Choi, J. S. Moracin derivatives from *Morus Radix* as dual BACE1 and cholinesterase inhibitors with antioxidant and anti-glycation capacities. *Life Sciences* **2018**, *210*, 20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]