



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102017027609-0 A8



(22) Data do Depósito: 20/12/2017

(43) Data da Publicação Nacional: 09/07/2019

(54) **Título:** MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS TACRINA E DERIVADOS DE CARBOIDRATOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE SÍNTESE E SEUS USOS

(51) **Int. Cl.:** C07D 405/12; A61P 25/28.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL; LABORATÓRIO NACIONAL DE COMPUTAÇÃO CIENTÍFICA - LNCC; UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO - UFRRJ.

(72) **Inventor(es):** MARCO ANTONIO CESCHI; DIOGO SEIBERT LÜDTKE; JOÃO PAULO BIZARRO LOPES; LUANA SILVA; GABRIELA DA COSTA FRANARIN; CRISTIANE MARTINS CARDOSO DE SALLES; LAURENT EMMANUEL DARDENNE; ISABELLA ALVIM GUEDES; MARIO ROBERTO SENGER; RAFAEL FERREIRA DANTAS; FLORIANO PAES SILVA JUNIOR.

(57) **Resumo:** A presente invenção descreve uma molécula híbrida baseada em núcleos de tetraidroacridina e derivados de carboidratos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, via reação de substituição nucleofílica, uma composição farmacêutica compreendendo esta molécula, um processo de síntese desta molécula, e seus usos. A presente invenção se situa nos campos da Química Medicinal, Farmacologia e Medicina.

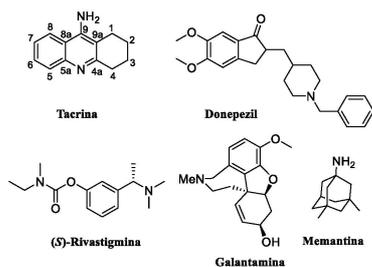


Figura 1

Relatório Descritivo de Patente de Invenção

MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS TACRINA E DERIVADOS DE CARBOIDRATOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE SÍNTESE E SEUS USOS

CAMPO DA INVENÇÃO

[1] A presente invenção descreve uma molécula híbrida baseada em núcleos de tetraidroacridina e derivados de carboidratos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, via reação de substituição nucleofílica, uma composição farmacêutica compreendendo esta molécula, um processo de síntese desta molécula, e seus usos. A presente invenção se situa nos campos da Química Medicinal, Farmacologia e Medicina.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[2] A doença de Alzheimer (DA) é uma patologia neurodegenerativa que causa perda progressiva e irreversível das funções cognitivas, sendo a forma mais comum de demência entre idosos. Segundo estimativas, em 2015 cerca de 46 milhões de pessoas possuíam a doença no mundo e os casos devem ultrapassar 140 milhões até 2050. (Jameel, E.; *et al.*; *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *136*, 36). A DA é uma enfermidade de causa ainda desconhecida e o principal fator de risco associado é a idade avançada. A presença do gene da alipoproteína E (ApoE4) é o principal fator genético de risco ao desenvolvimento da DA e estudos têm mostrado que ele está associado à liberação e agregação de A β . (Liao, F.; Yoon, H.; Kim, J., *Current Opinion in Lipidology* **2017**, *28*, 60). Entretanto, outros fatores como hipertensão, depressão, diabetes e pouca atividade física e cognitiva também podem contribuir para o desenvolvimento da doença. (Tumiatti, V.; Minarini, A.; Bolognesi, M. L.; Milelli, A.; Rosini, M.; Melchiorre, C.; *Current Medicinal Chemistry* **2010**, *17*,1825).

[3] A importância socioeconômica do desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para a DA supera os possíveis riscos e os custos de desenvolvimento. Somente nos Estados Unidos, entre 2010 e 2011, os prejuízos econômicos causados pela DA superaram os 215 bilhões de dólares. De acordo com relatórios recentes, a venda de drogas para o tratamento da doença de Alzheimer pode chegar a 8,3 bilhões de dólares em 2017 (Bachurin, S.O; Bovina, E.V.; Ustyugov, A.A.; *Med. Chem. Rev.* **2017**, *37*, 1186). A melhora da capacidade cognitiva através da utilização de um

inibidor reversível das enzimas colinesterases (ChEI), consiste atualmente na principal estratégia terapêutica para o tratamento sintomático da doença de Alzheimer (DA). (Sameem, B.; Saedi, M.; Mahdavi, M.; Shafiee, A.; *Eur. J. Med. Chem.*, **2017**, *128*, 332). A tacrina (Cognex®) foi o primeiro fármaco aprovado para o tratamento da DA, entretanto encontra-se em desuso devido ao alto efeito hepatotóxico. Neste contexto, outros compostos do tipo inibidores de colinesterase têm sido estudados com fins de melhorar o efeito terapêutico e diminuir os efeitos colaterais. Outras três drogas do tipo ChEI encontram-se no mercado para o tratamento da DA, a Rivastigmina (Exelon®), a galantamina (Razadyne®, Reminyl®) e o donepezil (Aricept®), além da memantina (Namenda®), que age como antagonista dos receptores de *N*-metil-D-aspartato (NMDA) (Figura 1). Entretanto, essas drogas também possuem benefícios limitados para o uso terapêutico, tendo efeitos colaterais, tais como diarreia, tonturas, sonolência, perda de peso, entre outros, além de doses que necessitam de aumento progressivo com o avanço da doença. (Kozurkova, M.; Hamulakova, S.; Gazova, Z.; Paulikova, H.; Kristian, P.; *Pharmaceuticals* **2011**, *4*, 382)

[4] No contexto da busca por novos fármacos mais eficientes e com menos efeitos colaterais que os disponíveis no mercado atualmente, protótipos análogos aos fármacos anti-Alzheimer têm sido estudados na literatura, contendo principalmente derivados da tacrina. (Matias, M.; Silvestre, S.; Falcão, A.; Alves, G.; *Mini-Rev. Med. Chem.*, **2017**, *17*, 486). Por sua facilidade de síntese e sua elevada afinidade com o sítio ativo da AChE, a tacrina é uma estrutura de referência, ainda amplamente empregada como núcleo na construção de novas moléculas, com o objetivo de encontrar fármacos mais potentes e mais seguros. (WO2001017529-A1; Sameem, B.; Saedi, M.; Mahdavi, M.; Shafiee, A.; *Eur. J. Med. Chem.*, **2017**, *128*, 332). Em 1996 Pang e colaboradores realizaram a síntese de compostos do tipo bis(*n*)-tacrina, que são moléculas com duas unidades do núcleo tacrina ligadas por uma cadeia espaçadora de carbonos metilênicos. (Pang, Y. P.; Quiram, P.; Jelacic, T.; Hong, F.; Brimijoin, S.; *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 23646). Os dímeros da tacrina são potenciais fármacos para o tratamento da DA devido ao aumento do potencial inibidor e a especificidade do alvo, que foi resultado da ligação de duas unidades, permitindo a ação simultânea nos CAS e PAS da AChE. (WO2004032929-A2). Estudos conformacionais dos dímeros bis-tacrina indicaram que o espaçamento de sete carbonos metilênicos permite uma distância de 18 Å entre os átomos de nitrogênio de cada molécula de tacrina, bem próximo do valor de 16 Å entre o CAS e o PAS, determinado em estudos computacionais (Yu, H. *et al.*; *Pharm. Biom. Anal.*, **2008**, *46*, 75) (Figura 2).

[5] Devido à complexidade da doença de Alzheimer, por seu caráter multifatorial, há grande interesse da comunidade científica no *design* de moléculas “multialvo”, que possam interagir

simultaneamente com diferentes fatores da doença, de maneira a impedir o seu progresso mais do que apenas mitigar seus sintomas. (WO2014206877-A1). A hibridização molecular, que consiste no planejamento de novos protótipos de fármacos mais eficazes combinando dois ou mais núcleos bioativos, permite agregar ao híbrido diferentes grupos farmacofóricos e assim, modular simultaneamente múltiplos alvos de doenças multifatoriais, tal como a doença de Alzheimer. Essa estratégia geralmente envolve a síntese de compostos híbridos que possuem em uma única molécula dois ou mais núcleos de interesse farmacológico, dos quais, geralmente, um é do tipo inibidor da enzima acetilcolinesterase (AChEI) (Michalska, P.; Buendia, I.; del Barrio, L.; Leon, R.; *Curr. Top. Med. Chem.* **2017**, *17*, 1027).

[6] As enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE) são serino hidrolases amplamente encontradas em várias espécies animais. A AChE é encontrada no cérebro e nas junções neuromusculares e age em células pós-sinápticas, realizando a hidrólise da acetilcolina e encerrando a transmissão do impulso nervoso. (Dvir, H.; Silman, I.; Harel, M.; Rosenberry, T. L.; Sussman, J. L., *Chem.-Bio. Interact.* **2010**, *187*, 10). A butirilcolinesterase, também conhecida como pseudocolinesterase, é sintetizada no fígado e encontrada em todo o plasma, podendo hidrolisar vários ésteres carboxílicos e fosfóricos. (Çokuğraş, A. N.; *Turk. J. Biochem.* **2003**, *28*, 54). Além disso, é sugerida sua participação no mecanismo regulatório da AChE, substituindo-a quando necessário na sinapse colinérgica. Estudos têm mostrado que a razão BuChE/AChE eleva com o progresso da DA, com o aumento significativo da BuChE no hipocampo e córtex temporal, o que deve favorecer o uso de inibidores seletivos de BuChE em tratamentos de formas moderadas a avançadas de DA (Li, Q.; Yang, H. Y.; Chen, Y.; Sun, H. P.; *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *132*, 294).

[7] Recentemente nosso grupo sintetizou uma série de híbridos conectando a tacrina com o fármaco tianeptina (Stablon®), utilizado como anti-depressivo, esses compostos foram chamados de híbridos tacrina-tianeptina e inibiram as enzimas AChE e BuChE com IC₅₀ na escala nanomolar. Cálculos computacionais mostraram que a atividade anticolinesterase diminui com o aumento da cadeia espaçadora, o que também foi verificado nos testes *in vitro*. Verificou-se também que os compostos obtidos não afetaram a integridade celular e, além disso, foram capazes de reduzir a secreção basal da proteína S100B, cujo alto nível de secreção está associado a neuropatologias. (Ceschi, M. A.; *et al.*; *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *121*, 758; BR1020150326).

[8] Métodos computacionais de *docking* molecular receptor-ligante são de grande importância para o planejamento e desenho de novos fármacos. Estes métodos buscam prever o modo de ligação e a afinidade de um candidato a fármaco dentro do sítio ativo de um receptor alvo envolvido em alguma doença investigada (Guedes, I. A., de Magalhães, C. S. & Dardenne, L. E.; *Biophys. Rev.*

2014, 6, 75–87). Estudos de *docking* molecular em larga escala, conhecidos como triagem virtual, têm sido frequentemente utilizados na busca de novos compostos candidatos a fármacos como forma de otimizar o tempo e o custo do desenvolvimento de novos fármacos (Matter, H. & Sotriffer, C. Applications and Success Stories in Virtual Screening. in *Methods and Principles in Medicinal Chemistry* (ed. Sotriffer, C.) 319–358; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2011; Kumar, V., Krishna, S., Siddiqi, M. I.; *Methods* 2015, 71, 64–70). Nesta abordagem, realiza-se o *docking* molecular utilizando bibliotecas contendo milhares/milhões de moléculas em um ou mais alvos de interesse, com o objetivo de selecionar as moléculas candidatas mais promissoras para serem enviadas para estudos experimentais de avaliação de atividade.

[9] O programa GOLD é um dos mais utilizados para estudos de *docking* proteína-ligante Jones, (G., Willett, P., Glen, R. C., Leach, A. R. & Taylor, R.; *J. Mol. Biol.* 1997, 267, 727–748) sendo bastante competitivo em diversos estudos comparativos. Além disso, a função de avaliação empírica ChemPLP tem se destacado como uma das mais robustas funções de avaliação lineares disponíveis atualmente, demonstrando boa capacidade preditiva tanto para a identificação do modo de ligação experimental quanto para a predição da afinidade proteína-ligante.

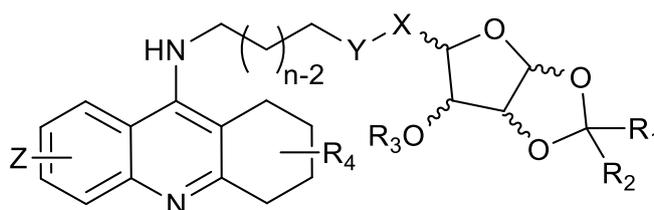
[10] Evidenciando a crescente busca por novos fármacos multialvo para o tratamento da doença de Alzheimer, neste trabalho o núcleo do fármaco tacrina foi conectado por uma cadeia espaçadora metilênica a um núcleo derivado de carboidrato, com o objetivo de agregar novas interações enzima-substrato e também aumentar a biocompatibilidade dos compostos. Os carboidratos (ou açúcares) são as biomoléculas mais abundantes na natureza e a atividade biológica dessas moléculas é tão inerente à sua classificação (biomolécula) quanto notória pelas inúmeras atividades essenciais à vida, como componentes estruturais básicos dos seres-vivos desde o DNA (Nelson, D. L.; Cox, M. M., *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6ª ed.; Porto Alegre, 2014). Devido à alta afinidade com o organismo e a solubilidade em meio biológico, os açúcares têm desempenhado um papel cada vez mais importante na indústria farmacêutica, principalmente com atividade antibiótica. (WO 2004035062-A1). Recentemente, estudos têm indicado que gangliosídeos, glicoconjugados componentes da membrana celular, interagem com a proteína β -amilóide ($A\beta$), promovendo e facilitando a sua agregação. Sendo assim, compostos que dificultem a interação gangliosídeo- $A\beta$ podem ser potenciais alvos terapêuticos no tratamento da doença de Alzheimer. Desta forma, por sua similaridade estrutural, carboidratos são potenciais candidatos. (Kamiya, Y.; Yagi-Utsumi, M.; Yagi, H.; Kato, K.; *Curr. Pharm. Des.* 2011, 17, 1672).

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[11] Dessa forma, a presente invenção tem por objetivo resolver os problemas constantes no estado da técnica a partir de uma nova molécula híbrida baseada em núcleos de tetraidroacridina (tacrina) e carboidratos ou derivados de carboidratos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, via reação de substituição nucleofílica.

[12] Em um primeiro objeto a presente invenção apresenta uma molécula híbrida, com as seguintes possíveis estruturas:

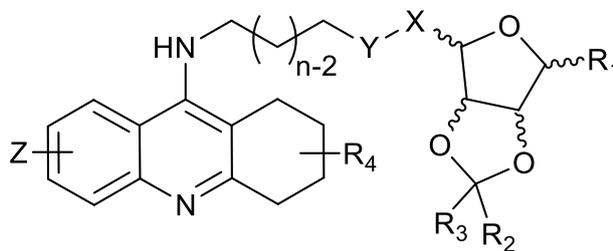
- a. Híbrido contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato D-xilose, um derivado do carboidrato D-xilose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- R_1 , R_2 e R_4 são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- R_3 é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH_2), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH_2 , NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n” pode variar entre 1 e 20;

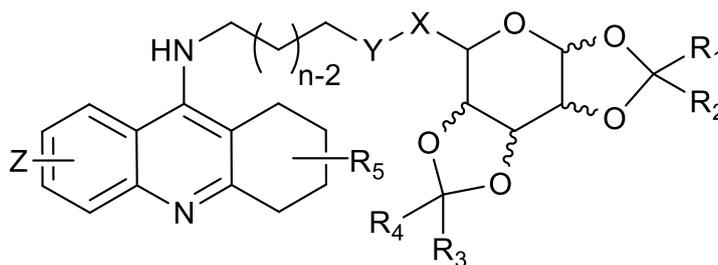
b. Híbrido contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato D-ribose, um derivado do carboidrato D-ribose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, OH, OMe, OEt, OAc, OBn, alcóxi, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n” pode variar entre 1 e 20;

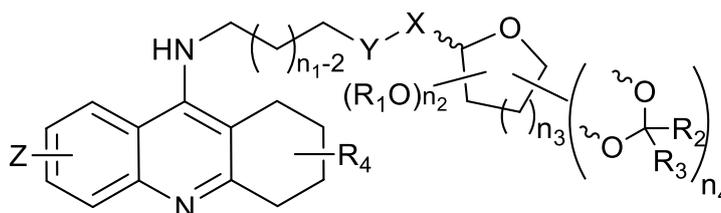
c. Híbrido contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato D-galactose, um derivado do carboidrato D-galactose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- R₁, R₂, R₃, R₄ e R₅ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n” pode variar entre 1 e 20;

[13] De uma forma geral, a presente invenção apresenta uma molécula híbrida, contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato ou um derivado de carboidrato, apresentando a seguinte estrutura:



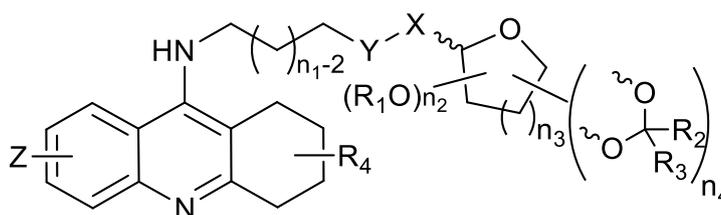
em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n₁” pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

[14] Deve ser apreciado que o escopo dessa invenção não está limitado a carboidratos cujos grupos hidroxila possuem o mesmo grupo protetor;

[15] Deve ser apreciado que o escopo dessa invenção não está limitado a híbridos cuja conexão da cadeia metilênica ocorre na posição anomérica do carboidrato;

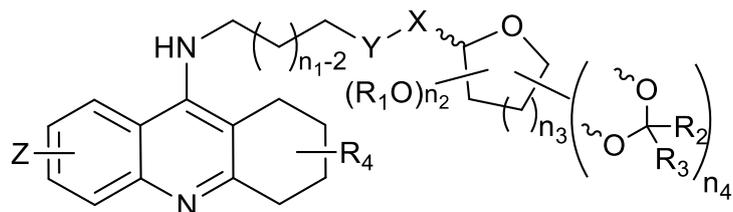
[16] Em um segundo objeto a presente invenção apresenta uma a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica que compreende uma molécula híbrida com a seguinte estrutura:



em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de "n₁" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

[17] Em um terceiro objeto, a presente invenção apresenta um processo de síntese de uma molécula híbrida, em que o processo compreende uma reação de substituição nucleofílica, e em que a molécula híbrida possui a seguinte estrutura:



em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de "n₁" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

[18] Em um quarto objeto, a presente invenção apresenta o uso da dita molécula híbrida para inibir enzimas colinesterases.

[19] Em um quinto objeto, a presente invenção apresenta o uso da dita molécula híbrida na preparação de um medicamento para tratar a Doença de Alzheimer.

[20] Ainda, o conceito inventivo comum a todos os contextos de proteção reivindicados é a molécula híbrida baseada em núcleos de tetraidroacridina (tacrina) e carboidratos ou derivados de carboidratos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, via reação de substituição nucleofílica.

[21] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[22] Com o intuito de melhor definir e esclarecer o conteúdo do presente pedido de patente, são apresentadas as presente figuras:

[23] Na Figura 1 são mostradas as estruturas dos fármacos utilizados no tratamento da DA atualmente disponíveis no mercado.

[24] Na Figura 2 é mostrada a ação do bis-tacrina nos dois sítios da enzima acetilcolinesterase, CAS e PAS.

[25] Na Figura 3 são mostrados os esquemas para a síntese dos híbridos tacrina-derivados de carboidratos através de reação de substituição nucleofílica.

[26] Na Figura 4, 5, 6 e 7 são apresentados os espectros de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) (acima) e de ^{13}C (CDCl_3 , 300 MHz) (abaixo) dos compostos **1a**, **1b**, **1c** e **1d**, respectivamente.

[27] Na figura 8 é mostrado um esquema para a obtenção dos intermediários derivados da tacrina **5a** e **5b**.

[28] Na Figura 9 é mostrado um esquema para a obtenção dos intermediários tosilados derivados dos carboidratos D-xilose, D-ribose e D-galactose, **2**, **3** e **4**, respectivamente.

[29] Na Figura 10 é mostrado o resultado de docking do composto **1d** na AChE::1ZGC (A) e na BuChE::5K5E (B). As linhas tracejadas representam as ligações de hidrogênio (amarelo) e os possíveis contatos favoráveis (laranja).

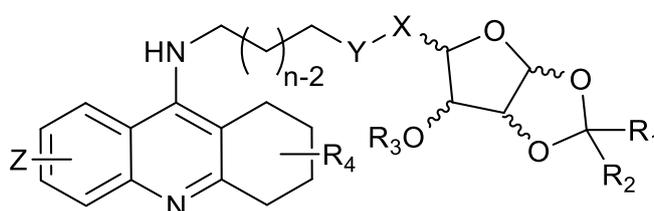
[30] Na Figura 11 é mostrada a interação entre o anel derivado da D-galactose do inibidor **1d** com o Trp276 do PAS na conformação 1ZGC da AChE. Possíveis interações CH/π estão representadas como linhas pontilhadas azuis.

[31] Na Figura 12 interação entre a galactose e o grupo dioxol do inibidor **1d** com a Ser70 localizada na entrada da cavidade da enzima BChE (PDB ID 5K5E). Ligações de hidrogênio estão representadas como linhas pontilhadas amarelas.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[32] Em um primeiro objeto a presente invenção apresenta uma molécula híbrida, com as seguintes possíveis estruturas:

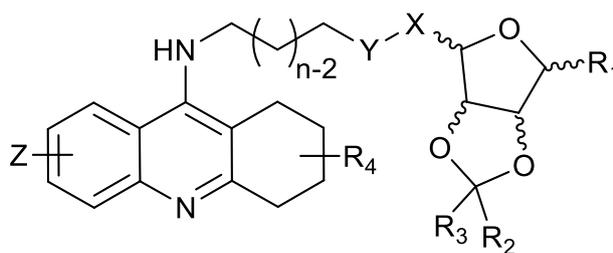
a. Híbrido contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato D-xilose, um derivado do carboidrato D-xilose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- R₁, R₂ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- R₃ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n” pode variar entre 1 e 20;

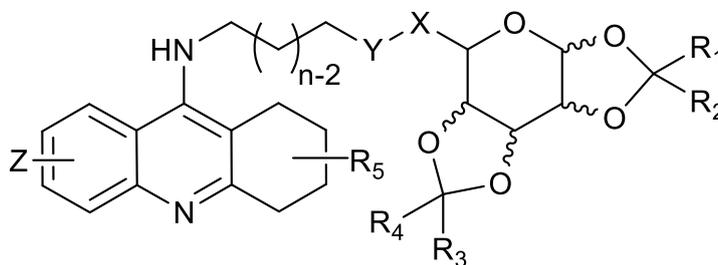
b. Híbrido contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato D-ribose, um derivado do carboidrato D-ribose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- R_1 é selecionado entre os grupos H, OH, OMe, OEt, OAc, OBn, alcóxi, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R_2 , R_3 e R_4 são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH_2), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH_2 , NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n” pode variar entre 1 e 20;

c. Híbrido contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato D-galactose, um derivado do carboidrato D-galactose ou um dos seus estereoisômeros:

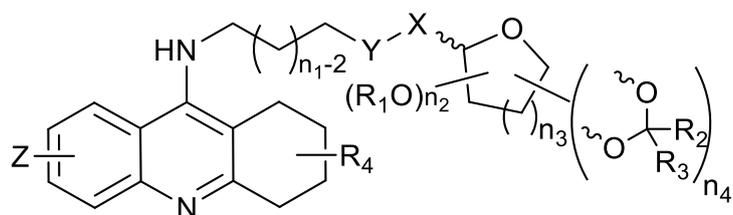


em que:

- R_1 , R_2 , R_3 , R_4 e R_5 são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;

- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n” pode variar entre 1 e 20;

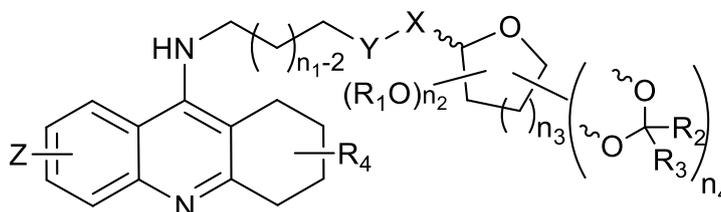
[33] De uma forma geral, a presente invenção apresenta uma molécula híbrida, contendo um núcleo baseado em tetraidroacridina e um núcleo carboidrato ou um derivado de carboidrato, apresentando a seguinte estrutura:



em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de “n₁” pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

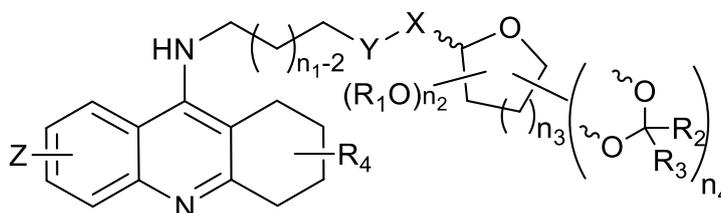
[34] Em um segundo objeto, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica que compreende uma molécula híbrida com a seguinte estrutura:



em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de "n₁" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

[35] Em um terceiro objeto, a presente invenção apresenta um processo de síntese de uma molécula híbrida, em que o processo compreende uma reação de substituição nucleofílica, e em que a molécula híbrida possui a seguinte estrutura:



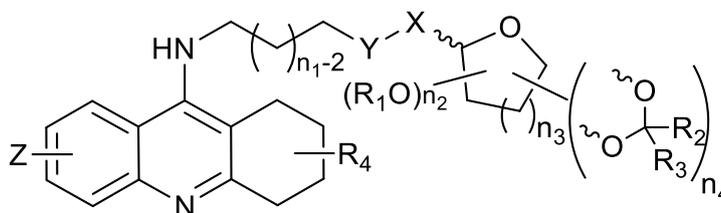
em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de "n₁" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

[36] Em um quarto objeto, a presente invenção apresenta o uso da dita molécula híbrida para inibir enzimas colinesterases.

[37] Em um sexto objeto, a presente invenção apresenta o uso da dita molécula híbrida na preparação de um medicamento para tratar a Doença de Alzheimer.

[38] Em uma concretização, a presente invenção apresenta a dita molécula com núcleo híbrido com a seguinte estrutura:



em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;

- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de "n₁" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

[39] Em uma concretização, a presente invenção apresenta a dita molécula híbrida em que a dita molécula inibe enzimas colinesterases.

[40] Em uma concretização, a presente invenção apresenta a dita molécula híbrida por ser utilizada na preparação de um medicamento para tratar a Doença de Alzheimer.

[41] Em uma concretização, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica que compreende a dita molécula híbrida em uma concentração de 0,01 µM até 0,1 µM.

[42] Em uma concretização, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica que compreende a dita molécula híbrida que é capaz de inibir enzimas colinesterases.

[43] Em uma concretização, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica que compreende a dita molécula híbrida por ser utilizada na preparação de um medicamento para tratar a Doença de Alzheimer.

[44] Em uma concretização, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica que compreende a dita molécula híbrida, em que a composição farmacêutica compreende um veículo farmacologicamente aceitável.

[45] Em uma concretização, a presente invenção apresenta o dito processo de síntese de uma molécula híbrida, em que o processo compreende uma reação de substituição nucleofílica.

[46] Em uma concretização, a presente invenção apresenta o dito processo de síntese de uma molécula híbrida, em que o processo compreende uma reação de substituição nucleofílica em um solvente selecionado entre isopropanol, etanol, clorofórmio, acetonitrila, acetona, dimetilformamida (DMF).

[47] A composição farmacêutica, em um veículo farmacologicamente aceitável, poderia auxiliar no tratamento de doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer, e também com uso multifatorial para outros distúrbios, incluindo estresse oxidativo, que possui efeito neurodegenerativo.

Exemplos:

[48] Neste trabalho, o fármaco tacrina e núcleos derivados de carboidratos foram escolhidos como núcleos estruturais para a síntese de novos híbridos tacrina-derivados de carboidratos, com o objetivo de agregar novas interações enzima-substrato e também agregar em um mesmo composto diferentes grupos farmacofóricos bioativos.

[49] O processo de preparo de híbridos de acordo com a presente invenção baseia-se na reação de substituição nucleofílica entre 9-alkilamino-1,2,3,4-tetraidroacridinas e derivados tosilados de carboidratos, como descrito na Figura 3.

[50] Avaliou-se os híbridos tacrina-derivados de carboidratos como inibidores das enzimas colinesterases AChE e BuChE. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 1.

[51] **Tabela 1.** Atividade biológica dos compostos descritos neste trabalho e dos padrões de referência.

| Entrada | Composto | IC ₅₀ (nM) [intervalo de confiança] | | Razão IC ₅₀ BuChE/AChE |
|---------|----------------|--|---------------------|--------------------------------------|
| | | AChE | BuChE | |
| 1 | 1a | 75,0 [59,4 a 94,7] | 25,8 [18,5 a 36,0] | 0,344 |
| 2 | 1b | 3,78 [2,30 a 6,20] | 30,8 [20,4 a 46,6] | 8,15 |
| 3 | 1c | 7,11 [5,95 a 8,49] | 64,3 [50,2 a 82,5] | 9,04 |
| 4 | 1d | 0,699 [0,41 a 1,20] | 36,7 [22,9 a 58,74] | 52,5 |
| 5 | Tacrina | 148 [82 a 265] | 62,5 [44,0 a 89,0] | 0,42 |
| 6 | Bis(7)-tacrina | 10,7 [7,8 a 14,7] | 9,07 [6,58 a 12,5] | 0,84 |

Processo de Preparo

Obtenção dos Híbridos tacrina-derivados de carboidratos **1a-d**

[52] Uma mistura contendo 0,3 mmol do derivado tosilato da D-xilose, D-ribose ou D-galactose (**2**, **3** e **4**) e 0,6 mmol de 9-alkilamino-1,2,3,4-tetraidroacridina (**5a-b**) foi diluída em 1,0 mL de isopropanol, previamente armazenado em peneira molecular para remoção do excesso de água. A mistura foi ambientada em atmosfera inerte e mantida sob aquecimento a 83 °C em um frasco vedado e sob agitação durante 72 horas. Decorrido este tempo, a reação foi diluída em 20 mL de diclorometano e tratada com soluções aquosas saturadas de NaHCO₃ (20 mL), seguido de NaCl (20 mL) e lavada com 20 mL de água. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro, o solvente evaporado em rotaevaporador e o produto bruto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando como mistura eluente hexano : AcOEt (1 : 1) até a remoção do tosilato de partida e CHCl₃ : CH₃OH (98 : 2) até a remoção do produto puro da fase estacionária. Os produtos foram obtidos foram caracterizados pelos métodos espectroscópicos adequados, sendo que, alguns exemplos representativos estão mostrados nas Figura 4 a 7.

[53] Descreve-se na Figura 8, o processo de obtenção dos intermediários **5a-b**, via reação de acoplamento entre 9-cloro-1,2,3,4-tetraidroacridinas e 1,n-alkanodiaminas na presença de KI como catalisador e *n*-pentanol como solvente, sob refluxo por 18 h, conforme protocolo da literatura (Luo, W.; Li, Y. P.; He, Y.; Huang, S. L.; Tan, J. H.; Ou, T. M.; Li, D.; Gu, L. Q.; Huang, Z. S., *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 763).

[54] Descreve-se na Figura 9, o processo de obtenção dos intermediários tosilados derivados dos carboidratos D-xilose, D-ribose e D-galactose, **2**, **3** e **4**, respectivamente, a partir dos carboidratos comerciais D-xilose, D-ribose e D-galactose, conforme protocolos da literatura. (Lu, Y. X.; Just, G.; *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1677; Ginisty, M.; Gravier-Pelletier, C.; Le Merrer, Y.; *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 142; Kartha, K. P. R.; *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3415).

Híbrido tacrina(6)-xilose (**1a**)

[55] Óleo amarelo; rendimento: 86%; $[\alpha]_D^{20} = -65.0^\circ$ (*c* 0.303, CH₂Cl₂); IV (*KBr*) ν_{max}/cm^{-1} : 3369, 3928, 2847, 2345, 1502, 1081, 1001, 760, 659; RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,93 (t, *J* = 9,3 Hz, 2H); 7,54 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H); 7,39 – 7,28 (m, 1H); 5,95 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H); 4,49 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H); 4,28 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H); 4,19 (s, 1H); 4,07 (sl, 2H); 3,54 – 3,42 (m, 2H); 3,36 (dd, *J* = 13,0, 3,3 Hz, 1H); 3,06 (s, 2H); 2,93 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H); 2,68 (s, 2H); 2,64 – 2,40 (m, 2H); 1,97 – 1,84 (m, 4H); 1,72 – 1,58 (m, 2H); 1,53 – 1,22 (m, 12H); RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ 158,4;

150,8; 147,4; 128,6; 128,3; 123,6; 122,9; 120,2; 115,8; 111,4; 105,1; 85,8; 78,1; 77,0; 49,4; 48,5; 34,0; 31,7; 29,5; 26,8; 26,9; 26,7; 26,2; 24,8; 23,1; 22,8; HRMS-ESI: calculado $[M-H]^+$ 470,3013; encontrado 470,3014.

Híbrido tacrina(7)-xilose (1b)

[56] Óleo amarelo; rendimento: 81%; $[\alpha]_D^{20} = +87,7^\circ$ (*c* 0,106, CH₂Cl₂); IV (*KBr*) ν_{max}/cm^{-1} : 3423, 2920, 2840, 1621, 1066, 604; RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 8,02 – 7,85 (m, 2H); 7,61 – 7,48 (m, 1H); 7,41 – 7,30 (m, 1H); 5,95 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H); 4,49 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H); 4,28 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H); 4,20 (s, 1H); 4,00 (br, 1H); 3,56 – 3,44 (m, 2H); 3,39 (dd, *J* = 12,9, 3,3 Hz, 1H); 3,07 (s, 2H); 2,94 (d, *J* = 13,1 Hz, 1H); 2,79 – 2,45 (m, 4H); 1,92 (s, 4H); 1,65 (s, 2H); 1,57 – 1,23 (m, 14H); RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ 158,1; 150,8; 147,2; 128,3; 128,3; 123,5; 122,9; 120,1; 115,6; 111,3; 105,0; 86,0; 77,9; 77,0; 49,4; 49,3; 48,5; 33,8; 31,6; 29,4; 29,0; 26,9; 26,7; 26,1; 24,7; 23,0; 22,7; HRMS-ESI: calculado $[M-H]^+$ 484,3170; encontrado 484,3164.

Híbrido tacrina(7)-ribose (1c)

Óleo amarelo; rendimento: 29%; $[\alpha]_D^{20} = -37,9^\circ$ (*c* 0,287, CH₂Cl₂); IV (*KBr*) ν_{max}/cm^{-1} : 3370, 2921, 2846, 1554, 1493, 1371, 1098, 863, 750; RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,98 – 7,86 (m, 2H); 7,59 – 7,49 (m, 1H); 7,33 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H); 4,95 (s, 1H); 4,62 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H); 4,57 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H); 4,30 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H); 3,93 (br, 2H); 3,47 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H); 3,31 (s, 3H); 3,10 – 2,97 (m, 2H); 2,73 – 2,64 (m, 4H); 2,64 – 2,52 (m, 2H); 1,98 – 1,84 (m, 4H); 1,76 – 1,58 (m, 4H); 1,56 – 1,19 (m, 12H); RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ 158,6; 158,7; 150,9; 151,0; 147,6; 128,9; 128,4; 123,8; 123,0; 120,4; 116,0; 112,5; 109,9; 86,4; 85,6; 82,9; 55,2; 53,3; 50,0; 49,7; 34,2; 31,9; 30,2; 29,5; 27,4; 27,1; 26,7; 25,2; 25,0; 23,3; 23,0; HRMS-ESI: calculado $[M-H]^+$ 498,3326; encontrado 498,3327.

Híbrido tacrina(6)-galactose (1d)

[57] Óleo amarelo; rendimento 58%; $[\alpha]_D^{20} = -26,0^\circ$ (*c* 1,09, CH₂Cl₂); IV (*KBr*) ν_{max}/cm^{-1} 3338, 2982, 2928, 2852, 1561, 1383, 1205, 1068, 993, 768, 734, 522; RMN de ¹H (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,98 – 7,85 (m, 2H); 7,57 – 7,48 (m, 1H); 7,36 – 7,27 (m, 1H); 5,54 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H); 4,59 (dd, *J* = 7,9, 2,3 Hz, 1H); 4,31 (dd, *J* = 5,1, 2,3 Hz, 1H); 4,17 (dd, *J* = 7,9, 1,8 Hz, 1H); 3,98 (sl, 1H); 3,96 – 3,85 (m, 1H); 3,52 – 3,37 (m, 2H); 3,05 (s, 2H); 2,95 – 2,44 (m, 6H); 1,97 – 1,81 (m, 4H); 1,71 – 1,56 (m, 2H); 1,55 – 1,21 (m, 18H); RMN de ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ 158,2; 150,8; 147,3; 128,5;

128,3; 123,5; 122,9; 120,1; 115,7; 109,1; 108,4; 96,4; 72,0; 70,8; 70,5; 66,7; 49,6; 49,4; 49,2; 33,9; 31,7; 29,9; 27,1; 26,8; 26,1; 26,0; 24,9; 24,8; 24,3; 23,0; 22,7; HRMS-ESI: calculado $[M-H]^+$ 540,3432; encontrado 540,3435.

Avaliação da atividade das enzima acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BuChE)

[58] A determinação da atividade acetilcolinesterásica no cérebro e butirilcolinesterásica em soro, ambos de camundongo, foi determinada utilizando o método de Ellman (1961) modificado (Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres Jr, V.; Featherstone, R. M.; *Biochemical Pharmacology*, **1961**, 7, 88-90). O extrato cerebral e soro sanguíneo foram adicionados em uma placa de 96 poços contendo tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,5 e o composto sintético a ser analisado, exceto para os grupos controles. Posteriormente foi adicionado DTNB (ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico)) na concentração de 0,32 mM. Os meios reacionais permaneceram incubando a 25°C por 10 minutos. Os ensaios foram iniciados pela adição dos substratos, iodeto de acetiltiocolina ou iodeto de butiriltiocolina na concentração de 1,5 mM, sendo realizada uma nova incubação por 10 minutos a 25°C. Terminado o tempo de incubação, a densidade ótica dos meios reacionais foi medida a 412 nm, em um espectrofotômetro compatível com microplacas. Os poços referentes aos brancos (sem atividade enzimática) não tiveram adição das frações biológicas.

Modelagem Molecular

[59] Devido à significativa variação conformacional observada em regiões específicas da cavidade de ligação da acetilcolina (ACh), foi utilizada a estratégia de *ensemble docking* para a enzima acetilcolinesterase (AChE). Esta metodologia consiste na realização do *docking* molecular em cada estrutura representante com o objetivo de incluir implicitamente a flexibilidade proteica. As estruturas selecionadas foram 1ZGC (*Torpedo Californica*), 2CKM (*Torpedo Californica*) e 1Q84 (*Mus musculus*). Não foram selecionadas estruturas de *Homo sapiens* por não haver complexos da AChE com inibidores de tamanho similar aos que estão sendo avaliados. Todos os inibidores das três estruturas representantes (i) interagem no sítio catalítico, (ii) interagem com o sítio aniônico periférico (PAS), e (iii) são análogos à tacrina. Não foram consideradas moléculas de água nos experimentos.

[60] Os isômeros, estados de protonação e tautômeros dos ligantes foram preditos com a ferramenta *Babel* em pH = 7,5. As diferentes conformações da AChE foram preparadas com a ferramenta *PrepWizard* respeitando o estado de protonação dos resíduos de aminoácido do sítio

ativo descritos na literatura: Glu202 e Glu327 carregados negativamente e His440 neutra em ND1. Posteriormente foi realizada a otimização da rede de ligações de hidrogênio entre proteína e o ligante de referência (*i.e.* originalmente complexado com a enzima).

[61] Os estudos de *ensemble docking* foram realizados com o programas de *docking* molecular GOLD, utilizando a função de avaliação padrão ChemPLP e eficiência do algoritmo genético de 200% - configuração mais indicada para compostos altamente flexíveis. A seleção do melhor modo de ligação para cada inibidor foi feita de acordo com o valor *ChemPLP Fitness*. O centro do sítio de ligação teve como coordenadas X = 98,06; Y = 53,14 e Z = 22,06, com raio de 14 Å. A afinidade de ligação reportada para o melhor modo de ligação de cada composto foi predita com a função de avaliação DockTScore, recentemente desenvolvida pelo grupo de pesquisa GMMSB/LNCC. Estudos de *redocking* dos compostos de referência foram realizados para validar a metodologia adotada neste trabalho.

[62] De acordo com o melhor modo de ligação predito através dos estudos de *docking*, os compostos da série tacrina-derivados de carboidratos possuem o grupo tacrina interagindo no fundo do sítio de ligação das enzimas AChE e BuChE através das interações conservadas já descritas na literatura. Na AChE a parte do carboidrato geralmente interage com o PAS. Por outro lado, a enzima BuChE não possui os mesmos resíduos aromáticos na região do PAS e no meio da cavidade do sítio de ligação. Com isso, estes compostos não são capazes de realizar as interações CH/ π com a região do PAS na BuChE. Além disso, na BuChE existe um sítio hidrofóbico conhecido por ser alvo de ligação de diversos inibidores seletivos descritos na literatura, sendo inacessível na enzima AChE devido à presença dos resíduos volumosos Phe290 e Phe288.

[63] Os resultados de *docking* indicam que o inibidor mais potente da série contra AChE, **1d** ($IC_{50} = 0,699$ nM, DockTScore::1ZGC = $-12,85$ kcal mol⁻¹), realiza as interações intermoleculares conservadas para o grupo tacrina no fundo do sítio de ligação e possui o grupo derivado da galactose realizando interações do tipo CH/ π com o resíduo aromático Trp279 do PAS (Figura 10A e Figura 11). Estas interações fracas são frequentemente observadas experimentalmente em diversos complexos proteína-carboidratos (Asensio, J. L., Ardá, A., Cañada, F. J. & Jiménez-Barbero, J.; *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 946–954; Spiwok, V.; *Mol. Basel Switz.* **2017**, *22*, 1038), sendo importantes para o reconhecimento molecular dos açúcares por resíduos de aminoácidos aromáticos. Apesar de serem reportadas para diversas enzimas, não encontramos inibidores desenvolvidos para AChE e BuChE que explorem interações do tipo CH/ π entre carboidratos e os resíduos aromáticos presentes na cavidade da enzima, principalmente no PAS no caso da AChE. Adicionalmente, as metilas dos grupos dioxol estão localizadas em cavidades lipofílicas na entrada

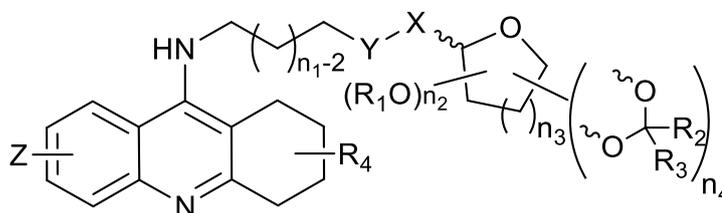
da cavidade da enzima, sendo uma delas formada pelos resíduos lipofílicos Phe331, Ile287 e Phe290 e a outra por Leu282 e Trp279.

[64] O inibidor **1d** também possui atividade considerável contra BChE, ainda que significativamente menor ($IC_{50} = 36,67$ nM, DockTScore::5K5E = $-10,55$ kcal mol⁻¹). O melhor modo de ligação de **1d** contra a BuChE encontrado é caracterizado pelas interações conservadas do grupo tacrina no fundo do sítio, enquanto que a porção do açúcar encontra-se altamente exposta ao solvente (Figura 10B). Os resíduos de aminoácido Ser72 e Gln71 localizados na entrada da cavidade da enzima, encontram-se próximos aos oxigênios dos grupos galactose e dioxol, provavelmente realizando ligações de hidrogênio (Figura 12).

[65] Apesar de a estratégia de *docking* molecular ter encontrado o modo de ligação mais favorável de **1d** em uma conformação que indica a existência das interações CH/ π , as funções de avaliação utilizadas (*i.e.* ChemPLP para predição do modo de ligação e DockTScore para prever afinidade proteína-ligante) não foram desenvolvidas para reconhecer e corretamente prever este tipo de interação. A principal contribuição das interações CH/ π para o reconhecimento molecular se deve a fatores entrópicos e de desolvatação. Sendo assim, são necessários estudos de dinâmica molecular utilizando campos de força específicos para carboidratos para considerar a flexibilidade total do sistema e o tratamento explícito do solvente, otimizando assim a geometria das interações proteína-ligante.

Reivindicações

1. Molécula híbrida, **caracterizada** por possuir a estrutura geral:



em que:

- R₁ é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R₂, R₃ e R₄ são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH₂), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z é selecionado entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH₂, NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de "n₁" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n₂" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n₃" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n₄" pode variar entre 0 e 2.

2. Composição farmacêutica **caracterizada** por compreender uma molécula híbrida conforme definido na reivindicação 1.

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada** por compreender a dita molécula híbrida em uma concentração de 0,01 µM até 0,1 µM.

4. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada** por compreender um veículo farmacêuticamente aceitável.

5. Processo de síntese de uma molécula híbrida conforme definida na reivindicação 1, **caracterizado** por compreender uma reação de substituição nucleofílica, realizada em um solvente selecionado entre isopropanol, etanol, clorofórmio, acetonitrila, acetona ou dimetilformamida (DMF).

6. Uso de uma molécula híbrida conforme definido na reivindicação 1, **caracterizada** por ser para inibir enzimas colinesterases.

7. Uso de uma molécula híbrida conforme definido na reivindicação 1, **caracterizado** por ser na preparação de um medicamento para tratar a Doença de Alzheimer.

FIGURAS

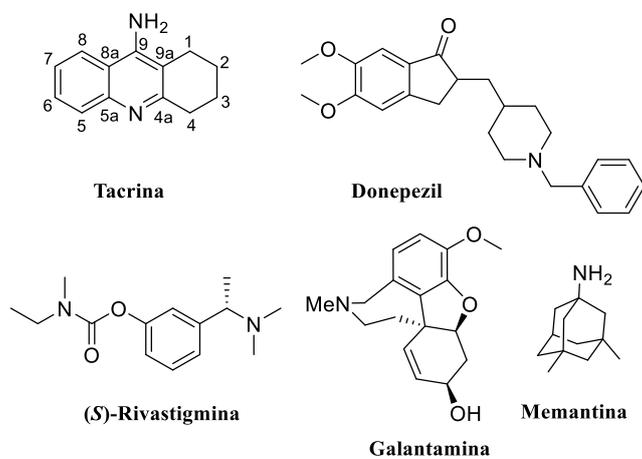


Figura 1

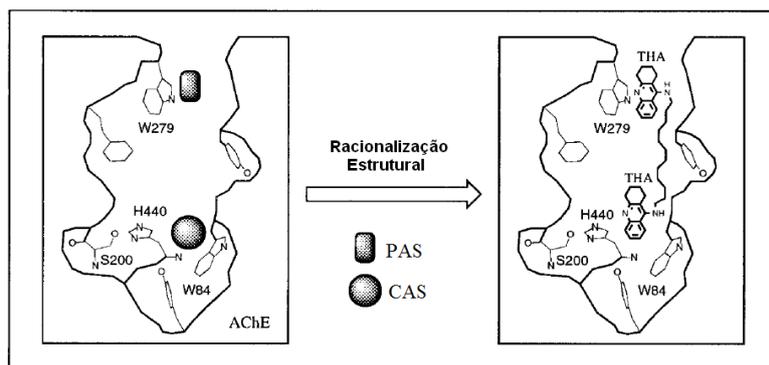
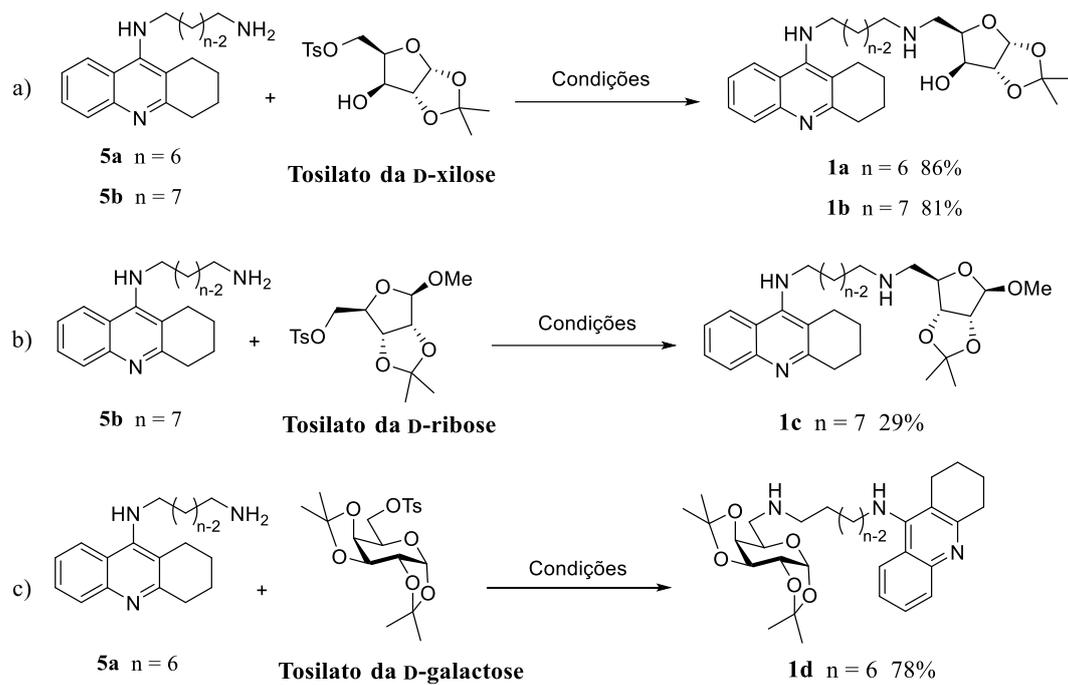


Figura 2

**Figura 3**

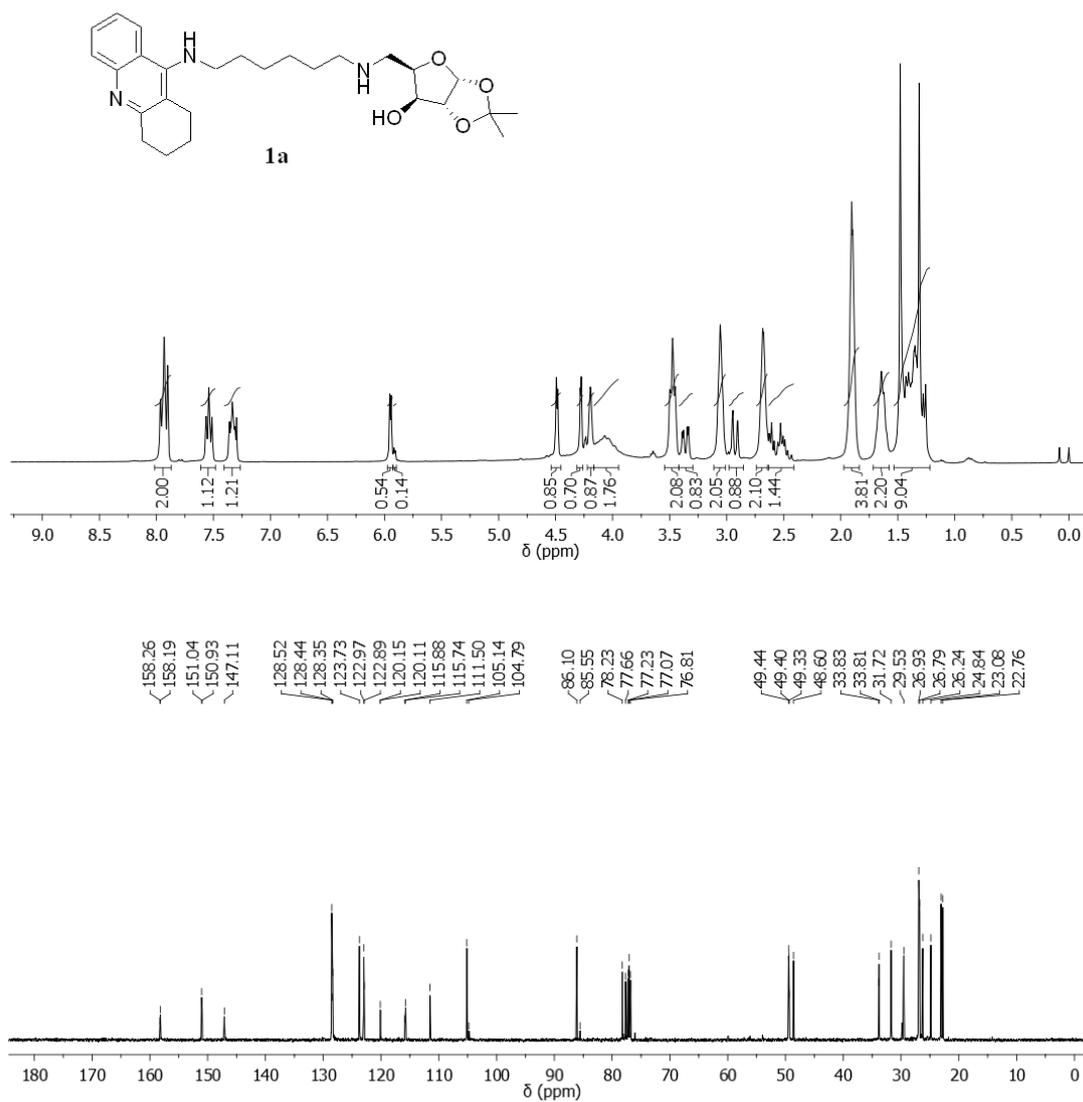


Figura 4

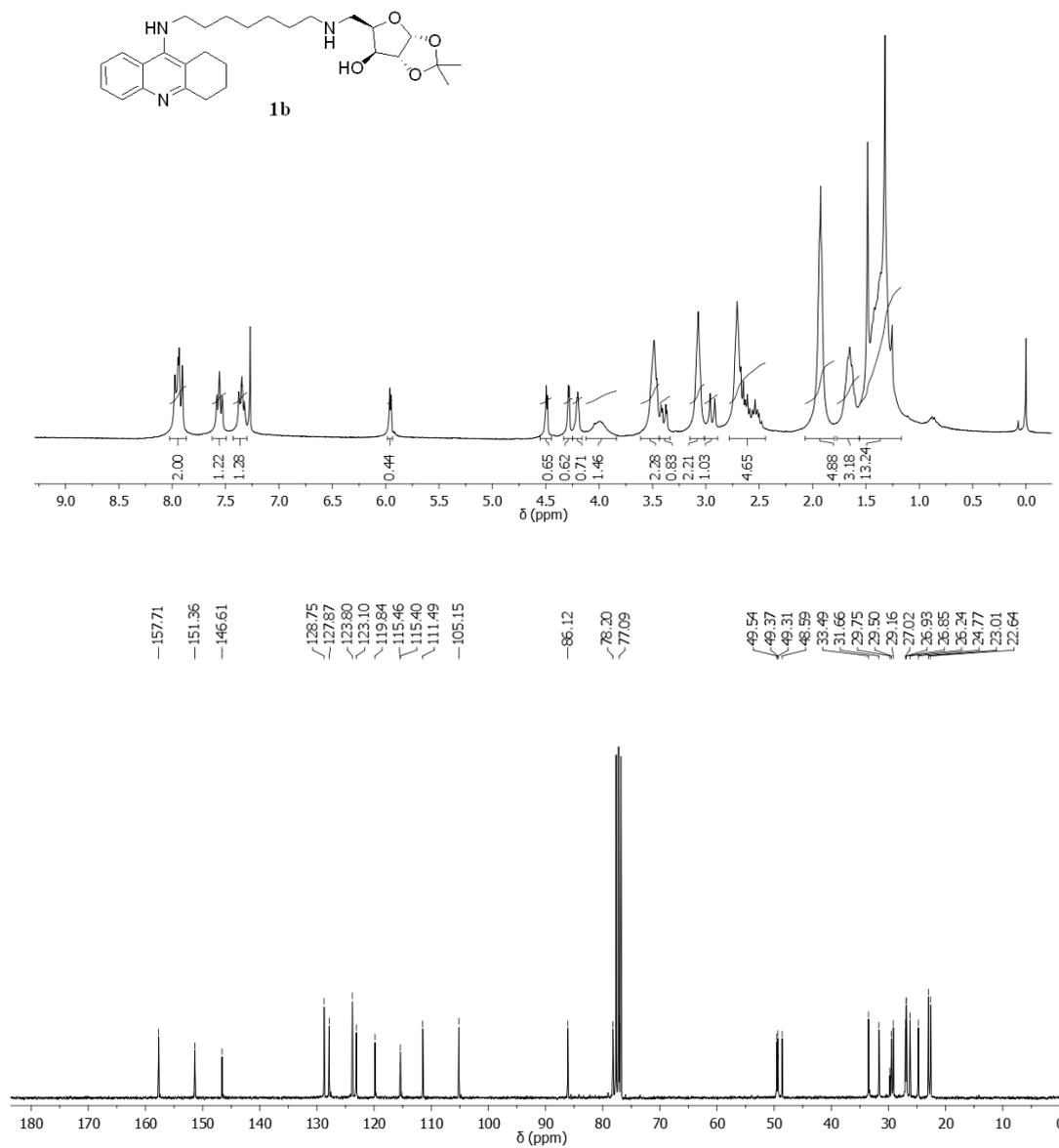


Figura 5

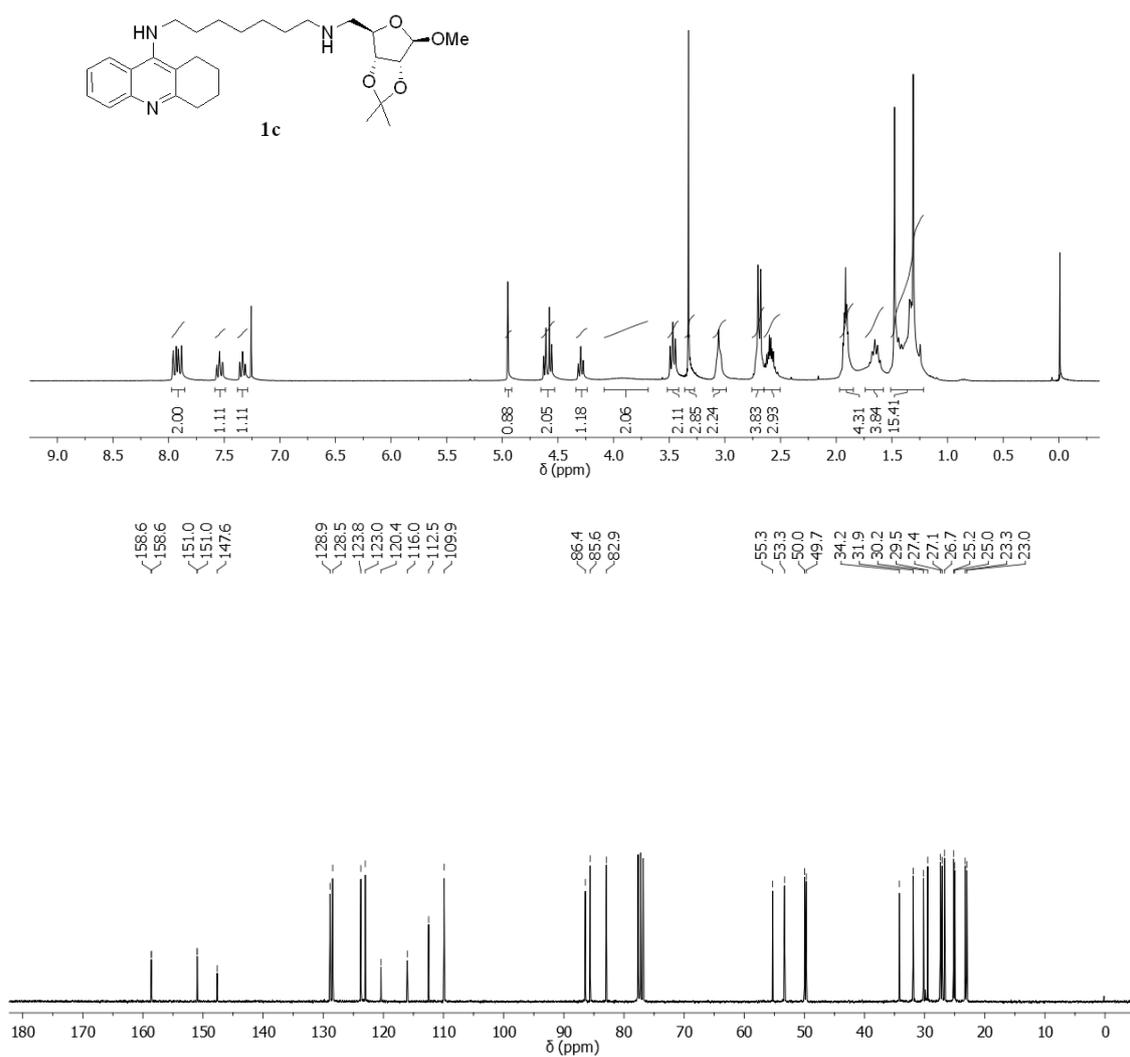


Figura 6

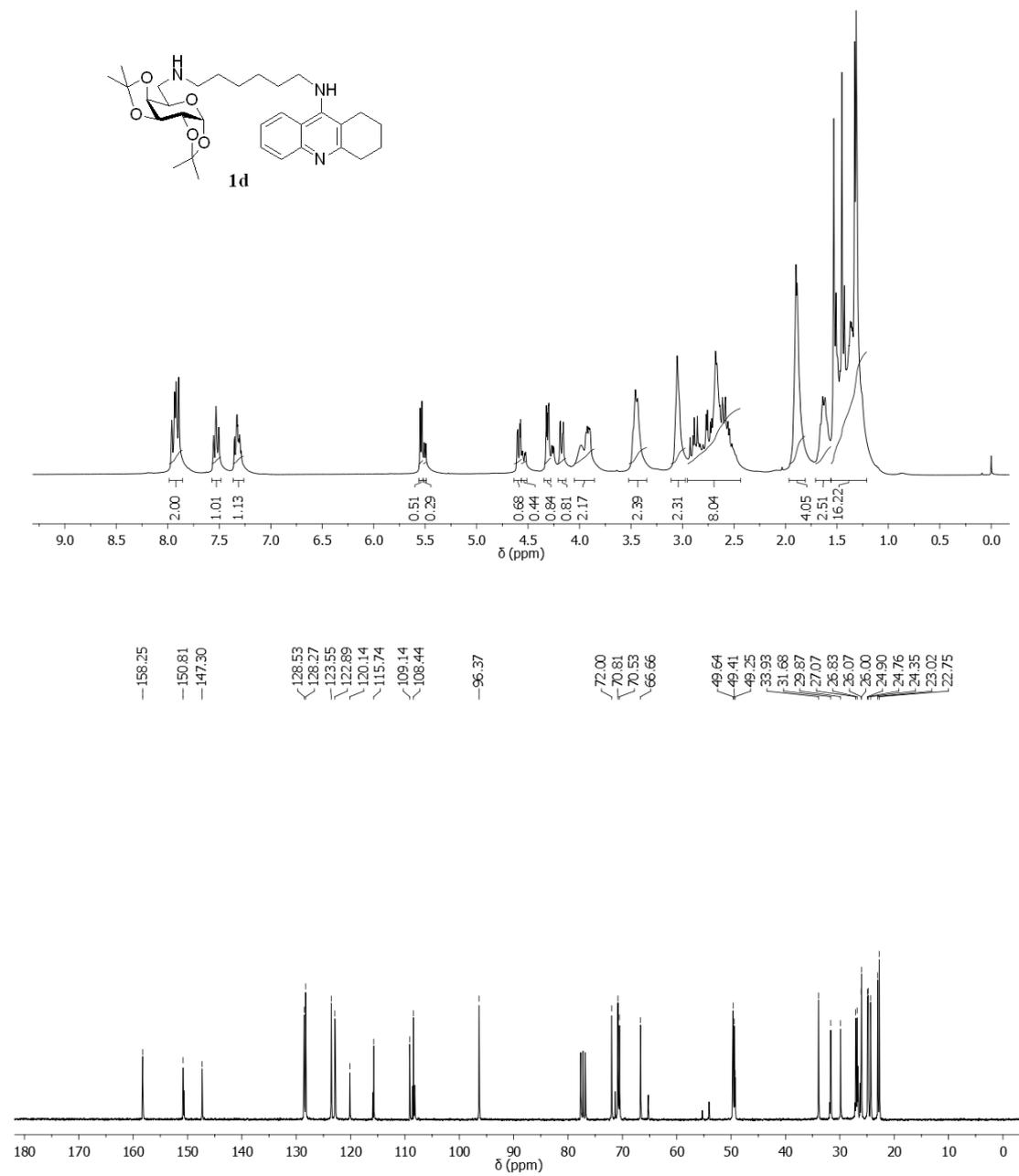


Figura 7

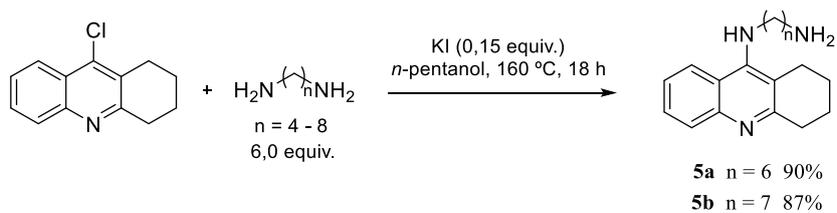


Figura 8

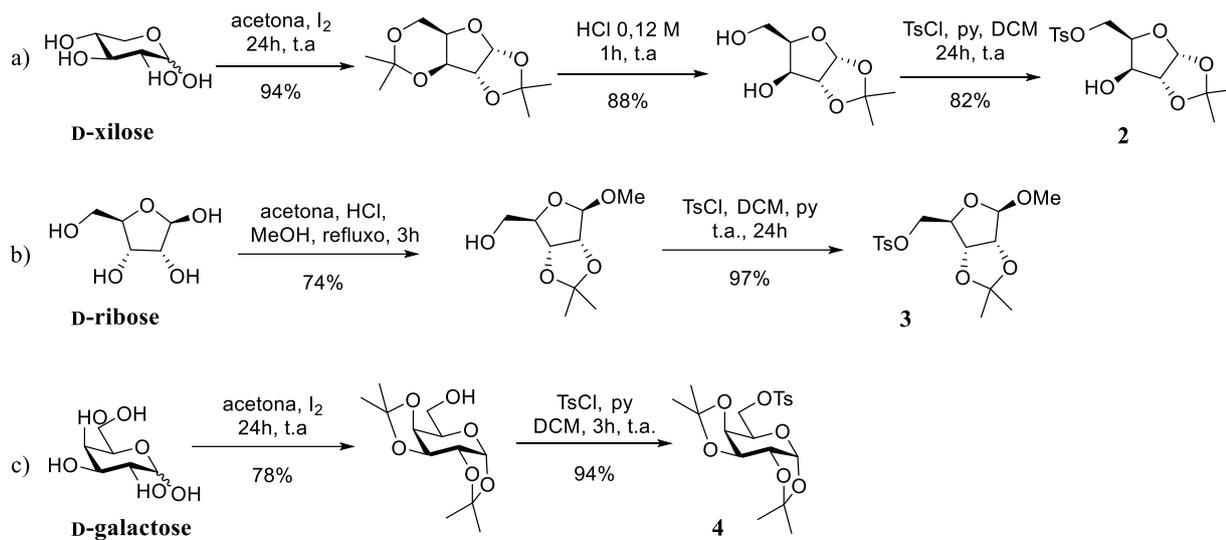


Figura 9

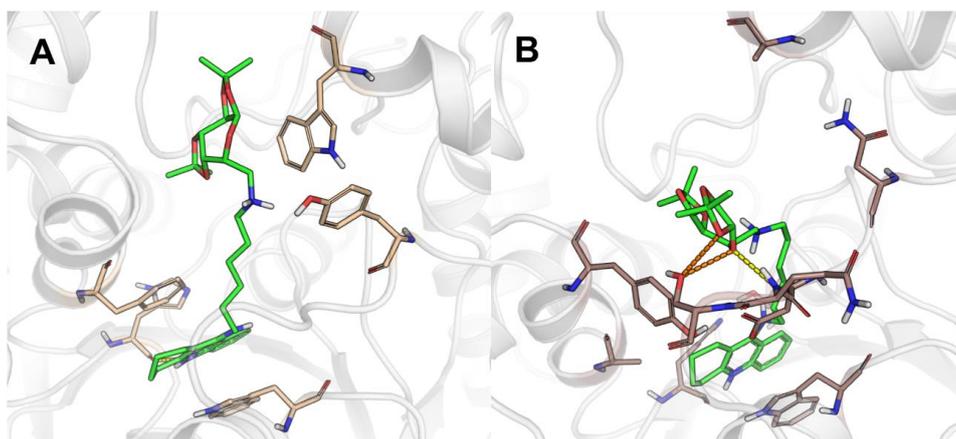
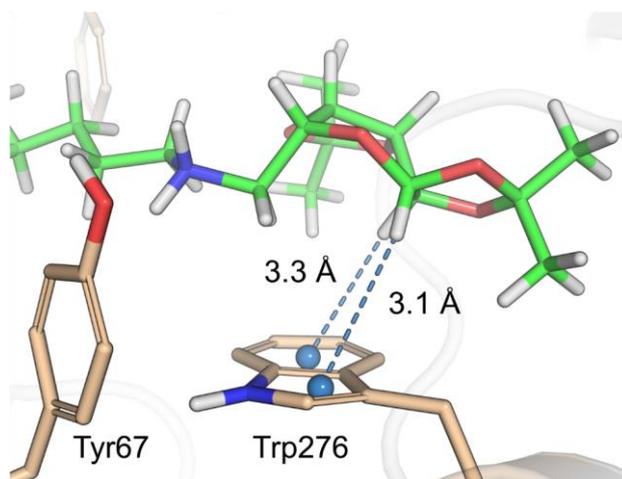
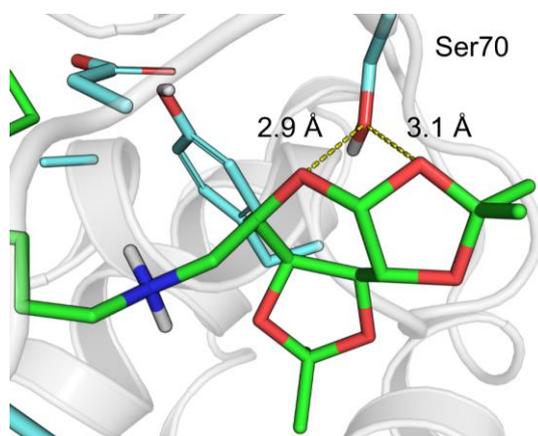


Figura 10

**Figura 11****Figura 12**

Resumo**MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS TACRINA E DERIVADOS DE CARBOIDRATOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE SÍNTESE E SEUS USOS**

A presente invenção descreve uma molécula híbrida baseada em núcleos de tetraidroacridina e derivados de carboidratos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, via reação de substituição nucleofílica, uma composição farmacêutica compreendendo esta molécula, um processo de síntese desta molécula, e seus usos. A presente invenção se situa nos campos da Química Medicinal, Farmacologia e Medicina.