

Artigo

Aplicações Recentes da Abordagem de Fármacos Multialvo para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Dias, K. S. T.; de Paula, C. T.; Riquiel, M. M.; Lago, S. T.; Costa, K. C. M.; Vaz, S. M.; Machado, R. P.; Lima, L. M. S.; Viegas Junior, C.*

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (2), 609-648. Data de publicação na Web: 26 de janeiro de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

Recent Applications of the Multi-Target Directed Ligands Approach for the Treatment of Alzheimer's Disease

Abstract: In the last years, Medicinal Chemistry is tracking down for novel tools and alternatives capable to bring to light better agility, safety and a more efficient address in the design and prospection of drug candidates. In this context, strategies for drug discovery focusing the development of ligands that act on specific target have been discussed, considering that they have limited application on multifactorial diseases, where a set of biochemical events and protein targets are involved. During the last decade, a novel polypharmacology based approach has emerged for planning ligands, aiming the discovery of chemical entities capable to act simultaneously on multiple molecular targets. Since 2005, the literature has reported many studies that use this innovative strategy for drug design against Alzheimer's disease (AD). AD is a neurodegenerative illness, characterized by a set of interconnected events involving intra and extracellular protein fragment deposits, the onset of a complex neuroinflammatory process, mitochondrial dysfunction, apoptosis and neuronal death. As a consequence of the disease progress, the patient is affected by memory and cholinergic deficits, motor and functional impairment, and death. In this brief review, our goal was to report the most recent advances (2013-2014) on medicinal chemistry for the design and discovery of novel multi-target drug candidate prototypes potentially useful for AD treatment. This work is complementary to another review recently published by our group covering the early 2005-2012 period. In most of the works discussed herein, the commercial drugs rivastigmine, tacrina, donepezil and galanthamine have been used as models of acetylcholinesterase inhibitors for the design of novel molecular hybrids with multiple action profile. In other cases, natural products such as curcumine, resveratrol, berberine and quercetin have been elected due to their neuroprotective, antiapoptotic, anti-inflammatory and antioxidant characteristics for planning new chemical entities with innovative properties and therapeutic potential for a more effective AD treatment.

Keywords: Multi-Target Directed Ligands; Symbiotic Drugs; Alzheimer's Disease; Neurodegenerative Diseases; Rational Drug Design; Polypharmacology.

Resumo

Nos últimos anos, a Química Medicinal vem buscando novas alternativas e ferramentas capazes de trazer maior agilidade, segurança e um direcionamento mais eficiente no planejamento e prospecção de candidatos a fármacos. Neste contexto, estratégias de descoberta de fármacos focando o desenvolvimento de ligantes que atuem sobre alvos específicos vêm sendo rediscutidas, uma vez que têm aplicação limitada em doenças multifatoriais, onde um conjunto de eventos bioquímicos e alvos proteicos estão envolvidos. Na última década surge uma nova abordagem no planejamento de ligantes baseada na polifarmacologia, visando à descoberta de entidades químicas capazes de atuar em múltiplos alvos simultaneamente. Desde 2005, a literatura vem relatando uma série de trabalhos que utilizam essa estratégia inovadora para o planejamento de fármacos contra a Doença de Alzheimer (DA). A DA é uma doença neurodegenerativa, caracterizada por uma série de eventos interconectados envolvendo a deposição intra e extracelular de fragmentos proteicos, a instalação de um complexo processo neuro-inflamatório, disfunção mitocondrial, apoptose e morte neuronal. Como consequência da evolução da doença, o paciente passa por déficits de memória e colinérgico, passando a incapacidade motora, funcional e morte. Nesta breve revisão, tivemos o objetivo de apresentar os mais recentes avanços (2013-2014) da Química Medicinal no planejamento e descoberta de novos candidatos a protótipos de fármacos multialvo potencialmente úteis ao tratamento da DA. Este trabalho é um complemento a outro artigo de revisão, recentemente publicado por nosso grupo, que cobre o período anterior de 2005-2012. Na maioria dos trabalhos discutidos aqui, a rivastigmina, tacrina, donepezil e galantamina têm sido utilizados como modelos de inibidores de acetilcolinesterase para o planejamento de novos híbridos moleculares com perfil de ação múltiplo. Em outros casos, produtos naturais como a curcumina, resveratrol, berberina e quercetina têm sido eleitos por suas características neuroprotetoras, antiapoptótica, anti-inflamatória e antioxidante para o desenho de novas entidades químicas com propriedades inovadoras e com potencial terapêutico para o tratamento mais eficiente da DA.

Palavras-chave: Fármacos multialvo; fármacos simbióticos; Doença de Alzheimer; doenças neurodegenerativas; planejamento racional de fármacos; polifarmacologia.

* Universidade Federal de Alfenas, Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, CEP 37130-000, Alfenas-MG, Brasil.

cvviegas@gmail.com; claudio.viegas@unifal-mg.edu.br

DOI: [10.5935/1984-6835.20150027](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150027)

Aplicações Recentes da Abordagem de Fármacos Multialvo para o Tratamento da Doença de Alzheimer

Kris Simone T. Dias,^{a,b} Cynthia T. de Paula,^a Mariana M. Riquiel,^a Samara T. L. do Lago,^a Karla Cristinne M. Costa,^a Sarah M. Vaz,^a Rafael P. Machado,^a Laís M. S. de Lima,^a Claudio Viegas Jr.^{a,b,*}

^a Universidade Federal de Alfenas, Laboratório de Fitoquímica e Química Medicinal, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, CEP 37130-000, Alfenas-MG, Brasil.

^b Universidade Federal de Alfenas, Programa de Pós-Graduação em Química, CEP 37130-000, Alfenas-MG, Brasil.

* cvjviegas@gmail.com; claudio.viegas@unifal-mg.edu.br

Recebido em 25 de janeiro de 2015. Aceito para publicação em 25 de janeiro de 2015

1. Introdução
2. Fisiopatologia da DA
3. Terapêutica atual e estratégias de tratamento da DA
4. Fármacos Multialvo: Uma nova estratégia à terapêutica da DA
5. Recentes avanços no planejamento de fármacos multialvo contra a DA
6. Conclusões

1. Introdução

A Química Medicinal moderna vem experimentando sucessivos desafios e mudanças de concepção ao longo do seu desenvolvimento. O notável avanço tecnológico e de conhecimento básico que norteou todas as áreas da ciência, especialmente a biologia molecular, a medicina, a farmacologia e a química farmacêutica medicinal, levou à elucidação de diversos mecanismos fisiológicos e patológicos, contribuindo decisivamente ao melhor entendimento dos sistemas vivos, de sua fisiologia, dos mecanismos moleculares associados à fisiopatologia e à epigenética de

doenças. Esses aspectos foram e são os principais fatores de sucesso da terapêutica moderna, pavimentando as diversas estratégias de planejamento racional de novos fármacos e estratégias terapêuticas.

Entretanto, muitos desafios ainda se impõem, sobretudo com o avanço da resistência dos microrganismos aos quimioterápicos atuais, além de doenças genéticas e outras que tem na longevidade e nos hábitos modernos seus maiores fatores de risco, como a hipertensão, cardiopatias, distúrbios neurológicos, inflamação crônica, disfunções imunológicas, metabólicas e doenças neurodegenerativas.¹⁻³ Adicionalmente, uma crise de criatividade e inventividade parece estar assolando a

Indústria Farmacêutica, visto pelo declínio de novos registros e fármacos radicalmente inovadores, aprovados e lançados no mercado mundial na última década. Em contraponto a esta crise de inovação e produtividade, a literatura é vasta em informações de como a Indústria Farmacêutica mundial, assombrada pela queda de patentes de “blockbusters”, tem se valido de estratégias mercadológicas pouco impactantes. Tal fato pode ser observado pelo avanço na produção de fármacos “Me-too”, dos investimentos em medicamentos genéricos ou combinações de fármacos, a despeito do crescente investimento destinado à pesquisa e ao desenvolvimento.⁴⁻¹¹

As doenças neurodegenerativas estão dentre as maiores causas de incapacidade e mortalidade atualmente, ocupando papel de destaque dentre os Químicos Medicinais, seja na academia ou na indústria farmacêutica. Dentre as principais neuropatologias degenerativas estão a doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica, doença de Huntington, miastenia gravis e doença de Alzheimer.¹²⁻¹⁷

Com o aumento da expectativa média de vida da população mundial nas últimas décadas, a Doença de Alzheimer (DA) tem atraído grande atenção, principalmente nos países mais desenvolvidos, por ser uma doença neurodegenerativa grave, progressiva, incapacitante e, até o momento, sem cura.¹⁸ A idade é seu principal fator de risco, com incidência de 0,7 % entre indivíduos com 60-65 anos de idade e de cerca de 40 % nos grupos etários acima dos 90 anos.¹⁹ Nos Estados Unidos, aproximadamente 5,4 milhões de pessoas eram portadoras de DA em 2010, sendo 5,2 milhões acima dos 65 anos, chegando a 18 milhões em todo o mundo.²⁰ Estimativas apontam para um crescimento epidêmico da DA, podendo chegar a 25 milhões em 2050, se uma cura não for descoberta. Diante deste cenário, a DA está entre as doenças de maior preocupação dos sistemas públicos de saúde, uma vez que o paciente perde gradualmente suas funções motoras e psicológicas

evoluindo para invalidez.³ A Organização das Nações Unidas (ONU) considera que a “era do envelhecimento” teve início em 1975 e que essa tendência poderá se estender até 2025.^{21,22} Este fenômeno de envelhecimento populacional é também verificado no Brasil, principalmente nas últimas décadas, com alterações marcantes na pirâmide etária. Os dados mais recentes indicam que em 2060 a população brasileira com faixa etária acima de 60 anos deve alcançar a marca de 58,4 milhões.²³

2. Fisiopatologia da DA

A Doença de Alzheimer é caracterizada pela diminuição rápida e progressiva da memória recente, acompanhada de declínio severo da cognição, da capacidade motora, intelectual e de julgamento. Este quadro sintomático está associado à degradação de neurônios colinérgicos em muitas áreas do SNC, além de dramática redução de neurotransmissores²⁴ e alterações comportamentais que evoluem à demência e morte.²⁵⁻²⁷ O desenvolvimento e evolução dos estágios da DA estão relacionados ao envelhecimento cerebral e à perda localizada de neurônios, principalmente do hipocampo e do proencéfalo basal.²⁸ As causas da DA não são completamente esclarecidas, mas há um consenso de que a instalação da doença está relacionada ao depósito de placas senis e de emaranhados neurofibrilares no cérebro, acompanhados por perda massiva de neurônios (Figura 1).²⁹ Fragmentos insolúveis do peptídeo β -amiloide (β A) são os principais componentes das placas senis^{30,31} e são produzidos pela ação das secretases (endoproteases) da membrana glicoproteica, a partir da proteína precursora amiloide (APP).³²⁻³⁴ A formação de agregados destes peptídeos geram estruturas fibrilares não covalentes insolúveis que depositam-se no ambiente extracelular do tecido neuronal, colaborando para a instalação de um processo neurotóxico e neuroinflamatório.³⁵⁻³⁷ Os emaranhados neurofibrilares são formados pelo acúmulo intracelular da

proteína Tau, que é parte constitutiva dos microtúbulos dos axônios, estruturas responsáveis pela formação e manutenção dos contatos interneuronais (Figura 1). Quando sujeita a um processo anormal de hiperfosforilação, a proteína Tau tem sua estrutura modificada, acarretando na desestabilização e desintegração dos microtúbulos, liberando fragmentos insolúveis que se enovelam e se depositam.³⁸

A DA também está relacionada à redução nas taxas de acetilcolina (ACh) dentre outros neurotransmissores. Alguns estudos apontam para uma redução significativa no número de receptores nicotínicos e muscarínicos M_2 de ACh pré-sinápticos, preservando os receptores muscarínicos M_1 e M_2 pós-sinápticos. Os núcleos basais de Meynert são estruturas responsáveis pela produção da enzima colina acetiltransferase (CAT) que, por sua vez, é responsável pela catálise na síntese de ACh. A atrofia dos núcleos de Meynert ocasiona uma diminuição expressiva na produção de CAT e a consequente diminuição nos níveis de ACh na fenda sináptica.³⁹⁻⁴⁰ Outro alvo terapêutico enzimático, descrito em vários trabalhos na literatura, é a butirilcolinesterase (BuChE). Esta colinesterase está presente principalmente nas células gliais, no tecido endotelial e nos neurônios, atuando juntamente com a AChE na modulação dos níveis de ACh.^{41,42}

A relevância da neuroinflamação na patogênese da DA tem sido demonstrada na literatura em importantes trabalhos de revisão.^{17,43-46} Alterações inflamatórias são observadas no cérebro, principalmente nas regiões com depósito amiloide. Essas regiões são ricas em células microgлияis, que representam a primeira linha de defesa contra patógenos invasores, servindo também de sensores especiais para ocorrência de injúria tecidual no cérebro (Figura 1).^{17,45,47-50} Numa situação patológica, como a neurodegeneração, estas células são ativadas, migram e fagocitam células mortas ou danificadas, promovendo a eliminação destes fragmentos celulares da área afetada,

de modo semelhante ao que ocorre nos macrófagos fagocíticos no sistema imune periférico.^{51,52,53} Uma vez ativada, a microglia libera uma série de mediadores pró-inflamatórios, incluindo citocinas, fatores complemento, várias espécies radiculares, produtos secretórios tóxicos e NO, todos capazes de contribuir para disfunção e morte neuronal.^{17,45,46,50} Tanto a ativação da microglia como o recrutamento de astrócitos, podem ocorrer nos primeiros estágios de desregulação fisiológica e instalação da DA, antecipando a deposição de βA .

O caráter multifatorial da resposta inflamatória é caracterizado pela ocorrência dessa grande diversidade de mediadores pró- e anti-inflamatórios, sendo muitos destes responsáveis pela promoção de mecanismos neurodegenerativos, enquanto outros podem limitar o avanço da inflamação ou exercer efeitos neurotróficos benéficos. Portanto, não será um único mediador, mas um conjunto de agentes inflamatórios que determinarão a prevalência de efeitos deletérios ou benéficos.^{43,46} Dentre os principais mediadores inflamatórios relacionados à DA, o sistema complemento parece ser essencial à redução de acúmulos ou à remoção de placas senis induzidas por βA . Estudos *in vivo* sugerem que C1q exerce um efeito deletério à integridade neuronal, provavelmente pela ativação da via clássica da cascata complemento e do aumento da inflamação.^{43,46} A produção de quimiocinas no cérebro com DA tem sido observada em maior expressão e está relacionada à sua função regulatória na migração microglial e no recrutamento de astrócitos para a área inflamada e, portanto, na extensão da inflamação local.^{43,46,54,55} (Figura 1).

As citocinas associadas à DA incluem várias interleucinas, TNF- α , TGF- β , entre outros. Estes mediadores são secretados pelas células microgлияis e astrócitos quando migram e fagocitam as placas neuríticas de βA , sendo responsáveis pela regulação da intensidade e duração da resposta imune. Nos astrócitos, a IL-1 induz a produção de IL-6, M-CSF e estimula a atividade de iNOS,

além de aumentar a atividade de AChE neuronal, a ativação microglial e a produção adicional de IL-1, com incremento da ativação de astrócitos e expressão da citocina S100 β , levando à autopropagação do ciclo inflamatório.^{47,56,57} A IL-6 promove astrogliose, ativação de microglia e estimula a produção de proteínas de fase aguda, além de poder estar envolvida em processos de memória.⁵⁸ Já o TNF- α apresenta tanto efeitos pró-apoptóticos como antiapoptóticos, sendo responsável pela maioria das atividades neurotóxicas secretadas pela microglia e monócitos.⁵² Estudos *in vitro* mostram que o mecanismo de regulação da COX-2 difere dos sistemas celulares periféricos e no SNC.⁴⁶

Acredita-se que o principal produto enzimático da COX-2 possa ser a prostaglandina E₂ (PGE₂), que por sua vez, pode induzir a produção de COX-2 na microglia, podendo explicar a amplificação desta enzima nestas e em outras células.⁴⁵ Interessante notar que a COX-1 é proeminentemente expressa na microglia de cérebros humanos saudáveis, parecendo estar pouco elevada em cérebros com DA.⁵⁹ Apesar da contribuição desta isoforma à inflamação na DA não estar comprovada, há vários relatos na literatura de sua relação com a produção de PGE₂ em vários modelos experimentais de injúria aguda cerebral.^{17,45,53}

As células microgliais, macrófagos e astrócitos expressam rapidamente a iNOS quando submetidos à estimulação por LPS ou citocinas, levando à produção de NO em altas concentrações durante longos períodos, por via independente de Ca²⁺. O papel da iNOS nos mecanismos inflamatórios associados à DA foi evidenciado pelo aumento da

presença de nitrotirosina em cérebros com DA, indicando exposição e dano oxidativo por peroxinitrito, um produto intermediário da síntese de NO, podendo explicar outra via de dano neuronal e tecidual.^{60,61} O estresse oxidativo tem sido apontado como outro fator associado ao desenvolvimento precoce da DA e sustenta novas abordagens para a busca por novos fármacos e terapias alternativas no combate ao dano oxidativo neuronal.^{17,62} Aparentemente, ao menos parte do mecanismo oxidativo é promovido pela liberação de fragmentos peptídicos de β A por ação de β - e γ -secretases.⁴⁴ O conjunto destes peptídeos pode conferir dano oxidativo aos neurônios e células gliais, iniciando alterações na plasticidade sináptica que antecede à formação dos depósitos insolúveis e culminam com a formação de placas neuríticas.⁶²⁻⁶⁸

A mitocôndria exerce papel fundamental no controle da sobrevivência e morte celulares, migrando de células normais do corpo para os axônios, dentritos e sinapses, suprimindo de ATP as terminações nervosas. Na DA são observadas disfunções mitocondriais, sendo mais recentemente reconhecidas como um fator importante na patogênese na doença, principalmente, quando relacionadas à exacerbação na produção de radicais livres. Com o avanço da idade e na progressão da DA ocorrem acúmulo de β A na região de sinapses e em mitocôndrias sinápticas, influenciando na atividade das áreas afetadas, na liberação de neurotransmissores e na produção de ATP e, em última análise contribuindo para as dispersões neuronais por estresse oxidativo, neurodegeneração e apoptose.^{12,69,70}

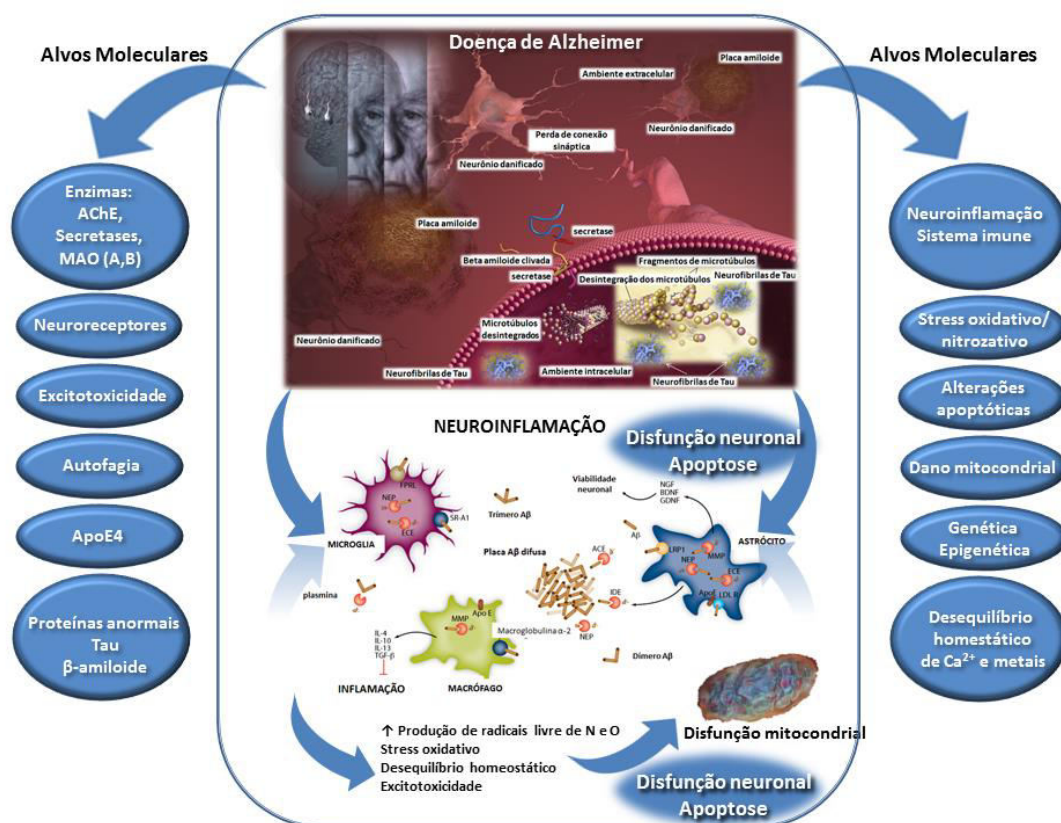


Figura 1. Aspectos multifatoriais associados à doença de Alzheimer e possíveis alvos moleculares para o desenho de novos fármacos (adaptado das refs. 12, 116 e figuras da internet)

3. Terapêutica atual e estratégias de tratamento da DA

A terapêutica atual da DA é apenas sintomática, buscando melhorar a cognição, retardar a evolução da doença e atenuar os sintomas e as alterações comportamentais. A principal estratégia de tratamento, responsável pelo desenvolvimento da maioria dos fármacos disponíveis é conhecida como “Hipótese Colinérgica”. Os fármacos disponíveis atualmente, além de outros vários em estágios pré-clínicos foram inspirados nessa hipótese e visam retardar ou amenizar o déficit colinérgico pela inibição parcial da atividade da AChE.^{17,71-73} Entretanto, estas substâncias restringem-se ao restabelecimento da função colinérgica, aliviando os sintomas da doença, retardando sua evolução e garantindo uma melhor

qualidade de vida ao paciente, sem, contudo, oferecer a cura efetiva.

Outra premissa terapêutica baseia-se na “Hipótese Amiloide”, surgida em 1992. Esta estratégia de intervenção tem como alvo a formação dos fragmentos insolúveis de β A e, por consequência, a formação e deposição das placas amiloides relacionadas à instalação e avanço da doença, na morte celular e no processo neuro-inflamatório da DA. A estreita relação entre a severidade da doença e a densidade das placas amiloides no cérebro humano, fazem da busca por substâncias que bloqueiem ou revertam a formação destes agregados proteicos, uma área de grande interesse atual.^{12,73-75}

Atualmente, existem somente quatro fármacos aprovados e disponíveis comercialmente para o tratamento da DA: galantamina (Reminyl®, 1), rivastigmina

(Exelon®, **2**), memantina (Namenda®, **3**) e donepezil (Aricept®, **4**, Figura 2).

O primeiro fármaco comercial para o tratamento da DA foi a tacrina, aprovada em 1993. Seu mecanismo de ação, baseado na inibição dupla da AChE e da BuChE, permitiu sua indicação para pacientes com DA leve a moderada. Porém, devido à toxicidade

hepática e à baixa biodisponibilidade, passou a ser restrita a pacientes que não respondem ou toleram os demais medicamentos. Apesar disso, a literatura é rica em trabalhos que utilizam a estrutura da tacrina como modelo no planejamento de análogos ativos, com diferentes índices de seletividade e menor toxicidade.⁷⁶⁻⁹⁹

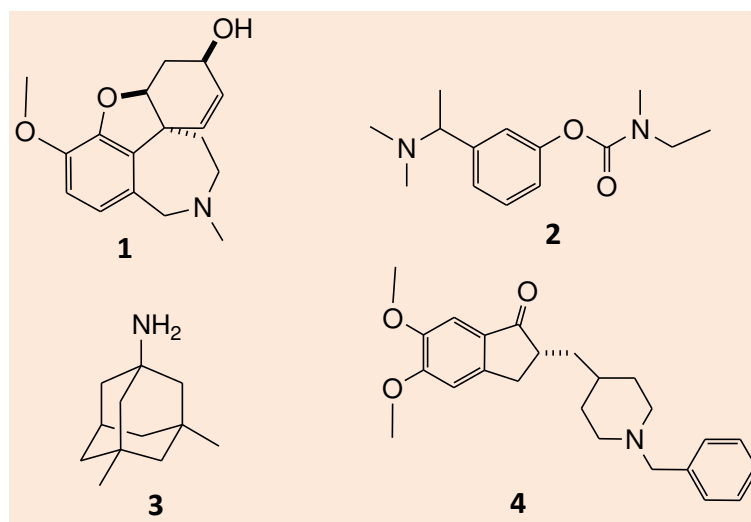


Figura 2. Fármacos atualmente aprovados e disponíveis para tratamento da DA

A galantamina (**1**, Figura 2) é um produto natural que atua como agonista de receptores nicotínicos e tem sido bastante estudada como protótipo para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos anticolinesterásicos.¹⁰⁰ Atua por um mecanismo de ação duplo, inibindo a AChE e modulando o receptor nicotínico pré-sináptico, promovendo uma maior liberação de ACh na fenda sináptica.¹⁰¹ A rivastigmina (**2**) é um inibidor reversível de colinesterases capaz de inibir tanto a AChE como a BuChE, sendo indicada para o tratamento da DA leve a moderada.¹⁰²⁻¹⁰⁵

A memantina (**3**), aprovada pelo FDA em 2006, é o único fármaco que não atua na inibição da AChE, sendo um antagonista de receptores de glutamato do tipo *N*-metil-D-aspartato (NMDA), evitando um influxo excessivo de cálcio (Ca^{2+}).^{14,106} Nas sinapses, após o estímulo do neurônio pré-sináptico, ocorre a liberação de glutamato, que liga-se aos receptores NMDA e estimula a entrada

de íons de Ca^{2+} no citoplasma do neurônio. O influxo de Ca^{2+} induz a produção de nNOS (NO sintase neuronal) que, por sua vez, leva à liberação de óxido nítrico (NO) nos neurônios pós-sinápticos, funcionando como mensageiro para a pré-sinapse e reiniciando todo o processo.¹⁰⁶ Devido ao seu mecanismo de ação diferenciado, a memantina vem sendo indicada para o tratamento de estágios moderados a severos da DA.^{14,39}

O donepezil (**4**), também conhecido como E2020, surgiu na década de 80 como um inibidor reversível e não-competitivo da AChE^{91,107-109} e rapidamente ganhou destaque por ser muito menos tóxico que a tacrina, e 1250 vezes mais seletivo para AChE do que para BuChE.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Quanto aos aspectos farmacodinâmicos, o donepezil aumenta a disponibilidade de ACh intra-sináptica,¹⁰⁷ com poucos efeitos colaterais.^{111,112} Além disso, o donepezil demonstra boa transposição da barreira hematoencefálica, atingindo concentração cerebral cerca de 7 vezes maior

que no plasma, sendo, portanto, considerado um inibidor de ação central.¹⁰⁹ Em virtude do perfil farmacocinético e da baixa toxicidade, o donepezil vem sendo utilizado como fármaco de primeira escolha no tratamento de pacientes com DA.^{112,113}

4. Fármacos Multialvo: Uma nova estratégia à terapêutica da DA

Nos últimos anos, a Química Medicinal vem buscando novas alternativas e ferramentas capazes de trazer maior agilidade, segurança e direcionamento mais eficiente no planejamento e prospecção de candidatos a fármacos. Neste contexto, estratégias de descoberta de fármacos focando o desenvolvimento de ligantes que atuem sobre alvos específicos vêm sendo rediscutidas, uma vez que têm aplicação limitada em doenças multifatoriais, onde um conjunto de eventos bioquímicos e vários receptores estão envolvidos. A necessidade de contornar as limitações de eficiência e segurança terapêutica vem acarretando mudanças no atual paradigma de “um fármaco-um alvo”, também chamada abordagem reducionista (Figura 3). É inegável que esta estratégia trouxe ao longo do tempo incontáveis sucessos no tratamento de doenças, pavimentando o atual estágio de evolução da terapêutica.^{2,3,12,14,113-118}

A busca por melhores resultados na prática clínica, consequência da ineficiência de alguns tratamentos com fármacos únicos e decisões mercadológicas, levaram ao desenvolvimento de uma nova estratégia terapêutica chamada de polifarmacologia (Figura 3). Essa nova concepção adota o uso de combinações de mais de um fármaco em uma única formulação com composição fixa ou o uso de coquetéis medicamentosos como

alternativas promissoras e adotadas em larga escala atualmente, a exemplo do tratamento da SIDA, alguns tipos de câncer, tuberculose, entre outras doenças infecciosas, hipertensão, dor e inflamação crônica. Mais recentemente, os efeitos deletérios ou ineficazes da administração de múltiplos fármacos em combinação ou associação, devido a perfis farmacocinéticos distintos, toxicidade, solubilidade, biodisponibilidade e custo, fizeram emergir uma nova estratégia que prevê a administração de um único fármaco capaz de ser reconhecido por mais de um alvo. Esta mudança de paradigma na Química Medicinal e no “pensar” o planejamento de novos fármacos teve nas publicações de Morphy e cols.^{115,116} os referenciais que passaram a nortear a busca por um entendimento mais amplo dos sistemas biológicos e de como a interconexão de mecanismos e processos fisiopatológicos poderiam ser tratados como alvos terapêuticos.^{1-3,12,113-119} Esta última estratégia, preconiza a combinação em um único ligante de subunidades estruturais que permitam seu reconhecimento por mais de um biorreceptor, atuando de modo simultâneo em multialvos conexos a uma rede bioquímica, responsável pela fisiopatologia de doenças multifatoriais.¹¹⁴⁻¹¹⁶

Esta nova abordagem, considerando fármacos multifuncionais, ou ligantes dirigidos a vários alvos associados a uma mesma doença (fármacos simbióticos)¹²⁰, vem ganhando especial importância, mudando a concepção de planejamento de novos candidatos a fármacos para doenças neurodegenerativas, como a DA. Estas patologias, apesar de distintas, guardam características comuns como a ocorrência multifatorial de uma série de eventos bioquímicos e fisiológicos associados em cascata, direta ou indiretamente, com um importante quadro inflamatório.^{12,17,119,121-124}

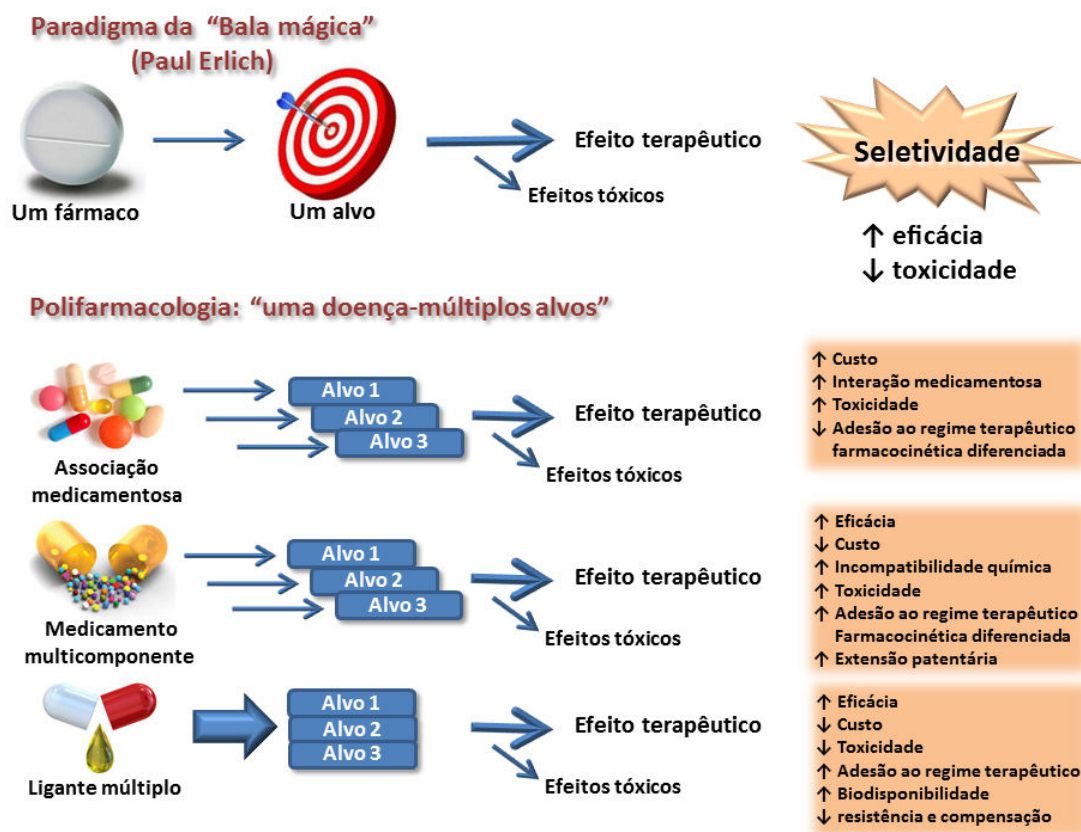


Figura 3. Aspectos conceituais da abordagem reducionista (“bala mágica”) e da polifarmacologia (adaptado das refs. 3, 116 e figuras retiradas da internet)

A hibridação molecular entre subunidades estruturais de diferentes moléculas bioativas, utilizada como uma das principais ferramentas de planejamento estrutural, tem levado à descoberta de inúmeros ligantes, com propriedades múltiplas, que incluem atividade antioxidante, neuroprotetora, quelante de metais, inibitória de colinesterases, anti-amiloide, inibitória de secretases, intercaladora de DNA, indutora de apoptose, inibitória de tirosina quinases e anti-inflamatória, dentre outras. Portanto, um conjunto de alvos terapêuticos já está sendo explorado como possíveis modos de intervenção terapêutica simultânea, buscando aliviar os sintomas e frear o avanço de doenças, como a DA e o câncer, até que uma cura quimioterápica definitiva possa ser realidade.^{114,124-131}

5. Recentes avanços no planejamento de fármacos multialvo contra a DA

Desde 2005, a literatura vem relatando uma série de trabalhos que utilizam essa estratégia inovadora para o planejamento de fármaco para a DA. Fármacos como donepezil, tacrina e rivastigmina têm sido utilizados como modelos estruturais para hibridação molecular com compostos bioativos sintéticos ou naturais, na tentativa de se obter ligantes capazes de modular simultaneamente a atividade de mais de um alvo envolvido na DA.¹²⁰

Baseados nessa estratégia, Mao e colaboradores utilizaram a estrutura da tacrina (**5**) como modelo para o planejamento de uma nova série de compostos híbridos (**7**) baseados na estrutura

do ebselen (**6**, Figura 4). O ebselen é um composto organoselênio conhecido por sua capacidade de mimetizar a classe das glutathiona peroxidases e apresentar atividades antioxidantes e anti-inflamatórias. Diante desses dados, foi sintetizada e avaliada uma série de compostos planejados a partir da hibridação do núcleo farmacofórico do ebselen com a estrutura da tacrina conectados por espaçadores alquílicos. A avaliação biológica revelou que todos os compostos inibiram a atividade da AChE *in vitro*, na faixa nanomolar, sendo que alguns compostos foram mais potentes e mais seletivos para AChE do que a tacrina. O composto **8**, mais ativo da série, apresentou

um perfil adequado para fármaco multialvo, apresentando um comportamento inibitório dual da AChE, capaz de bloquear a autoagregação e a agregação induzida do peptídeo β A, além de apresentar efeitos antagonistas aos receptores NMDA e agir como mediador do estresse oxidativo cerebral. O composto **8** foi submetido a ensaio de hepatotoxicidade em células humanas, cujos resultados mostram que em maiores concentrações o composto **8** exibiu maior viabilidade celular quando comparado com a tacrina. Esses resultados demonstram que além de apresentar um perfil de ação múltiplo, o composto **8** supera o problema de hepatotoxicidade observado com a tacrina.¹³²

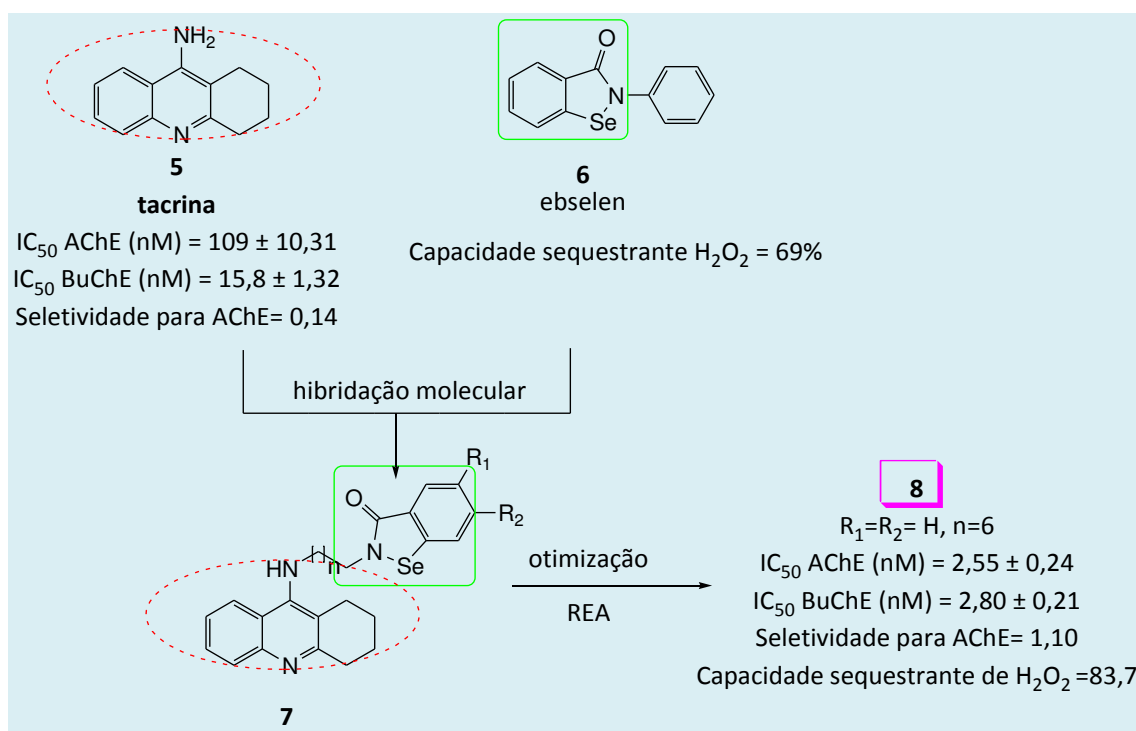


Figura 4. Série **7** de híbridos tacrina-ebselen e o derivado **8**, mais ativo da série

Em outro trabalho foi planejada uma série de híbridos da tacrina com o núcleo carbazol (Figura 5). O núcleo carbazol é um grupo presente em diversos compostos que apresenta propriedades antioxidante e anti-amiloide, dentre eles, estão os produtos naturais como a 7-metóxiheptafilina (**9**) e heptafilina (**10**) isolados de *Clausena harmandiana*. No planejamento destes novos

híbridos, os autores utilizaram a estrutura da tacrina e dos antioxidantes naturais **9** e **10** interligados por espaçadores alqueno diaminas. Todos os compostos se mostraram inibidores potentes e seletivos da AChE com valores de IC₅₀ entre 0,48 e 1,03 μ M. Estudos de modelagem molecular revelaram que os híbridos tacrina-carbazol (**11-13**) interagem simultaneamente com o sítio catalítico e

periférico da AChE, podendo inibir a agregação induzida do peptídeo β A. Os derivados **11** e **13**, que contém substituinte metoxila, apresentaram perfil de ação múltiplo, capazes de sequestrar radicais livres, além de inibirem a AChE e a agregação de β A. Além disso, também foram capazes de reduzir a morte neuronal induzida pelo

estresse oxidativo e pela deposição de β A, exercendo ação neuroprotetora. O derivado mais potente **11** ($IC_{50} \text{ AChE} = 0,48 \mu\text{M}$) foi selecionado para avaliação *in vivo* pelo ensaio de labirinto aquático de Morris e foi capaz de reverter a amnésia induzida por escopolamina em camundongos.¹³³

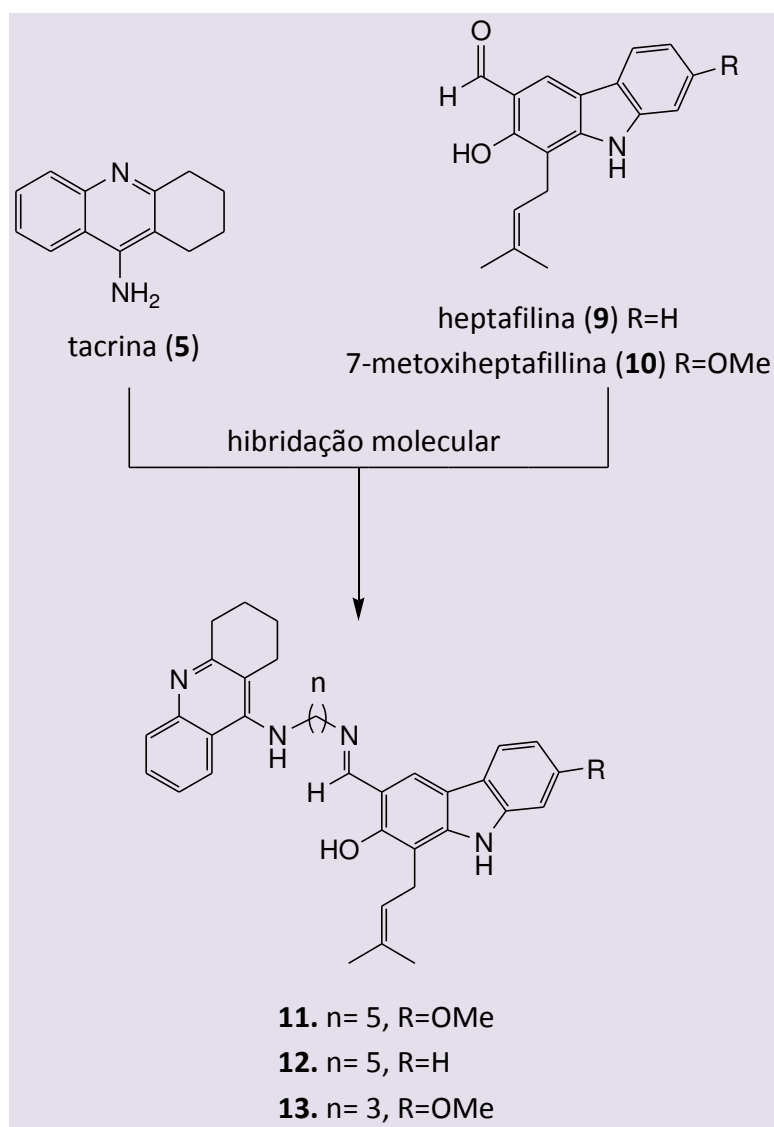


Figura 5. Compostos **11-13** híbridos da tacrina com o núcleo carbazol presente na heptafilina (**9**) e na 7-metoxiheptafilina (**10**)

A tacrina também foi utilizada como modelo para o planejamento de uma nova série de híbridos tacrina-fluorbiprofeno a partir da hibridação da tacrina com o anti-inflamatório não esteroideal fluorbiprofeno (**14**, Figura 6). A estrutura do fluorbiprofeno

foi eleita devido a estudos que mostram sua habilidade em diminuir a produção do peptídeo β A através da modulação alostérica da presenilina 1, maior constituinte do complexo γ -secretase, responsável pela clivagem anormal da PPA. Dentre os 5

compostos sintetizados, **15d** e **15e** foram melhores inibidores de AChE que a tacrina. O composto mais ativo da série (**15d**) atua por um mecanismo de inibição mista, sendo capaz de inibir os sítios ativo e periférico da

AChE. Este novo híbrido tacrina-fluorbipropeno também foi capaz de reduzir em 31% a formação de agregados β A, provavelmente pela inibição da γ -secretase.¹³⁴

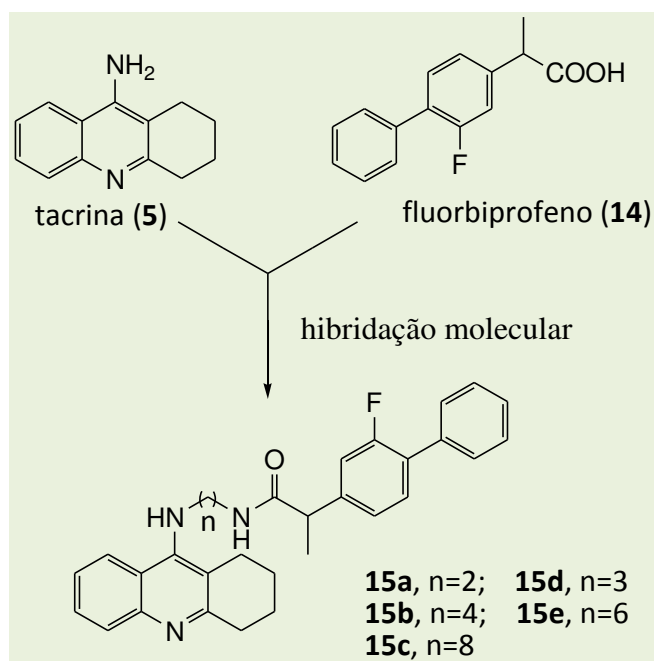


Figura 6. Série de híbridos tacrina-fluorbipropeno (**15a-e**)

O padrão estrutural do donepezil (**4**) também tem sido extensamente utilizado na construção de novos híbridos moleculares com propriedades múltiplas para o tratamento da DA. Um exemplo é o composto ASS234 (**16**) descrito por Bolea e colaboradores (Figura 7). Este composto foi planejado por hibridação do núcleo benzilpiperidina do donepezil com o núcleo indolil-propargilamino do composto FA65 (**17**), um potente inibidor de MAO A e B e com capacidade neuroprotetora.^{135,136} Diversos trabalhos relatam o perfil múltiplo de ASS234, que é capaz de inibir as enzimas AChE, MAO-A e MAO-B, além de ser capaz de interferir no processo de agregação do peptídeo β A. Em um trabalho mais recente,

foi investigado o seu efeito *in vitro* na formação dos oligômeros de β A, na mediação da toxicidade induzida pela β A, na capacidade antioxidante, além de avaliar a permeabilidade cerebral, a fim de verificar sua capacidade em atravessar a barreira hematoencefálica.^{137,138} Os resultados mostram que o composto **16** protege as células de neuroblastos contra a toxicidade mediada por β A, além de inibir o sítio periférico da AChE, acarretando na inibição da autoagregação de β A. Também foi evidenciada sua alta permeabilidade cerebral, sugerindo que possa atingir facilmente o SNC e ser assim um bom candidato para o tratamento de doenças neurodegenerativas.¹³⁹

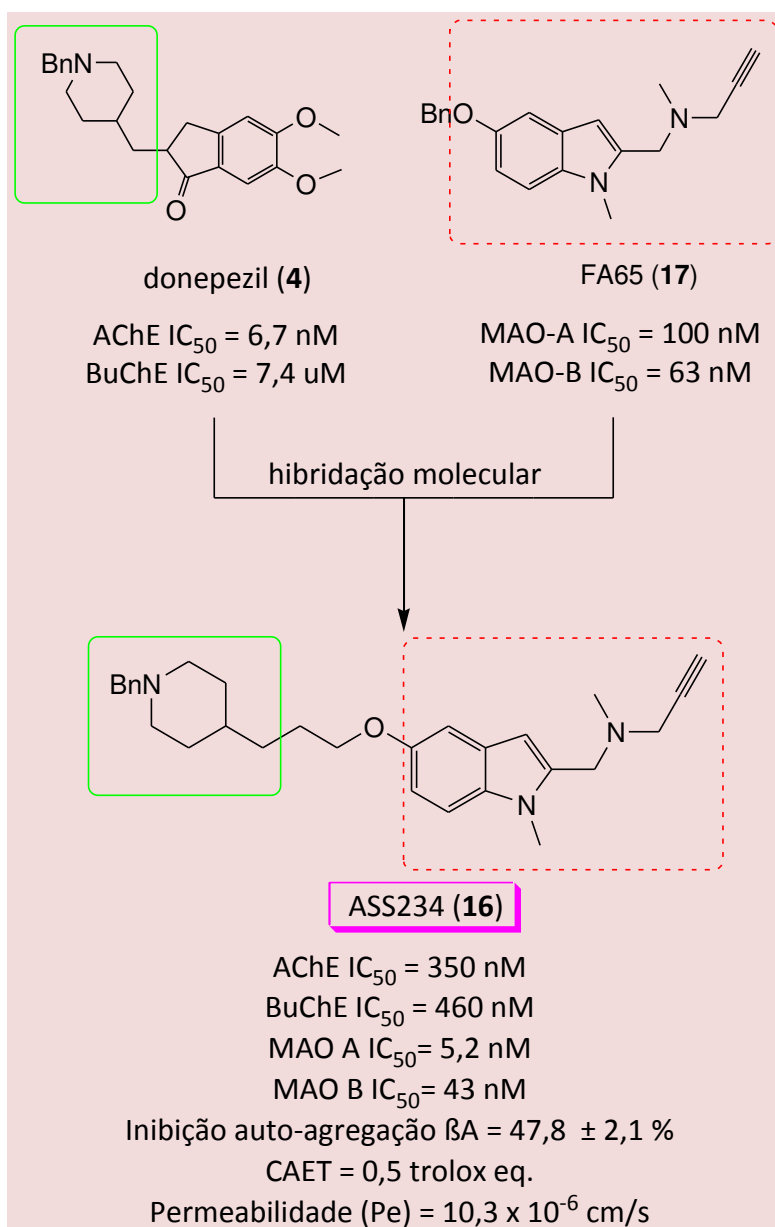


Figura 7. Planejamento do candidato a fármaco multialvo ASS234 (16)

Uma nova família de moléculas multialvo capazes de interagir como inibidores de ChEs e MAOs foi planejada e sintetizada por Aguilera e colaboradores. O planejamento racional do padrão molecular desta nova série de 18 novos compostos também utilizou a estrutura do composto ASS234 (16) como modelo (Figura 8). A investigação da relação estrutura-atividade (REA) foi realizada através da substituição de grupos ligados à subunidade indólica de 16. Foi evidenciado que os derivados contendo o

grupo amino são mais efetivos que os análogos ácidos ou amídicos. O derivado 18, mais ativo da série, apresentou um perfil múltiplo, sendo um potente inibidor de MAOs e ChEs, mais seletivo para MAO A (IC₅₀ = 5,5 ± 1,4 nM) e AChE (IC₅₀ = 190 ± 10 nM). Estudos de modelagem molecular sugeriram que 18 é capaz de interagir com o sítio catalítico e periférico da AChE, sendo, portanto, um outro bom modelo para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos para a DA.¹⁴⁰

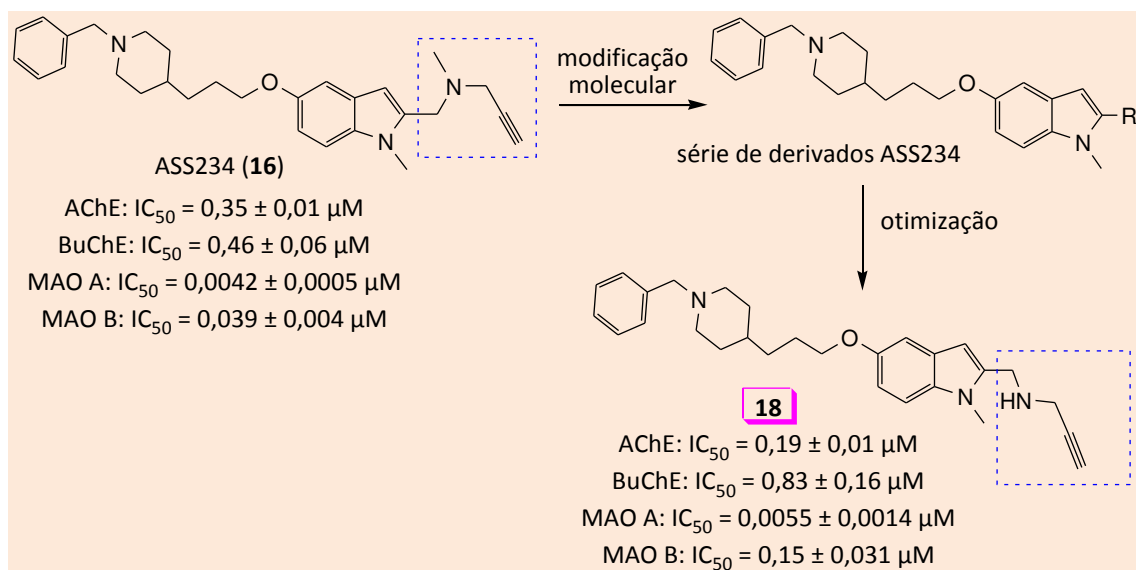


Figura 8. Série de análogos e otimização do composto ASS234 (**16**)

O donepezil também foi utilizado no desenho de 7 novos compostos pela hibridação molecular com o composto M30 (**19**, Figura 9), que possui duas subunidades farmacofóricas, propargilamina e 8-hidróxiquinolina, descritas como responsáveis pelas potentes atividades na inibição de MAOs, neuroproteção e na quelatação de biometais.^{141,142} Os resultados da avaliação biológica mostram que os híbridos donepezil-M30 são potentes inibidores de ChEs e MAOs, porém não são seletivos. Todos os compostos foram capazes de complexar Cu, Zn e Fe, sendo o racemato **20** o mais ativo da série. Os enantiômeros foram avaliados separadamente e não apresentaram diferenças significativas, ambos com bons perfis de inibição de MAOs e ChEs. No ensaio de toxicidade, o composto **20** foi menos tóxico do que o donepezil em concentrações elevadas, enquanto que a baixas concentrações apresentou um perfil de viabilidade celular semelhante. Estudos de docking molecular demonstraram que **20** é capaz de interagir com o sítio ativo e com o sítio periférico da AChE, e que o átomo de

nitrogênio do grupo ciano faz uma importante interação com o grupo hidroxila do resíduo Phe 295, o que justifica ser um inibidor mais potente em relação aos compostos que não apresentavam este grupo auxofórico. O efeito de reversão do processo de amnésia induzida por escopolamina foi avaliado e o composto **20** foi capaz de diminuir significativamente o déficit de aprendizagem.¹⁴³

Ozer e colaboradores descreveram a síntese e avaliação farmacológica de uma nova série (**21**) de inibidores duais para AChE e agregação βA . Os compostos **21a-f** foram planejados a partir dos núcleos 4-benzilpiperidina e 3,4-dimetoxibenzila presentes na estrutura do donepezil, conectados por espaçadores *N*-acilidrazônicos (Figura 10). Os resultados confirmaram a característica dual dos novos análogos do donepezil, capazes de inibir moderadamente a AChE ($62,8 \pm 6,07 - 88,5 \pm 3,61 \mu M$), atuando por um mecanismo de inibição mista, além de serem capazes de inibir a agregação amiloide (60-90%).¹⁴⁴

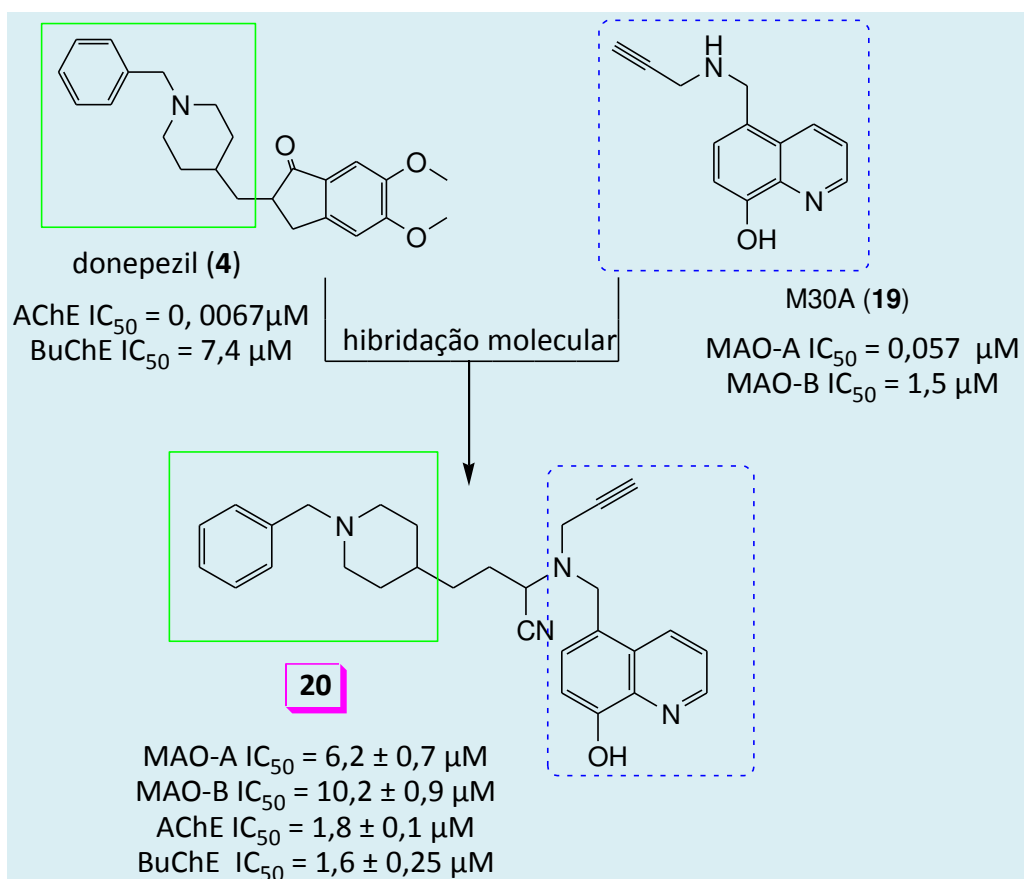


Figura 9. Composto (**20**) mais ativo da série de híbridos donepezil-M30

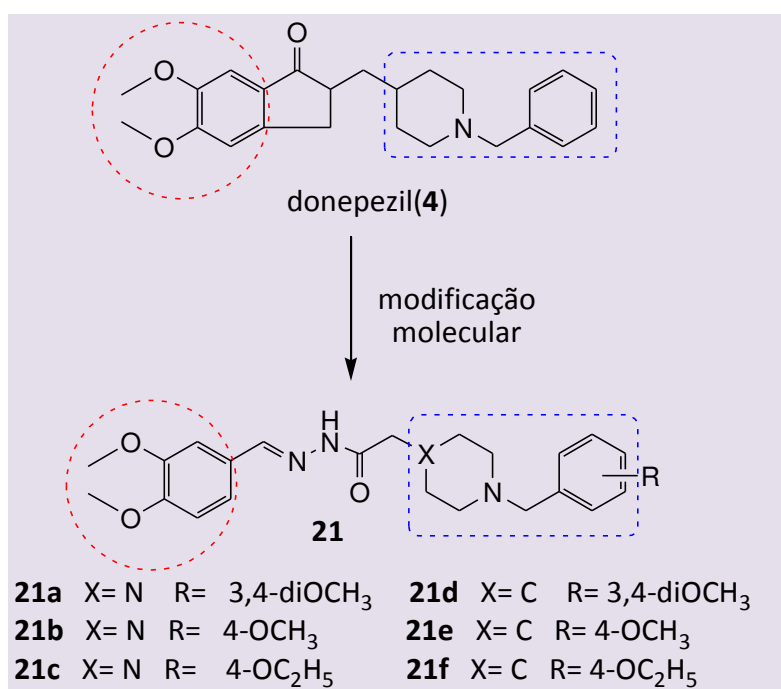


Figura 10. Série de novos análogos acilidrazônicos do donepezil (**21 a-f**) com atividade inibitória de AChE e anti-amiloide

A galantamina (**1**) foi utilizada por Fang e colaboradores no planejamento de uma série de análogos por meio de simplificação molecular (Figura 11). No esqueleto das moléculas-alvo, foram mantidos a subunidade farmacofórica metoxila do anel aromático e um átomo de nitrogênio amínico, capazes de interagir com a AChE através de interações $\pi - \pi$ *stacking* e de hidrogênio, respectivamente. O anel de sete membros da galantamina foi aberto, originando uma cadeia alifática lateral, e o anel de seis membros, contendo um álcool alílico, foi substituído por um anel aromático. Dessa maneira, todos os centros estereogênicos da molécula original foram eliminados, facilitando as estratégias de síntese. Os compostos **22** e **23** foram

identificados como os mais ativos da série, inibindo a AChE (**22**, $IC_{50} = 10,56 \mu M$, **23**, $IC_{50} = 0,18 \mu M$). Considerando que baixas concentrações de NO favorecem o desenvolvimento neuronal, foi realizado o ensaio de Griess para avaliar a capacidade de liberação de NO. Ambos apresentaram capacidade moderada de liberação de NO (4,8% e 6,0%, respectivamente). No ensaio de viabilidade celular, o composto **23**, além de não induzir toxicidade, foi capaz de prevenir a toxicidade causada pelo peptídeo βA . Para galantamina, o mesmo efeito não foi observado. Nos ensaios *in vivo*, tanto **22** como **23** foram hábeis na melhorada capacidade cognitiva dos ratos de maneira mais eficiente que a tacrina e a galantamina, usados como controle positivo.¹⁴⁵

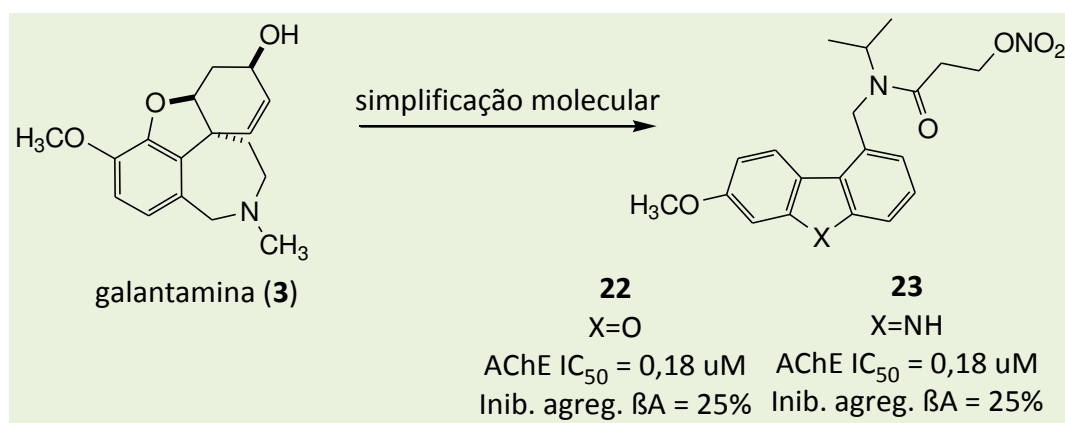


Figura 11. Compostos **22** e **23** planejados por simplificação molecular da galantamina (**3**)

A busca por novos inibidores de MAO-B e AChE levou Misha e colaboradores a planejarem uma nova série de derivados com base na estrutura da iproniazida (**24**), um derivado hidrazínico, tido como o primeiro dos antidepressivos modernos inibidor MAOs (Figura 12).¹⁴⁶ Dentre a série avaliada, o derivado NP-9 (**25**), inibiu seletivamente a MAO-B, além da AChE, a agregação de βA e a citotoxicidade induzida pelo βA . Nos ensaios *in vivo*, foi verificada a capacidade de **25** em reverter os danos neuronais induzidos por βA e escopolamina em camundongos,

indicando que possa ser capaz de recuperar o sistema colinérgico, aumentando a capacidade cognitiva. A redução dos depósitos de placas senis foi avaliada por histologia, nos animais tratados com **25** e donepezil, que evidenciou uma redução de 80% e 60%, respectivamente, em comparação com grupo controle. Essas características tornam o NP-9 (**25**) um interessante candidato protótipo de fármaco para o tratamento da DA, por um mecanismo de ação diferenciado.¹⁴⁷

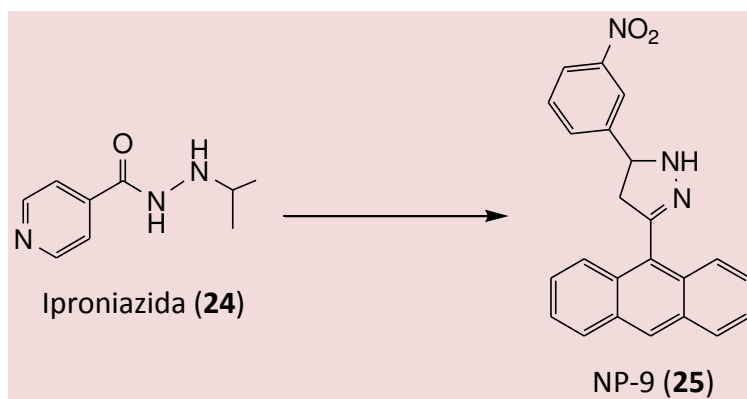


Figura 12. Composto NP-9 (25) planejado a partir da estrutura da iproniazida (24)

Os produtos naturais são ótimas fontes de inspiração para a construção de novos padrões moleculares promissores no tratamento de doenças neurodegenerativas. Um exemplo, são os alcaloides isoquinolínicos como a berberina (26) que exibe uma potente inibição da AChE e de agregados β A, por inibição do sítio periférico da AChE.¹⁴⁸ Vários outros alcaloides isoquinolínicos têm sido descritos como potentes inibidores de AChE, podendo ser considerados como compostos potencialmente úteis no planejamento de fármacos contra a DA. Baseado nessas observações, Xu e colaboradores sintetizaram uma nova série de derivados benzilisoquinolínicos conectados com

diferentes aminas através de espaçadores alquílicos e desenhados como inibidores múltiplos para os alvos envolvidos na DA (Figura 13). A avaliação farmacológica revelou que a maior parte dos derivados inibiu significativamente tanto a AChE como a BuChE, além da autoagregação do peptídeo β A. O estudo de REA demonstrou que o comprimento da cadeia alquílica influencia na interação com os sítios ativo e periférico da AChE, sendo determinante na potência dos compostos. O derivado 27, mais ativo da série, apresentou um perfil de ação múltiplo, comparado com a berberina e com a galantamina, inibindo também em 78,4 % a agregação do peptídeo β A, sem demonstrar citotoxicidade significativa.¹⁴⁹

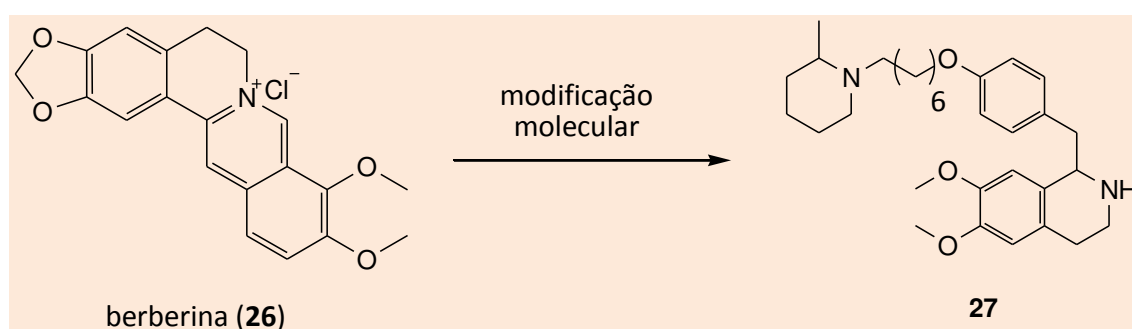


Figura 13. Composto 27, o mais ativo da série de derivados da berberina (26), com perfil de ação múltiplo

Em outro trabalho, Su e colaboradores também descreveram uma nova série de compostos derivados da berberina (26), que já havia sido relatada como um inibidor potente de AChE e BuChE, com efeito

moderado na autoagregação de β A. No desenho desta nova série foi introduzida uma subunidade farmacofórica tiofenileno, ligada ao núcleo básico de 26 por diferentes espaçadores alquílicos (Figura 14). Todos os

compostos inibiram significativamente a AChE e a agregação de β A, além de serem melhores antioxidantes que o protótipo original, demonstrando que a subunidade tiofenileno foi importante para ampliar o perfil de ação da série. Particularmente, os compostos **28** e **29** demonstraram um melhor

perfil de ação multialvo, inibindo a AChE com valores de IC_{50} de 0,077 e 0,042 μ M, respectivamente, por um mecanismo de inibição mista, além de atuarem como potentes antioxidantes e inibidores da autoagregação de β A.^{150,151}

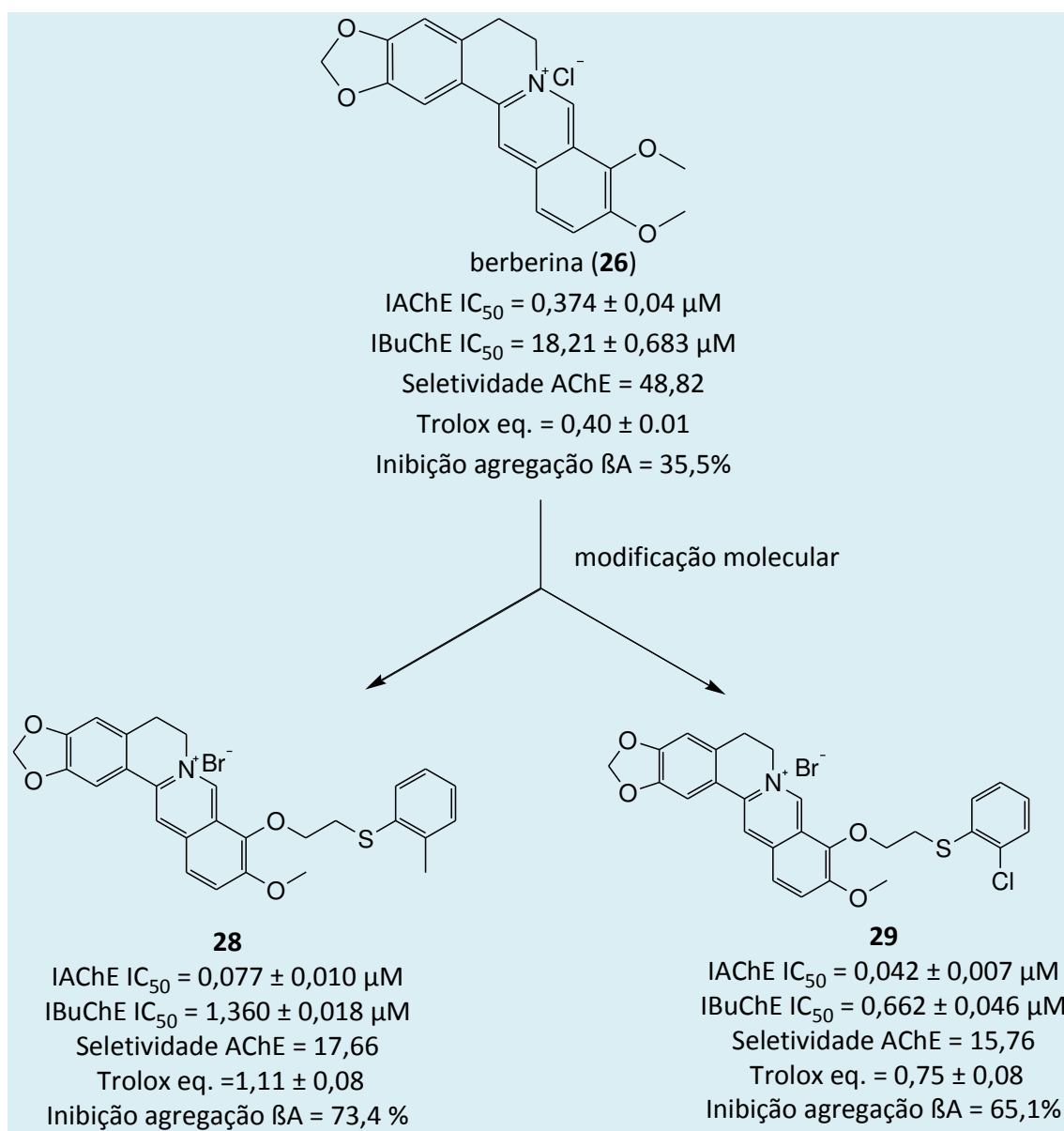


Figura 14. Compostos **28** e **29**, mais ativos da série de derivados tiofenilênicos da berberina (**26**)

O resveratrol (**30**) e pterostilbeno (**31**) são metabólitos fenólicos de plantas e apresentam potentes propriedades

antioxidante, anti-inflamatória e de neuroproteção. Por isso, têm sido utilizados como modelos estruturais no planejamento

de compostos com ação múltipla. Yuan e colaboradores planejaram uma série de derivados do resveratrol e do pterostilbeno, substituídos por um grupamento carbamoíla, reconhecida como subunidade farmacofórica na rivastigmina (**2**, Figura 15). A avaliação desta nova série de híbridos moleculares,

revelou as substâncias **32-34** como as mais ativas da série, sendo **32** e **33** com atividade inibitória moderada e mais seletivos para AChE que a rivastigmina e **34** como um potencial inibidor não seletivo de AChE e BuChE, porém com efeito neuroprotetor.¹⁵²

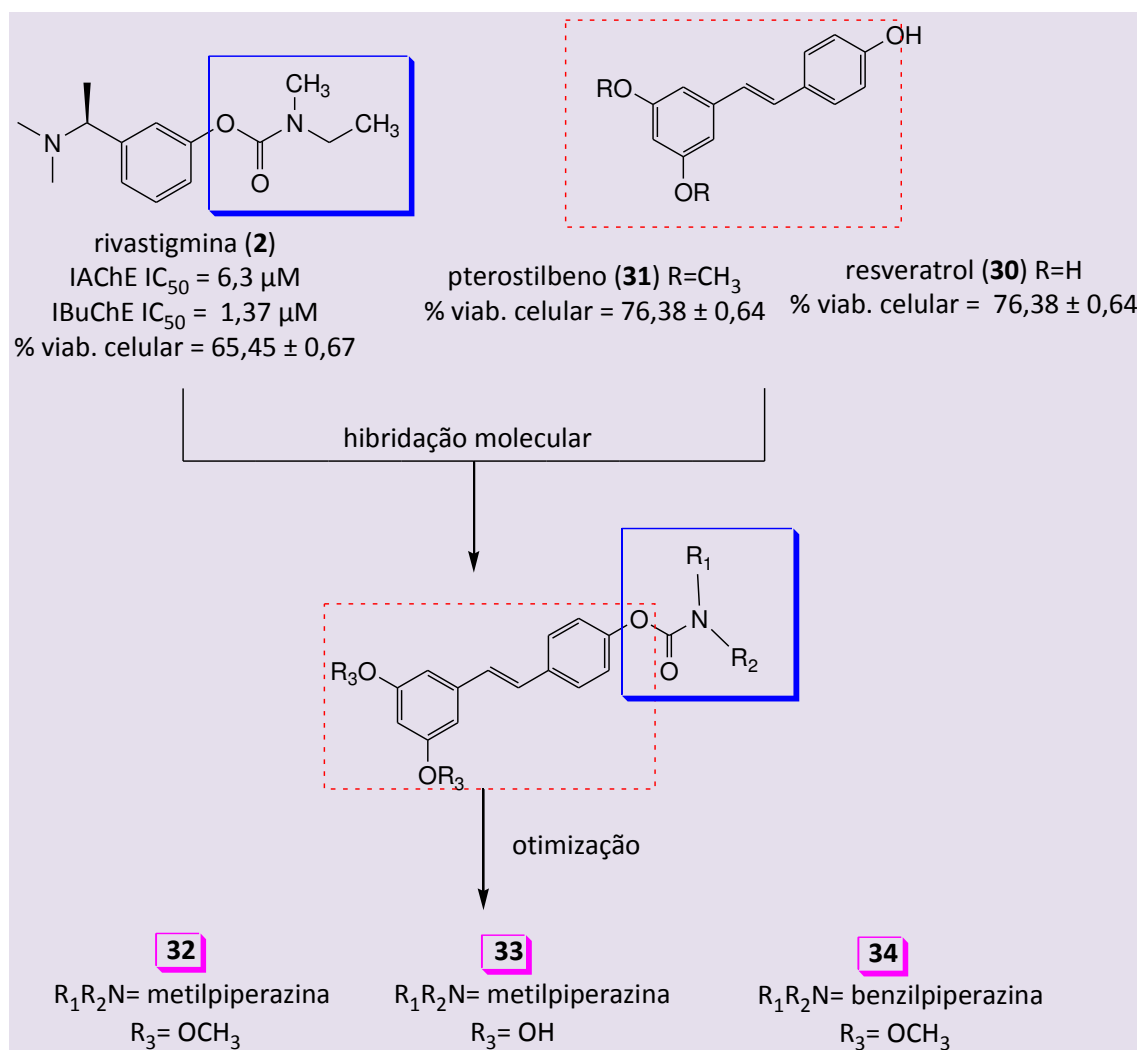


Figura 15. Planejamento estrutural dos compostos **32-34**, híbridos moleculares da rivastigmina (**2**), resveratrol (**30**) e pterostilbeno (**31**)

Li e colaboradores também utilizaram a estrutura do resveratrol no planejamento de novos derivados imínicos, para atuarem em múltiplos alvos envolvidos na DA (Figura 16). A subunidade imínica foi escolhida com base na estrutura do clioquinol (**35**), um composto capaz de quelar biometais envolvidos em processos bioquímicos relacionados às

doenças neurodegenerativas. Da série de 20 novos derivados sintetizados, **37** demonstrou ser o protótipo mais promissor, sendo capaz de sequestrar radicais livres 7,7 vezes melhor o resveratrol. Além disso, inibiu em 64,6% a formação de agregados de βA , foi capaz de complexar Cu^{2+} e Fe^{2+} e inibir 68,1% da agregação de βA induzida por Cu^{2+} . Também

foi avaliada a capacidade deste composto em prevenir a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), por quantificação da formação de H_2O_2 induzida pelo complexo Cu- β A a partir de O_2 . O composto **37** foi capaz de reduzir em 80% a produção de H_2O_2 , enquanto para o clioquinol a redução foi de 75%. A viabilidade celular e a neuroproteção

contra o estresse oxidativo foram estimadas utilizando linhagem de células neuronais SH-SY5Y, o que evidenciou que **37** não apresenta toxicidade expressiva, além de proteger as células contra o estresse oxidativo induzido por H_2O_2 de maneira mais expressiva que o resveratrol.¹⁵³

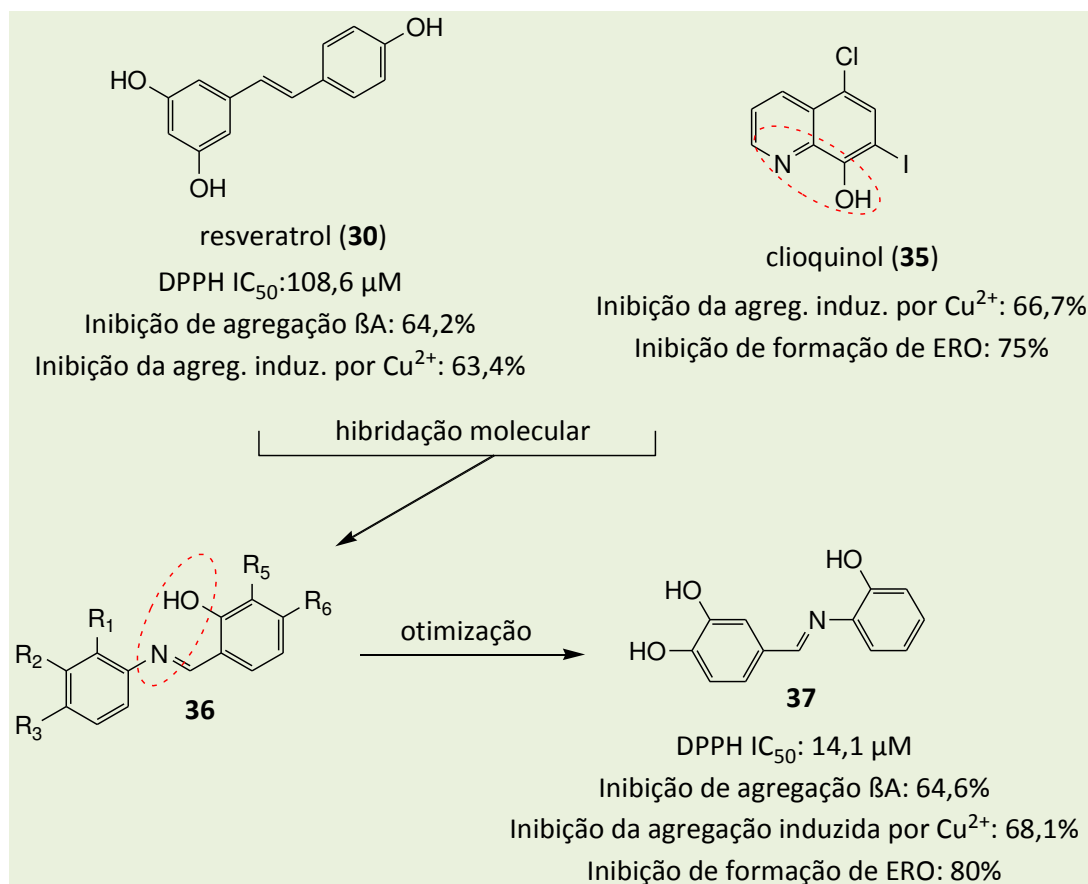


Figura 16. Planejamento e otimização da série de híbridos resveratrol/clioquinol

O resveratrol também serviu de modelo estrutural para Pan e colaboradores no planejamento de novos compostos com ação múltipla, a partir da hibridação molecular com diferentes aminas conectadas por espaçadores alquílicos (Figura 17). O grupamento amino foi escolhido para a síntese dos novos análogos do resveratrol devido ao fato de que em pH fisiológico o átomo de nitrogênio das aminas encontra-se protonado, podendo fazer importantes interações de hidrogênio com o sítio catalítico da AChE. Todos os compostos

sintetizados inibiram a AChE, sendo que alguns foram mais potentes que o resveratrol. Estudos enzimáticos e de modelagem molecular revelaram que os derivados do resveratrol são capazes de interagir com os sítios ativo e periférico da AChE. Os compostos avaliados também inibiram a agregação de β A e as enzimas MAO-A e MAO-B. Dentre todos os compostos, destacou-se o composto **38** que exibiu um perfil múltiplo balanceado entre os alvos testados, inibindo significativamente a agregação de β A, colinesterase e MAO-A e B,

além de não apresentar toxicidade *in vitro*.¹⁵⁴

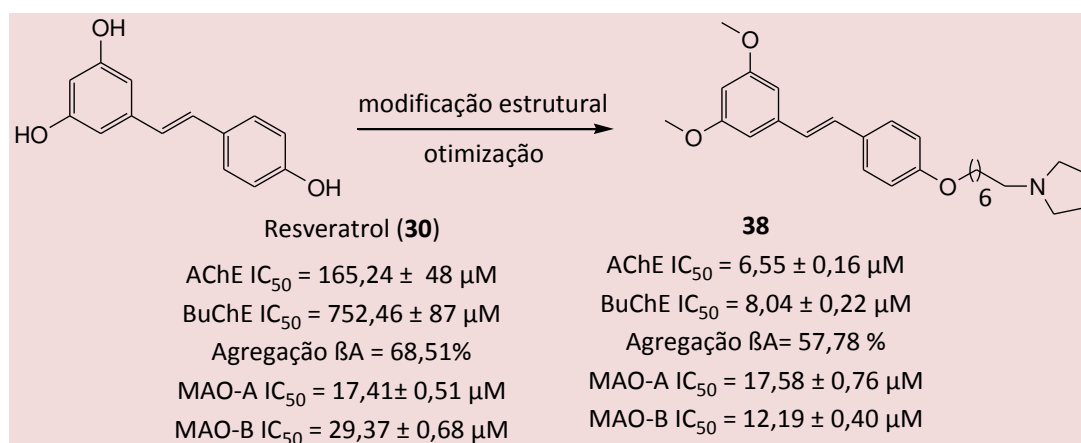


Figura 17. Composto (38) obtido a partir da modificação molecular do resveratrol (30)

Em outro trabalho, Lu e colaboradores também se basearam na estrutura do resveratrol e do clioquinol (35), para o planejamento de novos derivados híbridos resveratrol-clioquinol (Figura 18). Dentre os compostos sintetizados, 39 e 40 exibiram inibição significativa da agregação de βA (39, IC₅₀ = 7,56 μM e 40, IC₅₀ = 6,51 μM), sendo também capazes de desagregar as fibrilas βA induzidas por Cu²⁺, inibir moderadamente as enzimas AChE, MAO-A e B, além de apresentar baixa toxicidade e de atuarem como antioxidante no ensaio da capacidade antioxidante equivalente ao trolox (CAET). Estas propriedades destacam o potencial desses compostos híbridos do resveratrol para o desenvolvimento de novos fármacos multifuncionais para o tratamento da DA.¹⁵⁵

A memoquina (41), composto híbrido 1,4-benzoquinona-poliamina foi descrita por Bolognesi e colaboradores como um candidato a fármaco promissor para o tratamento da DA. Desde então, tem sido utilizada como modelo para construção de novas entidades químicas que possam reproduzir suas propriedades antioxidante,

inibitória de AChE e de agregação βA.¹³ Em 2013, Prati e colaboradores relataram a síntese de uma nova série de derivados híbridos da memoquina com diferentes subunidades farmacofóricas de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINDs) (Figura 19). No novo padrão estrutural o núcleo central da memoquina 2,5-diamino-1,4-benzoquinônico foi mantido e conectado às subunidades derivadas dos NSAIDs através de espaçadores poliamínicos. O perfil multialvo dos compostos foi avaliado através da capacidade de redução da agregação de βA e da inibição das enzimas BACE-1, AChE e BuChE. Todos os compostos mantiveram a capacidade de inibição da agregação βA já observada na memoquina, além de apresentar inibição de AChE na faixa de micromolar, porém não foram capazes de inibir BACE-1. Dentre os compostos mais ativos, os compostos 42, 43, (R)-44 e (S)-44 que possuem as subunidades derivadas do ibuprofeno, diclofenaco e flurbiprofeno, respectivamente, foram os que apresentaram os melhores equilíbrios no perfil de inibição AChE/βA.¹⁵⁶

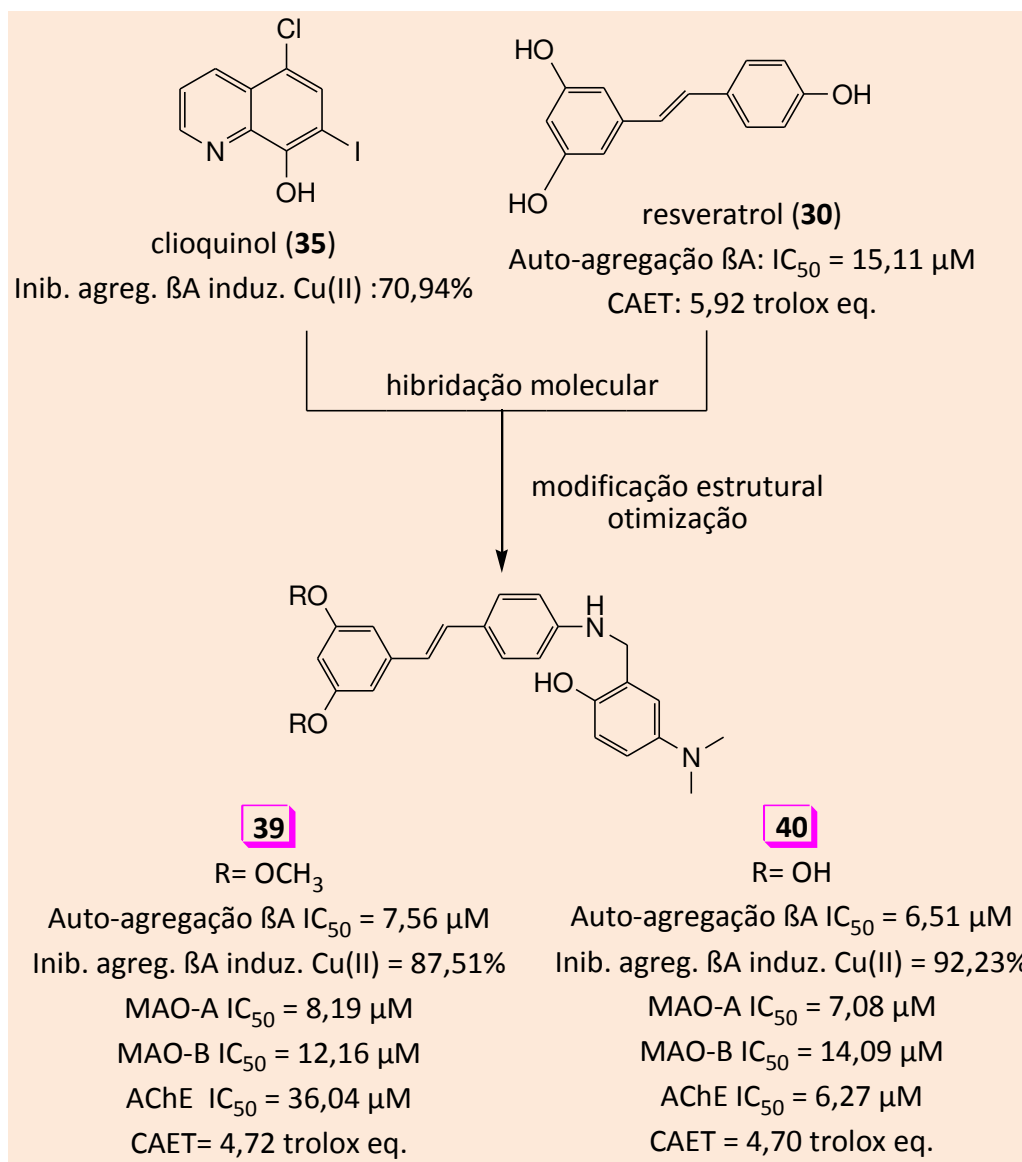


Figura 18. Compostos com perfil de ação múltiplo, planejados por hibridação molecular do resveratrol (30) e clioquinol (35)

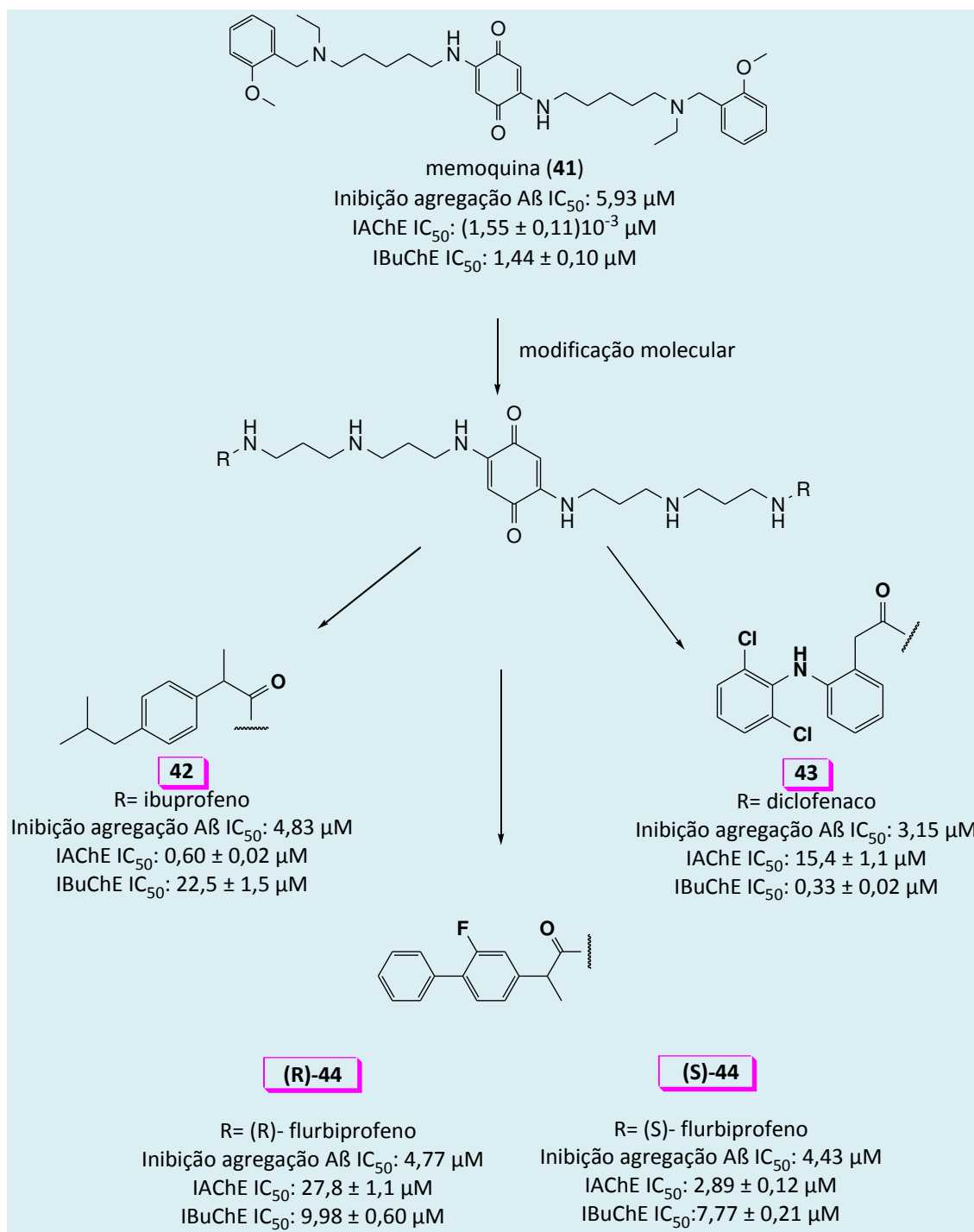


Figura 19. Derivados **42**, **43**, **(R)-44** e **(S)-44**, com perfil de ação multialvo mais significativo da série de híbridos moleculares memoquina-AINEs

A enzima 5-lipoxigenase (5-LO) é amplamente distribuída no sistema nervoso central (SNC). Estudos recentes indicam que essa enzima pode estar envolvida na evolução da DA. A inibição dessa enzima leva a uma redução significativa da deposição de β A no cérebro o que acarreta na inibição de

uma série de fatores envolvidos na doença. Diante da conexão desses mecanismos com a DA, os autores sintetizaram uma série de compostos planejados para atuarem como inibidores da 5-LO e da agregação β A.¹⁵⁷

Considerando a similaridade estrutural entre resveratrol (**30**), quercetina (**45**) e

curcumina (**46**), que contém um núcleo comum *para*-hidroxifenólico conjugado a uma cetona α,β -insaturada (Figura 20), e suas propriedades antiamiloides e inibitórias de 5-LO, Chen e colaboradores decidiram explorar a estrutura de chalconas como modelos de novos compostos com atividades

inibitória de agregação de β A e de 5-LO. Para tanto, prepararam uma série de derivados da isoliquiritigenina (**47**, Figura 21), uma chalcona natural, utilizado na medicina tradicional chinesa por suas propriedades antioxidante e anti-inflamatória.

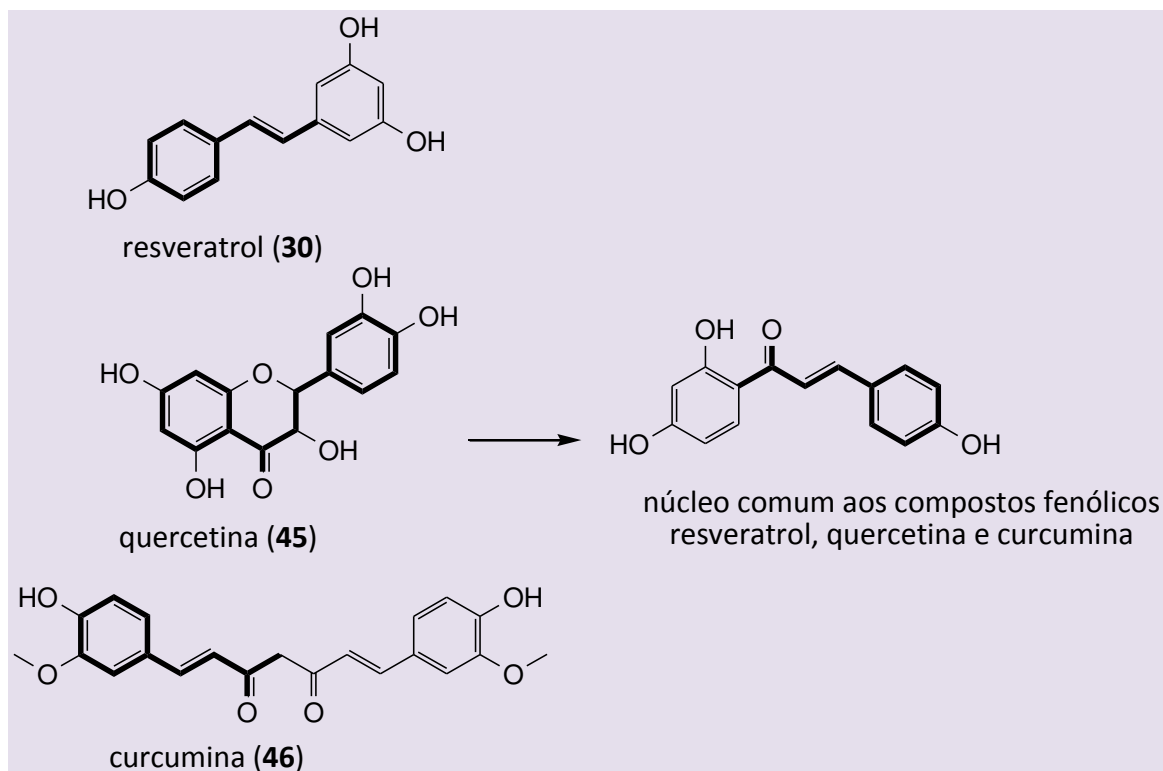


Figura 20. Estruturas do resveratrol (**30**), quercetina (**45**) e curcumina (**46**) que apresentam alta similaridade estrutural com um núcleo comum *para*-hidroxifenólico conjugado a uma cetona α,β -insaturada

A avaliação farmacológica revelou que a maioria dos compostos apresentou um perfil de inibição da agregação β A e inibição da 5-LO superior ao protótipo isoliquiritigenina (**47**) e ao resveratrol, utilizado como referência. Os derivados **48**, **49** e **50** foram

considerados os mais da série, mostrando apresentaram-se como potentes inibidores de ambos os alvos (Figura 21), podendo ser eleitos como promissores modelos para o desenvolvimento de fármacos multialvo.¹⁵⁸

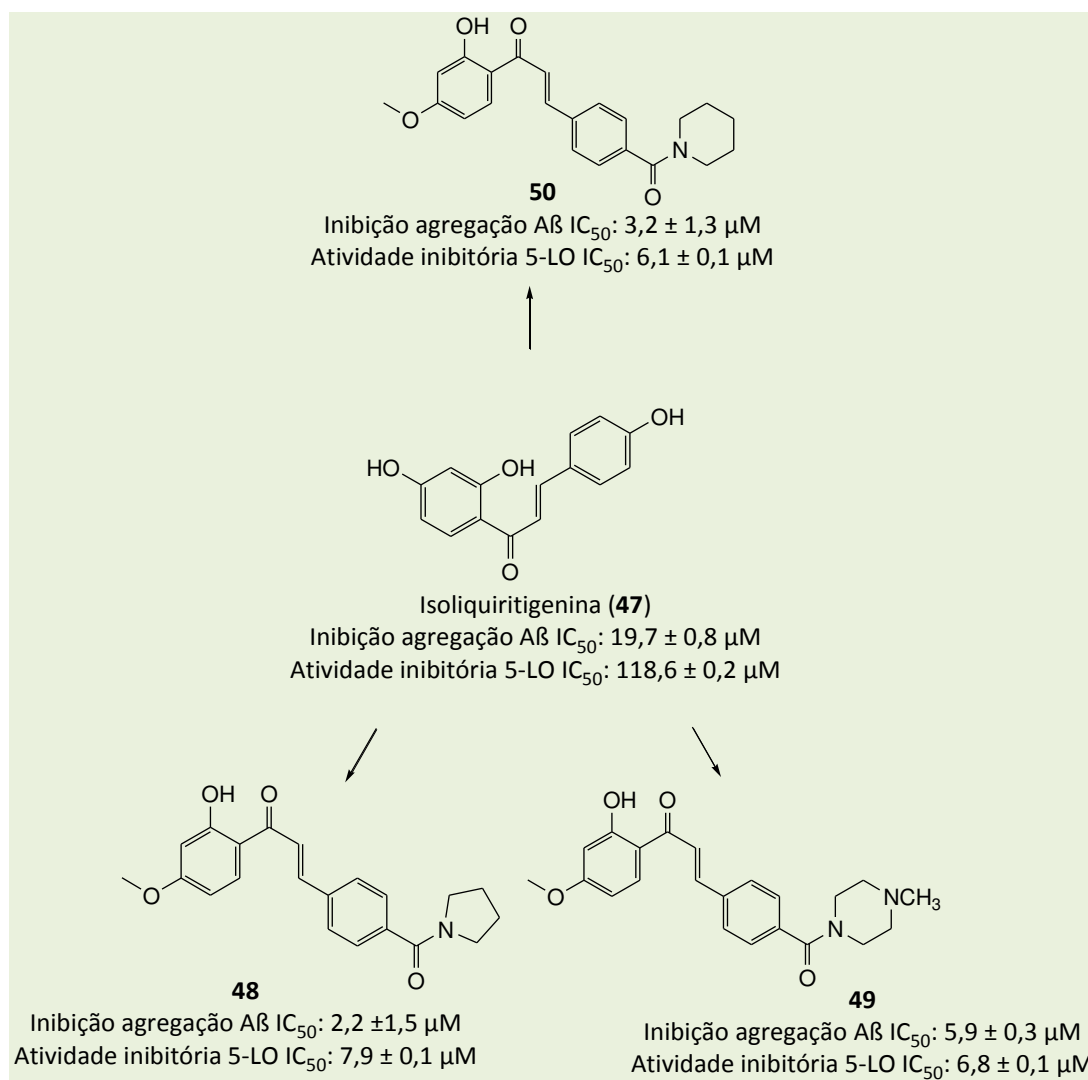


Figura 21. Estrutura da isoliquiritigenina (**47**) e seus derivados mais ativos **48**, **49** e **50** com propriedades anti-amiloide e inibitória de 5-LO

A huprina (**51**) foi escolhida como modelo de inibidor de AChE por Viyana e colaboradores para o planejamento de uma nova série de híbridos moleculares com a rehin (**52**), um produto natural com atividade inibitória de ChEs e da agregação de TAU, tradicionalmente utilizado na medicina chinesa. O desenho estrutural desta nova série foi baseado na conexão da estrutura da huprina (**51**) com o núcleo hidroxiantraquinônico do composto rehin (**52**) utilizando espaçadores alquílicos (Figura 22).¹⁵⁹ Desta forma, série de híbridos rehin-huprina foram sintetizados e avaliados quanto às suas propriedades inibitórias seletivas da AChE e antiagregação da proteína TAU. Os dados farmacológicos

revelaram que todos os compostos da série são potentes inibidores duais da AChE, com inibição moderada da autoagregação β A induzida pela AChE. Ensaio com membranas artificiais sugeriram que estas substâncias podem ser capazes de atravessar a barreira hematoencefálica *in vivo*. O derivado **53** foi eleito o mais ativo da série, demonstrando ser um potente inibidor de BACE -1, além da AChE e da agregação de TAU. Devido às suas propriedades múltiplas de ação esta substância foi submetida a ensaios *in vivo* que confirmaram que é capaz de diminuir os níveis de agregados β A e proteger contra os efeitos de diminuição das sinapses induzidas pelos oligômeros β A.

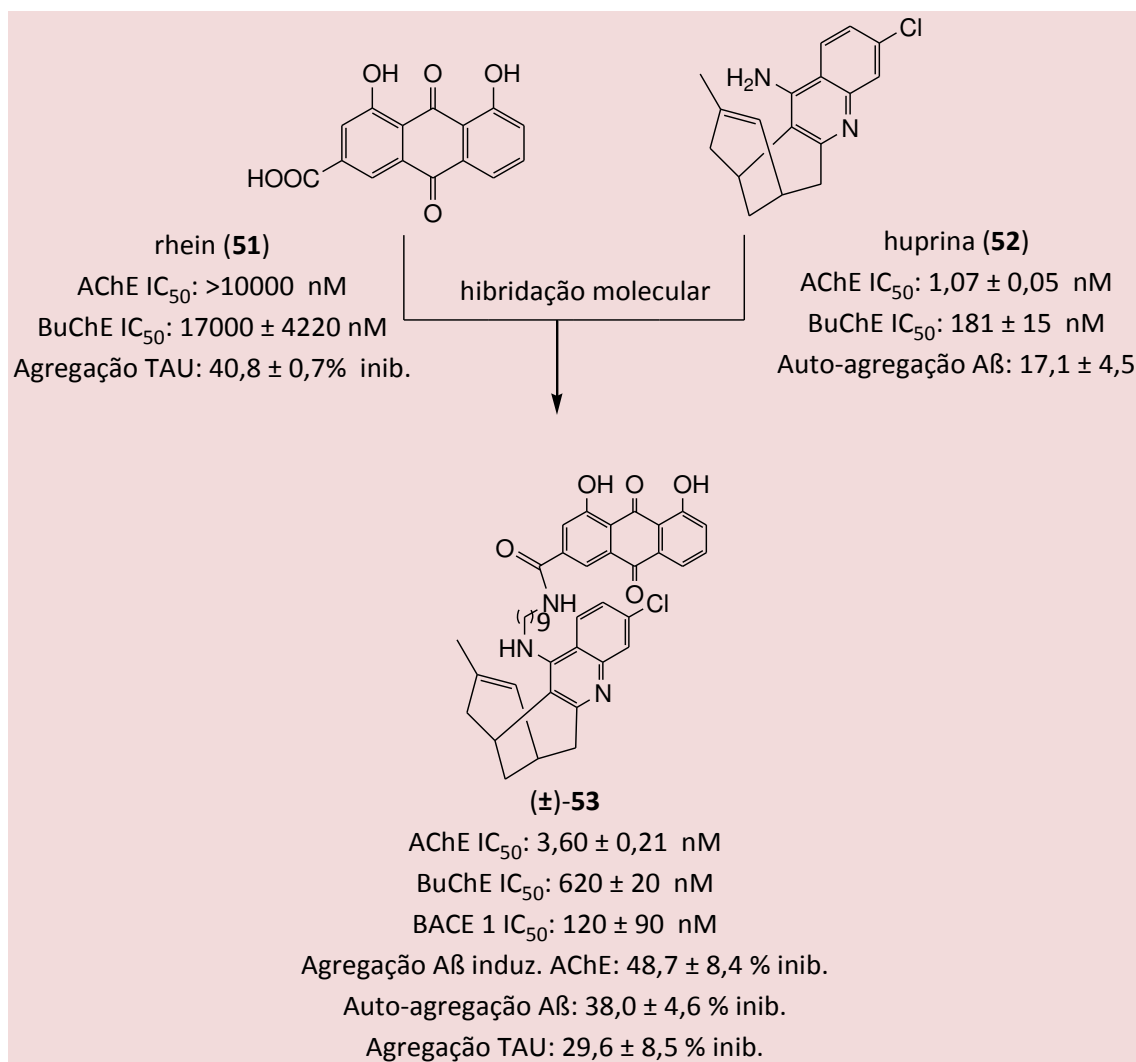


Figura 22. Híbrido molecular (**53**), planejado a partir das estruturas de rhein (**51**) e huprina (**52**), com perfil de ação multialvo

A genisteína (**54**) é uma isoflavona que apresenta diversas propriedades farmacológicas, incluindo anti-inflamatória, antioxidante, quelante de biometais e neuroprotetora. Diante disso, Qiang e colaboradores utilizaram sua estrutura no planejamento de híbridos moleculares com o donepezil (**4**), variando o padrão de substituintes amino-benzílicos, a exemplo da subunidade farmacofórica benzilpiperidínica presente em **4** (Figura 23). Uma série de híbridos genisteína-donepezil então preparados e avaliados quanto a diversas propriedades potencialmente úteis ao tratamento da DA, incluindo inibição de ChEs, atividade antioxidante, efeito quelante de

biometais, inibição da agregação βA e efeito de neuroproteção em modelos animais com amnésia induzida por escopolamina. Os resultados demonstraram que a série toda foi capaz de inibir significativamente a AChE, com um perfil variando de moderado a bom como antioxidantes. Dentre os 28 compostos sintetizados, o derivado **55** foi destaque, inibindo também a autoagregação βA, a agregação induzida por Cu²⁺ e a agregação induzida por AChE, além de ser capaz de desagregar as fibrilas βA em 72,1 %. Estudos cinéticos e de modelagem molecular sugeriram que **55** inibe simultaneamente o sítio catalítico e o sítio periférico da AChE, o que pode explicar em parte suas propriedade

antiamiloide. Os ensaios *in vivo* mostram que o composto **55** foi capaz de reverter significativamente a amnésia induzida por escopolamina, sendo considerado um dos

mais recentes candidatos a protótipos de fármacos multialvo contra a doença de Alzheimer.¹⁶⁰

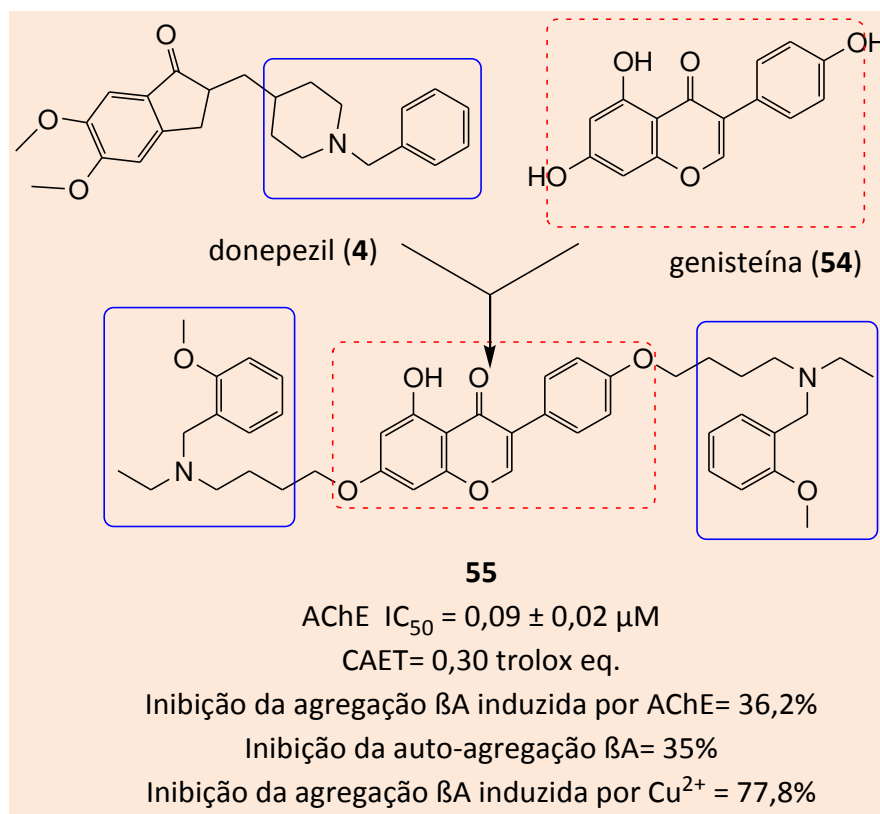


Figura 23. Derivado **55**, mais ativo de uma série de híbridos moleculares do donepezil (**4**) e da genisteína (**54**) com importantes propriedades multialvo

6. Conclusões

Como pode ser visto, a literatura é bastante rica em exemplos de como a abordagem de ligantes multialvo têm despertado o interesse da comunidade científica mundial. Especialmente em relação à Doença de Alzheimer, a busca por novas entidades químicas inovadoras, realizada com base nesta estratégia, tem revelado uma grande diversidade molecular e novas substâncias com perfil de ação nunca antes revelado, podendo atingir e modular diferentes alvos terapêuticos simultaneamente. Entretanto, ao contrário dos pesquisadores acadêmicos, a Indústria Farmacêutica ainda parece resistente à

adoção desta nova forma de “pensar” o planejamento racional de moléculas bioativas. Ainda há um notável conservadorismo por parte do setor farmacêutico, preferindo voltar seus investimentos ao lançamento de novas formulações associando fármacos conhecidos ou mantendo-se preso à busca por fármacos altamente seletivos. Os vários exemplos descritos neste e outros trabalhos de revisão¹²⁴ deixam evidente que esta nova abordagem pode estar inaugurando uma nova era na Química Medicinal e, quiçá, para terapêutica de doenças multifatoriais como a DA. Talvez, o grande desafio à frente seja como encontrar um balanço adequado de propriedades múltiplas exibidas por estas moléculas inovadoras, buscando identificar-se o grau de “promiscuidade” ideal para o

melhor perfil terapêutico e que as candidatem definitivamente como candidatos a fármacos de última geração para o tratamento da DA.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, FAPEMIG e ao INCT-INOVAR pelo suporte financeiro e bolsas concedidas. Neste número comemorativo da RVq aos 20 anos do LASSBio – Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas, gostaríamos de registrar nosso profundo agradecimento e orgulho de fazermos parte da família e do legado “LASSBio”. Especialmente, na pessoa do seu Coordenador, Prof. Eliezer J. Barreiro, que criou e liderou a maior Escola de Química Medicinal no Brasil, reconhecida nacional e internacionalmente pela sua contribuição ímpar na geração do conhecimento, na formação de discípulos e ao desenvolvimento da Química Medicinal brasileira. Os princípios inegociáveis de mérito científico, seriedade, ética e qualidade foram ensinados, e muito bem, às novas gerações de cientistas. Parabéns LASSBio!!

Abreviaturas

ACh	=	acetilcolina
AChE	=	acetilcolinesterase
AINES	=	anti-inflamatórios não-esteroidais
APP	=	proteína precursora amiloide
BuChE	=	butirilcolinesterase
C1q	=	proteína 1q constituinte do sistema complemento
CAET	=	capacidade antioxidante equivalente a trolox
CAT	=	colina acetiltransferase
COX	=	cicloxigenase
DA	=	doença de Alzheimer

DP	=	doença de Parkinson
ERO	=	espécies reativas de oxigênio
FDA	=	<i>Food and Drug Administration</i>
IACHes	=	inibidores de acetilcolinesterase
IBGE	=	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE),
IL	=	interleucina
iNOS	=	NO sintase induzida
LPS	=	lipopolissacarídeo isolado de parede bacteriana
LO	=	lipooxigenase
M-CSF	=	fator estimulador de crescimento de macrófagos
MAO-A	=	monoamino oxidase A
MAO-B	=	monoamino oxidase B
NMDA	=	<i>N</i> -metil-D-aspartato
nNOS	=	NO sintase neuronal
ONU	=	Organização das Nações Unidas
PGE ₂	=	prostaglandina tipo E ₂
SIDA	=	síndrome da imunodeficiência adquirida
SNC	=	sistema nervoso central
TGF-β	=	fator transformador de crescimento β
TNF-α	=	fator de necrose tumoral α
βA	=	peptídeo β-amiloide

Glossário de termos biológicos

Astrócitos: São células do sistema nervoso, responsáveis pelo preenchimento dos espaços entre os neurônios, regulagem da concentração de diversas substâncias com potencial para interferir nas funções

neurônios normais e regulação dos neurotransmissores.

Astroglíose: Aumento no número de processos fibrosos astrocitários

Axônios: Parte terminal do neurônio responsável pela condução do impulso elétrico.

Cognição: Processo de conhecimento que envolve interações entre diversos domínios como atenção, percepção, memória, raciocínio, juízo, imaginação, pensamento e linguagem.

Dentritos: São prolongamentos dos neurônios especializados na recepção dos estímulos nervosos.

Endoproteases: São peptidases proteolíticas que quebram ligações de aminoácidos intramoleculares.

Hipocampo: Estrutura localizada no cérebro responsável pela memória.

Me too: Similar estruturalmente a um fármaco conhecido, com pequenas diferenças farmacoterapêuticas.

Microglia: São células do SNC responsáveis pelo suporte e nutrição dos neurônios.

Monócito: Tipo de leucócito, que são células do sistema imunitário humano, responsáveis pela proteção dos tecidos

Neurotoxicidade: Ocorre quando neurotoxinas alteram a atividade normal do sistema nervoso, de tal forma que causa danos ao tecido nervoso, podendo levar a morte neuronal.

Neurotransmissores: São substâncias químicas produzidas pelos neurônios responsáveis de enviar informações as células e estimular o impulso nervoso.

Nitrotirosina: Produto da reação de nitração da tirosina que atua como marcador do estresse oxidativo

Oligômeros: Junção de um finito número de unidades de monômeros ou fragmentos de uma ou mais unidades proteicas.

Peroxinitrito: Produto da condensação de radicais superóxidos e óxido nítrico,

considerada uma espécie reativa de oxigênio, responsável pelo estresse oxidativo.

Placas senis: São placas extracelulares formadas pelo acúmulo de fragmentos insolúveis da proteína β -amiloide.

Pró encéfalo basal: A função primária dos gânglios basais é a seleção de ação. Eles mandam sinais inibitórios para todas as partes do encéfalo que possam gerar ações, e nas circunstâncias certas pode liberar a inibição, de modo que os sistemas de geração de ação executem suas ações.

Proteína Tau: Proteínas que estabilizam os microtúbulos neuronais (estruturas proteicas que constituem o neurônio) e quando em atividade anormal como desestabilização podem levar a morte neuronal.

Proteólise: É o processo de degradação (digestão) de proteínas por enzimas, chamadas proteases, ou por digestão intramolecular.

Quimiocinas: Células que desencadeiam respostas imunes, funcionando como mediadores ou reguladores da inflamação e ativadoras de leucócitos.

Receptores Muscarínicos: Receptores acoplados a proteína G, que atuam na transdução de sinal no interior da célula e são ativados pela acetilcolina.

Receptores Nicotínicos: Canais iônicos que atuam como receptores ativados pela acetilcolina e nicotina.

Sinapse: São regiões de comunicação interneuronal, onde o estímulo de um neurônio passa ao seguinte pela mediação de neurotransmissores.

Sítio Catalítico: Também conhecido como sítio ativo, é o local que confere especificidade as enzimas, uma vez que este sítio de ligação do substrato é ideal espacial e eletronicamente para a ligação do mesmo, sendo capaz de reconhecer a estrutura do substrato e ocorrer neste sítio a ligação enzimática.

Referências Bibliográficas

- ¹ Liu, X.; Zhu, F.; Ma, X. H.; Shi, Z.; Yang, S. Y.; Wei, Y. Q.; Chen, Y. Z. Predicting targeted polypharmacology for drug repositioning and multi-target drug discovery. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1646. [CrossRef] [PubMed]
- ² Viayna, E.; Sola, I.; Di Pietro, O.; Muñoz-Torrero, D. Human disease and drug pharmacology, complex as real life. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1623. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Bolognesi, M. L. Polypharmacology in a single drug: multitarget drug. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1639. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴ Scannell, J. W.; Blanckley, A.; Boldon, H.; Warrington, B. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency. *Nature Reviews Drug Discovery* **2012**, *11*, 191. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵ Pammolli, F.; Magazzini, L.; Riccaboni, M. The productivity crisis in pharmaceutical R&D. *Nature Reviews Drug Discovery* **2011**, *10*, 428. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶ Paul, S. M.; Mytelka, D. S.; Dunwiddle, C. T.; Persinger, C. C.; Munos, B. H.; Lindborg, S. R.; Schacht, A. L. How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge. *Nature Reviews Drug Discovery* **2010**, *9*, 203. [CrossRef] [PubMed]
- ⁷ Abou-Garcia, M.; Childers, W. E. J. Discovery of innovative therapeutics: today's realities and tomorrow's vision. 1. Criticisms faced by the pharmaceutical industry. *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *56*, 5659. [CrossRef] [PubMed]
- ⁸ Mullard, A. The US food and drug administration approved slightly fewer new drugs than in recent years, and the industry's focus on specialty-care products continued to shine through. *Nature Reviews Drug Discovery* **2011**, *10*, 82. [CrossRef]
- ⁹ Agarwal, P.; Sanseau, P.; Cardon, L. R. Novelty in the target landscape of the pharmaceutical industry. *Nature Reviews Drug Discovery* **2013**, *12*, 575. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰ Gagnon, M. A.; Lexchin, J. The cost of pushing pills: A new estimate of pharmaceutical promotion expenditures in the United States. *Plos Medicine* **2008**, *5*, 29. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹ Swinney, D. C.; Anthony, J. How were new medicines discovered? *Nature Reviews Drug Discovery* **2011**, *10*, 507. [CrossRef] [PubMed]
- ¹² Agis-Torres, A.; Söllhuber, M.; Fernandez, M.; Sanchez-Montero, J. M. Multi-target-directed ligands and other therapeutic strategies in the search of a real solution for Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology* **2014**, *12*, 2. [CrossRef] [PubMed]
- ¹³ Bolognesi, M. L.; Cavalli, A.; Melchiorre, C. Memoquin: A multi-target-directed ligand as an innovative therapeutic opportunity for Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* **2009**, *6*, 152. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁴ Geldenhuys, W. J.; Van der Schyf, C. J. Rationally designed multi-targeted agents against neurodegenerative diseases. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1662. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁵ Rocha, M. D.; Viegas, F. P. D.; Campos, H. C.; Nicastro, P. C.; Fossaluzza, P. C.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Viegas Jr., C. The role of natural products in the discovery of new drug candidates for the treatment of neurodegenerative disorders II: Alzheimers disease. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets* **2011**, *10*, 251. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁶ Campos, H. C.; Rocha, M. D.; Viegas, F. P. D.; Nicastro, P. C.; Fossaluzza, P. C.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Viegas-Junior, C. The role of natural products in the discovery of new drug candidates for the treatment of neurodegenerative disorders I: Parkinsons disease. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets* **2011**, *10*, 239. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁷ Shi, S.; Wang, Z.; Qiao, Z. The multifunctional anti-inflammatory drugs used in the therapy of Alzheimer's disease. *Current*

- Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 2583. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁸ Moller, H. J.; Graeber, M. B. The case described by Alois Alzheimer in 1911. *European Archives of Psychiatry Clinical Neuroscience* **1998**, *248*, 111. [CrossRef]
- ¹⁹ Sítio do AlzheimerMed. Disponível em: <http://www.alzheimermed.com.br/m3.asp?cod_pagina=1011>. Acesso em: 1 agosto 2013
- ²⁰ Alzheimer's Association, 2011. Alzheimer's Disease Facts and Figures, *Alzheimer's & Dementia*. Disponível em: <http://www.alz.org/downloads/facts_figures_2011.pdf>. Acesso em: 1 julho 2014.
- ²¹ World Health Organization. Population ageing: a public health challenge, Fact sheet No. 135, Geneva, 1997.
- ²² Kalache, A.; Keller, I. *Increasing longevity: medical, social and political implications*; Tallis, R.; Royal College of Physicians of London: London, 1998, cap. 8.
- ²³ IBGE - Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Censo Demográfico. Rio de Janeiro: IBGE, 2000.
- ²⁴ Terry, A. V.; Buccafusco, J. J. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2003**, *306*, 821. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁵ Goedert, M.; Spillatini, M.G.A. Century of Alzheimer's disease. *Science* **2006**, *314*, 777. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁶ Maurer, K.; Ihl, R.; Dierks, T. Clinical efficacy of *Ginkgo biloba* special extract EGb 761 in dementia of the Alzheimer type. *Journal of Psychiatric Research* **1997**, *31*, 645. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁷ Blessed, G.; Tomlinson, B. E.; Roth, M. Br. The Association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subject. *Journal of Psychiatry* **1968**, *114*, 797. [CrossRef]
- ²⁸ Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M.; Moore, P. K. *Farmacologia*. 5a. ed. Elsevier: RJ, 2003.
- ²⁹ Felice, F. G.; Ferreira, S. T. β -amyloid production, aggregation, and clearance as targets for therapy in alzheimer's disease. *Cellular and Molecular Neurobiology* **2002**, *22*, 545. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁰ Glenner, G. G.; Wang, C. W. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1984**, *120*, 885. [CrossRef] [PubMed]
- ³¹ Masters, C. L.; Simms, G.; Weinman, N. A.; Multhaup, G.; McDonald, B. L.; Beyereuther, K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **1985**, *82*, 4245. [CrossRef] [PubMed]
- ³² Kang, J.; Lemaire, H. G.; Unterbeck, A.; Salbaum, J. M.; Masters, C. L.; Grzeschik, K. H.; Multhaup, G.; Beyereuther, K. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. Muller-Hill, B. *Nature* **1987**, *325*, 733. [CrossRef] [PubMed]
- ³³ Selkoe, D. J. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* **1991**, *6*, 487. [CrossRef]
- ³⁴ Selkoe, D. J. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Journal of Biological Chemistry* **1996**, *271*, 18295. [CrossRef]
- ³⁵ Guela, C.; Wu, C. K.; Saroff, D.; Lorenzo, A.; Yaun, M.; Yankner, B. A. Aging renders the brain vulnerable to amyloid bold beta-protein neurotoxicity. *Nature Medicine* **1998**, *4*, 827. [CrossRef]
- ³⁶ Lorenzo, A.; Yankner, B. A. Beta-amyloid neurotoxicity requires fibril formation and is inhibited by congo red. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **1994**, *91*, 12243. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁷ Pike, C. J.; Burdick, D. Walencewicz, A. J.; Glabe, C. G.; Cotman, C. W. Neurodegeneration induced by beta-amyloid peptides in vitro: the role of peptide

- assembly state. *The Journal of Neuroscience*. **1993**, *13*, 1676. [PubMed]
- ³⁸ Sítio do AlzheimerMed. Disponível em: <http://www.alzheimermed.com.br/m3.asp?cod_pagina=1014>. Acesso em: 1 agosto 2013.
- ³⁹ Viegas Jr., C.; Bolzani, V. S.; Furlan, M.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do mal de Alzheimer. *Química Nova* **2004**, *27*, 655. [CrossRef]
- ⁴⁰ Colletier, J-P.; Fournier, D.; Greenblatt, H. M.; Stojan, J.; Sussman, J. L.; Zaccai, G.; Silman, I.; Weik, M. Structural insights into substrate traffic and inhibition in acetylcholinesterase. *The EMBO Journal* **2006**, *25*, 2746. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴¹ Freitas, H. F.; Paz, O. S.; Castilho, M. S. Estudos de QSAR 3D para um conjunto de inibidores de butirilcolinesterase humana. *Química Nova* **2009**, *32*, 2114. [CrossRef]
- ⁴² 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 β -amyloid peptide in rodent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **2005**, *102*, 17213. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴³ Prasad, R.; Giri, S.; Singh, A. K.; Singh, I. 15-deoxy-delta^{12,14}-prostaglandin J₂ attenuates endothelial-monocyte interaction: implication for inflammatory diseases. *Journal of Inflammation* **2008**, *5*, 51. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁴ Rocha-González, H. I.; Ambriz-Tututi, M.; Granados-Soto, V. Resveratrol: a natural compound with pharmacological potential in neurodegenerative diseases. *CNS & Neuroscience Therapeutics* **2008**, *14*, 234. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁵ Heneka, M. T.; O'Banion, M. K. J. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *Neuroimmunology* **2007**, *184*, 69. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁶ Akiyama, H.; Barger, S.; Barnum, S.; Bradt, B.; Bauer, J.; Cole, G. M.; Cooper, N. R.; Eikelenboom, P.; Emmerling, M.; Fiebich, B. L.; Finch, C. E.; Frautschy, S.; Griffin, W. S.; Hampel, H.; Hull, M.; Landreth, G.; Lue, L.; Mrak, R.; Mackenzie, I. R.; McGeer, P. L.; O'Banion, M. K.; Pachter, J.; Pasinetti, G.; Plata-Salaman, C.; Rogers, J.; Rydel, R.; Shen, Y.; Streit, W.; Strohmeyer, R.; Tooyoma, I.; Van Muiswinkel, F. L.; Veerhuis, R.; Walker, D.; Webster, S.; Wegrzyniak, B.; Wenk, G.; Wyss-Coray, T. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* **2000**, *21*, 383. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁷ Griffin, W. S.; Sheng, J. G.; Royston, M. C.; Gentleman, S. M.; Mckenzie, J. E.; Graham, D. I.; Roberts, G. W.; Mrak, R. E. Glial-neuronal interactions in Alzheimer's disease: the potential role of a 'cytokine cycle' in disease progression. *Brain Pathology* **1998**, *8*, 65. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁸ Griffin, W. S. T. J. Growth factor-mediated stabilization of amyloid precursor protein mRNA is mediated by a conserved 29-nucleotide sequence in the 3'-untranslated region. *Journal of Neurochemistry* **2000**, *74*, 52. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴⁹ Conde, J. R.; Streit, W. J. Microglia in the aging brain. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* **2006**, *65*, 199. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁰ Tan, J.; Town, T.; Paris, D.; Mori, T.; Suo, Z.; Crawford, F.; Mattson, M. P.; Flavell, R. A.; Mullan, M. Microglial activation resulting from CD40-CD40L interaction after β -amyloid stimulation. *Science* **1999**, *286*, 2352. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵¹ Fetler, L.; Amigorena, S. Brain under surveillance: the microglia. *Neuroscience* **2005**, *309*, 392. [CrossRef]
- ⁵² Combs, C. K.; Karlo, J. C.; Kao, S. C.; Landreth, G. E. β -amyloid stimulation of microglia and monocytes results in TNF α -dependent expression of inducible nitric oxide synthase and neuronal apoptosis. *Journal of Neuroscience* **2001**, *21*, 1179.

[PubMed]

- ⁵³ Candelario-Jalil, E.; Gonzalez-Falcon, A.; Garcia-Cabrera, M.; Alvarez, D.; Al Dalain, S.; Martinez, G.; Leon, O. S.; Springer, J. E. Assessment of the relative contribution of COX-1 and COX-2 isoforms to ischemia-induced oxidative damage and neurodegeneration following transient global cerebral ischemia. *Journal of Neurochemistry* **2003**, *86*, 545. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁴ Smits, H. A.; Rijmsus, A.; Van Loon, J. H.; Wat, J. W. Y.; Verhoef, J.; Boven, L. A.; Nottet, H. S. L. M. Amyloid- β -induced chemokine production in primary human macrophages and astrocytes. *Journal of Neuroimmunology* **2002**, *127*, 160. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁵ Lue, L. F.; Rydel, R.; Brigham, E. F.; Yang, L. B.; Hampel, H.; Murphy, G. M.; Brachova, L.; Yan, S. D.; Walker, D. G.; Shen, Y.; Rogers, J. Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro. *Glia* **2001**, *35*, 72. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁶ Mrak, R. E.; Griffin, W. S. Interleukin-1, neuroinflammation, and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* **2001**, *22*, 903. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁷ Rossi, F.; Bianchini, E. Synergistic induction of nitric oxide by β -amyloid and cytokines in astrocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **1996**, *225*, 474. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁸ Braidia, D.; Sacerdote, P.; Panerai, A. E.; Bianchi, M.; Aloisi, A. M.; Iosue, S.; Sala, M. Cognitive function in young and adult IL (interleukin)-6 deficient mice. *Behavioural Brain Research* **2004**, *153*, 423. [CrossRef] [PubMed]
- ⁵⁹ Sastre, M.; Walter, J.; Gentleman, S. M. Interactions between APP secretases and inflammatory mediators. *Journal of Neuroinflammation* **2008**, *5*, 25. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁰ Smith, M. A.; Richey Harris, P. L.; Sayre, L. M.; Beckman, J. S.; Perry, G. Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience* **1997**, *17*, 2653. [PubMed]
- ⁶¹ Heneka, M. T.; Wiesinger, H.; Dumitrescu-Ozimek, L.; Riederer, P.; Feinstein, D. L.; Klockgether, T. Neuronal and glial coexpression of argininosuccinate synthetase and inducible nitric oxide synthase in Alzheimer disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* **2001**, *60*, 906. [PubMed]
- ⁶² Selkoe, D. J. Alzheimer's disease results from the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid β -protein. *Journal of Alzheimer Disease* **2001**, *3*, 75. [PubMed]
- ⁶³ Snyder, E. M.; Nong, Y.; Almeida, C. G.; Paul, S.; Moran, T.; Choi, E. Y.; Nairn, A. C.; Salter, M. W.; Lombroso, P. J.; Gorras, G. K.; Greengard, P. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid- β . *Nature Neuroscience* **2005**, *8*, 1051. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁴ Kishida, K. T.; Pao, M.; Holland, S. M.; Klann, E. NADPH oxidase is required for NMDA receptor-dependent activation of ERK in hippocampal area CA1. *Journal of Neurochemistry* **2005**, *94*, 299. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁵ Kishida, K. T.; Klann, E. Sources and targets of reactive oxygen species in synaptic plasticity and memory. *Antioxidants and Redox Signaling* **2007**, *9*, 233. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁶ Shelat, P. B.; Chalimoniuk, M.; Wang, J. H.; Strosznajder, J. B.; Lee, J. C.; Sun, A. Y.; Simonyi, A.; Sun, G. Y. Amyloid beta peptide and NMDA induce ROS from NADPH oxidase and AA release from cytosolic phospholipase A₂ in cortical neurons. *Journal of Neurochemistry* **2008**, *106*, 45. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶⁷ Clemens, J. A.; Stephenson, D. T.; Smalstig, E. B.; Roberts, E. F.; Johnstone, E. M.; Sharp, J. D.; Little, S. P.; Kramer, R. M. Amyloid beta peptide and NMDA induce ROS from NADPH oxidase and AA release from cytosolic phospholipase A₂ in cortical neurons. *Stroke* **1996**, *27*, 527. [CrossRef]
- ⁶⁸ Hoozemans, J. J.; Veerhuis, R.; Rozemuller, A. J.; Eikelenboom, P. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase in Alzheimers disease. *Current Drug Targets*

- 2003**, 4, 461. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶⁹ Ankarcrona, M.; Mangialasche, F.; Winblad, B. Rethinking Alzheimer's disease therapy: are mitochondria the key? *Journal Alzheimer Disease* **2010**, 20, S579. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁰ Reddy, P. H. Mitochondria: an emerging therapeutic focus in alzheimer's disease therapy. *CNS Spectrums* **2009**, 14, 8. [[Link](#)]
- ⁷¹ Minett, T. S. C.; Bertolucci, P. H. F. Terapia colinérgica na doença de Alzheimer. *Revista Neurociências* **2000**, 8, 11. [[Link](#)]
- ⁷² Kolykhalov, I. V.; Rassadina, G. A.; Gavrilova, S. I.; Gerasimov, N. P. Cholinergic treatment of Alzheimer's disease and its influence on health and the quality of life of carers. *Neuroscience and Behavioral Physiology* **2011**, 41, 542. [[CrossRef](#)]
- ⁷³ Carreiras, M. C.; Mendes, E.; Perry, M. J.; Francisco, A. P.; Marco-Contelles, J. The multifactorial nature of Alzheimer's disease for developing potential therapeutics. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2013**, 13, 1745. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁴ Talaga, P. beta-Amyloid Aggregation Inhibitors for the Treatment of Alzheimer Disease Dream or Reality? *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2001**, 1, 175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁵ Castro, A.; Conde, S.; Rodrigues-Franco, M. I.; Martinez, A. Non-cholinergic pharmacotherapy approaches to the future treatment of Alzheimers disease. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2002**, 2, 3750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁶ Viegas Jr., C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. New Anti-Alzheimer drugs from biodiversity: The role of the natural acetylcholinesterase inhibitors. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2005**, 5, 915. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁷ Savini, L.; Campiani, G.; Gaeta, A.; Pallerano, C.; Fattorusso, C.; Chiasserini, L.; Fedorko, J. M.; Saxena, A. Novel and potent tacrine-related hetero- and homobivalent ligands for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, 11, 1779. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁸ Gemma, S.; Gabellieri, E.; Huleatt, P.; Fattorusso, C.; Borriello, M.; Catalanotti, B.; Butini, S.; De Angelis, M.; Novellino, E.; Nacci, V.; Belinskaya, T.; Saxena, A.; Campiani, G. Discovery of huperzine A-tacrine hybrids as potent inhibitors of human cholinesterases targeting their midgorge recognition sites. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49, 3421. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁷⁹ Shao, D.; Zou, C.; Luo, C.; Tang, X.; Li, Y. Synthesis and evaluation of tacrine-E2020 hybrids as acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, 4639. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁰ Alcalá, M. M.; Vivas, N. M.; Hospital, S.; Camps, P.; Munoz-Torrero, D.; Badia, A. Characterization of the anticholinesterase activity of two new tacrine-huperzine A hybrids. *Neuropharmacology* **2003**, 44, 749. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸¹ Alonso, D.; Dorronsoro, I.; Rubio, L.; Muñoz, P.; Garcia-Palomero, E.; Del Monte, M.; Bidon-Chanal, A.; Orozco, M.; Luque, F. J.; Castro, A.; Medina, M.; Martinez, A. Donepezil-tacrine hybrid related derivatives as new dual binding site inhibitors of AChE. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, 13, 6588. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸² Valenti, P.; Rampa, A.; Bisi, A.; Andrisano, V.; Cavrini, V.; Fin, L.; Buriani, A.; Giusti, P. Acetylcholinesterase inhibition by tacrine analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1997**, 7, 2599. [[CrossRef](#)]
- ⁸³ Pang, Y-P.; Quiram, P.; Jelacic, T.; Hong, F.; Brimijoin, S. Highly potent, selective, and low cost bis-tetrahydroaminacrine inhibitors of acetylcholinesterase. Steps toward novel drugs for treating Alzheimer's disease. *Journal Biological Chemistry* **1996**, 271, 23646. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁴ Carlier, P. R.; Han, Y. F.; Chow, E. S.-H.; Li, C. P.-L.; Wang, H.; Lieu, T. X.; Wong, H. S.; Pang, Y. P. Evaluation of short-tether Bis-THA AChE inhibitors. A further test of the dual

- binding site hypothesis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1999**, *7*, 351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁵ Badia, A.; Baños, J. E.; Camps, P.; Contreras, J.; Görbig, D. M.; Muñoz-Torrero, D.; Simón, M.; Vivas, N. M. Synthesis and evaluation of tacrine–huperzine a hybrids as acetylcholinesterase inhibitors of potential interest for the treatment of Alzheimer’s disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1998**, *6*, 427. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁶ Carlier, P. R.; Du, D. M.; Han, Y.; Liu, J.; Pang, Y. P. Potent, easily synthesized huperzine A-tacrine hybrid acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 2335. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁷ Marco-Contelles, J.; León, R.; Rios, C.; Guglietta, A.; Terencio, J.; Lopez, M. G.; Garcia, A. G.; Villarroya, M. Novel multipotent tacrine–dihydropyridine hybrids with improved acetylcholinesterase inhibitory and neuroprotective activities as potential drugs for the treatment of Alzheimer’s disease. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 7607. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁸ Camps, P.; Gómez, E.; Muñoz-Torrero, D.; Badia, A.; Vivas, N. M.; Barril, X.; Orozco, M.; Luque, F. J. Synthesis, *in vitro* pharmacology, and molecular modeling of *syn*-huprines as acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, *44*, 4733. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸⁹ Rios, C.; Marco, J. L.; Carreiras, M. D. C.; Chinchón, P. M.; Garcia, A. G.; Villarroya, M. Novel tacrine derivatives that block neuronal calcium channels. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2002**, *10*, 2077. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁰ McKenna, M. T.; Proctor, G. R.; Young, L. C.; Harvey, A. L. Novel Tacrine Analogues for Potential Use against Alzheimer’s Disease: Potent and Selective Acetylcholinesterase Inhibitors and 5-HT Uptake Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **1997**, *40*, 3516. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹¹ Tumiatti, V.; Minarini, A.; Bolognesi, M. L.; Milelli, A.; Rosini, M.; Melchiorre, C. Tacrine derivatives and Alzheimers disease. *Current Medicinal Chemistry* **2010**, *17*, 1825. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹² Rosini, M.; Andrisano, V.; Bartolini, M.; Bolognesi, M. L.; Hrelia, P.; Minarini, A.; Tarozzi, A.; Melchiorre, C. Rational approach to discover multipotent anti-Alzheimer drugs. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹³ Pereira, J. D.; Caricati-Neto, A.; Miranda-Ferreira, R.; Smaili, S. S.; Godinho, R. O.; de los Rios, C.; Leon, R.; Villarroya, M.; Samadi, A.; Marco-Contelles, J.; Jurkiewicz, N. H.; Garcia, A. G.; Jurkiewicz, A. Effects of novel tacripyrines ITH12117 and ITH12118 on rat vas deferens contractions, calcium transients and cholinesterase activity. *European Journal of Pharmacology* **2011**, *660*, 411. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁴ Samadi, A.; Valderas, C.; de los Rios, C.; Bastida, A.; Chioua, M.; Gonzalez-Lafuente, L.; Colmena, I.; Gandia, L.; Romero, A.; del Barrio, L.; Martin-de-Saavedra, M. D.; Lopez, M. G.; Villarroya, M.; Marco-Contelles, J. Cholinergic and neuroprotective drugs for the treatment of Alzheimer and neuronal vascular diseases. II. Synthesis, biological assessment, and molecular modeling of new tacrine analogues from highly substituted 2-aminopyridine-3-carbonitriles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2011**, *19*, 122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁵ Marco-Contelles, J.; Leon, R.; de los Rios, C.; Samadi, A.; Bartolini, M.; Andrisano, V.; Huertas, O.; Barril, X.; Luque, F. J.; Rodriguez-Franco, M. I.; Lopez, B.; Lopez, M. G.; Garcia, A. G.; Carreiras, M. C.; Villarroya, M. Tacripyrines, the first tacrine–dihydropyridine hybrids, as multitarget-directed ligands for the treatment of Alzheimer’s disease. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 2724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁹⁶ Marco-Contelles, J.; Leon, R.; de los Rios, C.; Guglietta, A.; Terencio, J.; Lopez, M. G.; Garcia, A.G.; Villarroya, M. Novel multipotent tacrine–dihydropyridine hybrids with improved acetylcholinesterase inhibitory and

- neuroprotective activities as potential drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, *49*, 7607. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁷ Marco-Contelles, J.; Leon, R.; de los Rios, C.; Garcia, A. G.; Lopez, M. G.; Villarroya, M. New multipotent tetracyclic tacrines with neuroprotective activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14*, 8176. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁸ Camps, P.; Formosa, X.; Galdeano, C.; Muñoz-Torrero, D.; Ramirez, L.; Gomez, E.; Isambert, N.; Lavilla, R.; Badia, A.; Clos, M. V.; Bartolini, M.; Mancini, F.; Andrisano, V.; Arce, M. P.; Rodriguez-Franco, M. I.; Huertas, O.; Dafni, T.; Luque, F. J. Pyrano[3,2-c]quinoline-6-chlorotacrine hybrids as a novel family of acetylcholinesterase- and β -amyloid-directed anti-Alzheimer compounds. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 5365. [CrossRef] [PubMed]
- ⁹⁹ Camps, P.; Formosa, X.; Muñoz-Torrero, D.; Petriguet, J.; Badia, A.; Clos, M. V. Synthesis and pharmacological evaluation of huprine-tacrine heterodimers: subnanomolar dual binding site acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 1701. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰⁰ Dooley, M.; Lamb, H. M. Donepezil. *Drugs and Aging* **2000**, *16*, 199. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰¹ Fuentes, P. G.; Slachevsky, A. Enfermedad de Alzheimer: actualización en terapia farmacológica an update on the pharmacological treatment of Alzheimer disease. *Revista Medica de Chile* **2005**, *133*, 224. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰² Emre, M.; Bernabei, R.; Blesa, R.; Bullock, R.; Cunha, L.; Daniëls, H.; Dziadulewicz, E.; Förstl, H.; Frölich, L.; Gabryelewicz, T.; Levin, O.; Lindsay, J.; Martínez-Lage, P.; Monsch, A.; Tsolaki, M.; Van, L. T. Drug Profile: Transdermal rivastigmine patch in the treatment of Alzheimer Disease. *CNS Neuroscience and Therapeutics*. **2010**, *16*, 246. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰³ Birks, J.; Grimley, E. J.; Lakovidou, V.; Tsolaki, M.; Holt, F. E. Rivastigmine for Alzheimer's disease. *Cochrane Database System Review* **2009**, *2*. [CrossRef]
- ¹⁰⁴ Emre, M.; Aarsland, D.; Albanese, A.; Byrne, E. J.; Deuschl, G.; Deyn, P. P.; Durif, F.; Kulisevsky, J.; Van, L. T.; Lees, A.; Poewe, W.; Robillard, A.; Rosa, M. M.; Wolters, E.; Quarg, P.; Tekin, S.; Lane, R. N. Rivastigmine for dementia associated with Parkinson's disease. *England Journal of Medicine* **2004**, *351*, 2509. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰⁵ Weinstock, M. Selectivity of cholinesterase inhibition. *CNS Drugs* **1999**, *12*, 307. [CrossRef]
- ¹⁰⁶ Goodman, L. S.; Gilman, A. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 11^a ed. Rio de Janeiro: MacGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006.
- ¹⁰⁷ Goldsmith, D. R.; Scott, L. J. Donepezil: in vascular dementia. *Drugs Aging* **2003**, *20*, 1127. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰⁸ Jackson, S.; Ham, R. J.; Wilkinson, D. The safety and tolerability of donepezil in patients with Alzheimer's disease. *British Journal of Clinical Pharmacology* **2004**, *58*, 1. [CrossRef] [PubMed]
- ¹⁰⁹ Sugimoto, H.; Ogura, H.; Arai, Y.; Limura, Y.; Yamanishi, Y. Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of acetylcholinesterase inhibitor. *The Japanese Journal of Pharmacology* **2002**, *89*, 7. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹⁰ Wilkinson, D. G.; Francis, P. T.; Schwam, E., Payne-Parrish, J. Cholinesterase inhibitors used in the treatment of Alzheimer's disease : the relationship between pharmacological effects and clinical efficacy. *Drugs Aging* **2004**, *21*, 453. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹¹ Jann, M. W.; Shirley, K. R.; Small, G. W. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of cholinesterase inhibitors. *Clinical Pharmacokinetics* **2002**, *41*, 719. [CrossRef] [PubMed]
- ¹¹² Rogers, S. L.; Friedhoff, L. T. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of donepezil HCl following single oral

- doses. *British Journal of Clinical Pharmacology* **1998**, *46*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹³ Viegas Jr., C.; Bolzani, V. S.; Pimentel, L. S. B.; Castro, N. G.; Cabral, R. F.; Costa, R. S.; Floyd, C.; Rocha, M. S.; Young, M. C. M.; Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. New selective acetylcholinesterase inhibitors designed from natural piperidine alkaloids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13*, 4184. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁴ Piau, A.; Nourhashemmi, F.; Hein, C.; Caillaud, C.; Vellas, B. Progress in the development of new drugs in Alzheimer's disease. *The Journal of Nutrition Health and Aging* **2010**, *15*, 45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁵ Morphy, R.; Kay, C.; Rankovic, Z. From magic bullets to designed multiple ligands. *Drug Discovery Today* **2004**, *9*, 641. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁶ Morphy, R.; Rankovic, Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. *Journal of Medicinal Chemistry* **2005**, *48*, 6523. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁷ Wertheimer, A. I. The economics of polypharmacology: fixed dose combinations and drug cocktails. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁸ Bolognesi, M. L. Polypharmacology in a single drug: multitarget drugs. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1639. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹⁹ Torres, A. A.; Sollhuber, M.; Fernandez, M.; Sanchez-Montero, J. M. Multi-target-directed ligands and other therapeutic strategies in the search of a real solution for Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology* **2014**, *12*, 2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁰ Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M. New insights for multifactorial disease therapy: the challenge of the symbiotic drugs. *Current Drug Therapy* **2008**, *3*, 1. [[CrossRef](#)]
- ¹²¹ Munoz-Torrero, D. Complexity against complexity: multitarget drugs. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1623. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²² Van der Schyf, C. J.; Geldenhuys, W. J. Rationally designed multi-targeted agents against neurodegenerative diseases. *Current Medicinal Chemistry* **2013**, *20*, 1662. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²³ Carmo, C. M.; Mendes, E.; Perry, M. J.; Francisco, A. P.; Marco-Contelles, J. The multifactorial nature of Alzheimer's disease for developing potential therapeutics. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2013**, *13*, 1745. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁴ Dias, K. S. T.; Viegas Jr., C. Multi-target directed drugs: a modern approach for design of new drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology* **2014**, *12*, 239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁵ Mangialasche, F.; Solomon, A.; Winblad, B.; Mecocci, P.; Kivipelto, M. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurology* **2010**, *9*, 702. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁶ Youdim, M. B. H.; Buccafusco, J. J. Multi-functional drugs for various CNS targets in the treatment of neurodegenerative disorders. *Trends in Pharmacology Sciences* **2005**, *26*, 27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁷ Bolognesi, M. L.; Matera, R.; Minarini, A.; Rosini, M.; Melchiorre, C. Alzheimer's disease: new approaches to drug discovery. *Current Opinion Chemical Biology* **2009**, *13*, 303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁸ Rizzo, S.; Tarozzi, A.; Bartolini, M.; Da Costa, G.; Bisi, A.; Gobbi, S.; Belluti, F.; Ligresti, A.; Allarà, M.; Monti, J. P.; Andrisano, V.; Di Marzo, V.; Hrelia, P.; Rampa, A. 2-Arylbenzofuran-based molecules as multipotent Alzheimer's disease modifying agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *58*, 519. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹²⁹ Jin-Wu Y.; Yan-Ping, L.; Wen-Jie, Y.; Shuo-Bin, C.; Jin-Qiang, H.; Jia-Heng, T.; Tian-Miao, O.; Ding, L.; Lian-Quan, Gu.; Zhi-Shu, H. Design, synthesis and evaluation of isaindigotone derivatives as dual inhibitors for acetylcholinesterase and amyloid beta

- aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2012**, *20*, 2527. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁰ Cavalli, A.; Bolognesi, M. L.; Minarini, A.; Rosini, M.; Tumiatti, V.; Recanatini, M.; Melchiorre, C. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *51*, 347. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³¹ Viegas-Jr., C.; Danuello, A.; Bolzani, V.S.; Barreiro, E.J.; Fraga, C. A. M. Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. *Current Medicinal Chemistry* **2007**, *14*, 1829. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³² Mao, F.; Chen, J.; Zhou, Q.; Luo, Z.; Huang, L.; Li, X. Novel tacrine–ebselen hybrids with improved cholinesterase inhibitory, hydrogen peroxide and peroxyxynitrite scavenging activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 6737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³³ Thiratmatrakul, S.; Yenjai, C.; Waiwut, P.; Vajragupta, O.; Reubroycharoen, P.; Tohda, M.; Boonyarat, C. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of novel tacrine–carbazole hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *75*, 21. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁴ Chen, Y. Y.; Sun, J.; Peng, S.; Liao, H.; Zhang, Y.; Lehmann, J. Tacrine–flurbiprofen hybrids as multifunctional drug candidates for the treatment of Alzheimer's disease. *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Science* **2013**, *346*, 865. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁵ Pérez, V.; Romera, M.; Lizcano, J. M.; Marco, J. L.; Unzeta, M. Protective effect of N-(2-propynyl)-2-(5-benzyloxy-indolyl) methylamine (PF 9601N), a novel MAO-B inhibitor, on dopamine-lesioned PC12 cultured cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2003**, *55*, 713. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁶ Sanz, E.; Quintana, A.; Hidalgo, J.; Marco, J. L.; Unzeta, M. PF9601N [N-(2-propynyl)-2-(5-benzyloxy-indolyl) methylamine] confers MAO-B independent neuroprotection in ER stress-induced cell death. *Molecular and Cellular Neuroscience* **2009**, *41*, 19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁷ Samadi, A.; Marco-Contelles, J. L.; Bolea, I.; Luque, F. J.; Unzeta, M. **2012**. (ES Patent 201030404).
- ¹³⁸ Bolea, I.; Juárez-Jiménez, J.; de Los Ríos, C.; Chioua, M.; Pouplana, R.; Luque, F. J. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of donepezil and N-[(5-(Benzyloxy)-1-methyl-1H-indol-2-yl)methyl]-N-methylprop-2-yn-1-amine hybrids as new multipotent cholinesterase/monoamine oxidase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54*, 8251. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³⁹ Bolea, I.; Gella, A.; Monjas, L.; Pérez, C.; Franco, M. I. R.; Contelles, J. M.; Samadi, A.; Unzeta, M. Multipotent, permeable drug ASS234 inhibits A β aggregation, possesses antioxidant properties and protects from A β -induced apoptosis in vitro. *Current Alzheimer Research* **2013**, *9*, 797. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴⁰ Bautista-Aguilera, O. M.; Esteban, G.; Bolea, I.; Nikolic, K.; Agbaba, D.; Moraleda, I.; Iriepa, I.; Samadi, A.; Soriano, E.; Unzeta, M.; Contelles, J. M. Design, synthesis, pharmacological evaluation, QSAR analysis, molecular modeling and ADMET of novel donepezil–indolyl hybrids as multipotent cholinesterase/monoamine oxidase inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *75*, 82. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴¹ Zheng, H.; Youdim, M. B. H.; Fridkin, M. Site-activated multifunctional chelator with acetylcholinesterase and neuroprotective–neurorestorative moieties for Alzheimer's therapy. *Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, *52*, 4095. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴² Tirosh, Y. A.; Amit, T.; Am, O. B.; Zheng, H.; Fridkin, M.; Youdim, M. B. H. Therapeutic targets and potential of the novel brain-permeable multifunctional iron chelator–

- monoamine oxidase inhibitor drug, M-30, for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry* **2007**, *100*, 490. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴³ Wang, Li.; Esteban, G.; Ojima, M.; Aguilera, O. M. B.; Inokuchi, T.; Moraleda, I.; Iriepa, I.; Samadi, A.; Youdim, M. B. H.; Romero, A.; Soriano, E.; Herrero, R.; Fernández, A. P. F.; Martínez, M. R.; Contelles, J. M.; Unzeta, M. Donepezil + propargylamine + 8-hydroxyquinoline hybrids as new multifunctional metal-chelators, ChE and MAO inhibitors for the potential treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *80*, 543. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴⁴ Ozer, E. O.; Tan, O. U.; Ozadali, K.; Kucukkilinc, T.; Balkan, A.; Ucar, G. Synthesis, molecular modeling and evaluation of novel N'-2-(4-benzylpiperidin-/piperazin-1-yl) acylhydrazone derivatives as dual inhibitors for cholinesterases and A β aggregation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 440. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴⁵ Fang, L.; Fang, X.; Gou, S.; Lupp, A.; Lenhardt, I.; Sun, Y.; Huang, Z.; Chen, Y.; Zhang, Y.; Fleck, C. Design, synthesis and biological evaluation of D-ring opened galantamine analogs as multifunctional anti-Alzheimer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *76*, 376. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴⁶ Sahoo, A.; Yabanoglu, S.; Sinha, B. N.; Ucar, G.; Basu, A.; Jayaprakash, V. Towards development of selective and reversible pyrazoline based MAO-inhibitors: synthesis, biological evaluation and docking studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2010**, *20*, 132. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴⁷ Mishra, N.; Sasmal, D.; Singh, K. K. Attenuating A β 1-42-induced toxicity by a novel acetylcholinesterase inhibitor. *Neuroscience* **2013**, *250*, 309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴⁸ Ji, H. F.; Shen, L. Berberine: A Potential multipotent natural product to combat Alzheimer's disease. *Molecules* **2011**, *16*, 6732. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁴⁹ Xu, Z. C.; Wang, X. B.; Yu, W. Y.; Xie, S. S.; Li, S. Y.; Kong, L. Y. Design, synthesis and biological evaluation of benzylisoquinoline derivatives as multifunctional agents against Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2014**, *24*, 2368. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵⁰ Huang, L.; Luo, Z.; He, F.; Lu, J.; Li, X. Synthesis and biological evaluation of a new series of berberine derivatives as dual inhibitors of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, *18*, 4475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵¹ Su, T.; Xie, S.; Wei, H.; Yan, J.; Huang, L.; Li, X. Synthesis and biological evaluation of berberine-thiophenyl hybrids as multifunctional agents: Inhibition of acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and A β aggregation and antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21*, 5830. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵² Yuan, W.; Shang, Z.; Qiang, X.; Tan, Z.; Deng, Y. Synthesis of pterostilbene and resveratrol carbamate derivatives as potential dual cholinesterase inhibitors and neuroprotective agents. *Research on Chemical Intermediates* **2014**, *40*, 787. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵³ Li, S. Y.; Wang, X. B.; Kong, L. Y. Design, synthesis and biological evaluation of imine resveratrol derivatives as multi-targeted agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *71*, 36. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵⁴ Pan, L. F.; Wang, X. B.; Xie, S. S.; Li, S. Y.; Kong, L. Y. Multitarget-directed resveratrol derivatives: anti-cholinesterases, anti- β -amyloid aggregation and monoamine oxidase inhibition properties against Alzheimer's disease. *Medical Chemistry Communications* **2014**, *5*, 609. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵⁵ Lu, C.; Guo, Y.; Yan, J.; Luo, Z.; Luo, H. B.; Yan, M.; Huang, L.; Li, X. Design, synthesis, and evaluation of multitarget-directed resveratrol derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *56*, 5843. [[CrossRef](#)]

[PubMed]

¹⁵⁶ Prati, F.; Bartolini, M.; Simoni, E.; Simone, A.; Pinto, A.; Andrisano, V.; Bolognesi, M. L. Quinones bearing non-steroidal anti-inflammatory fragments as multitarget ligands for Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23*, 6254. [CrossRef] [PubMed]

¹⁵⁷ Ikonovic, M. D.; Abrahamson, E. E.; Uz, T.; Manev, H.; Dekosky, S. T. Increased 5-lipoxygenase immunoreactivity in the hippocampus of patients with Alzheimer's disease. *Journal of Histochemistry Cytochemistry* **2008**, *56*, 1065. [CrossRef] [PubMed]

¹⁵⁸ Chen, Y.; Zhang, Z.; Li, Y.; Li, D.; Huang, S.; Gu, L.; Xu, J.; Huang, Z. Syntheses and evaluation of novel isoliquiritigenin derivatives as potential dual inhibitors for amyloid-beta aggregation and 5-

lipoxygenase. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2013**, *66*, 22. [CrossRef] [PubMed]

¹⁵⁹ Viayna, E.; Sola, I.; Bartolini, M.; De Simone, A.; Tapia-Rojas, C.; Serrano, F. G.; Sabaté, R.; Juárez-Jiménez, J.; Pérez, B.; Luque, F. J.; Andrisano, V.; Victòria Clos, M.; Inestrosa, N. C.; Muñoz-Torrero, D. Synthesis and multitarget biological profiling of a novel family of Rhein derivatives as disease-modifying anti-Alzheimer agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *57*, 2549. [CrossRef] [PubMed]

¹⁶⁰ Qiang, X.; Sang, Z.; Yuan, W.; Li, Y.; Liu, Q.; Bai, P.; Shi, Y.; Ang, W.; Tan, Z.; Deng, Y. Design, synthesis and evaluation of genistein-o-alkylbenzylamines as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2014**, *76*, 314. [CrossRef] [PubMed]