



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

(21) BR 102017027607-4 A8



(22) Data do Depósito: 20/12/2017

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

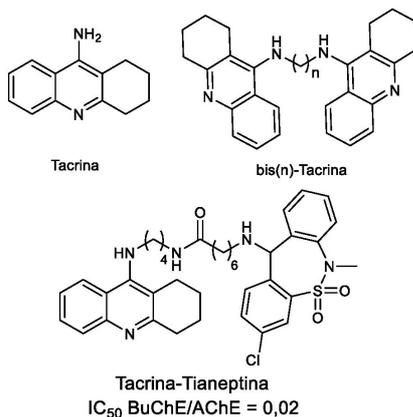
(54) **Título:** MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS IMIDAZÓLICOS, ARÍLICOS E BENZÍLICOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE SÍNTESE E SEUS USOS

(51) **Int. Cl.:** C07D 233/61; A61K 31/4164; 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; VIKTOR SARAIVA CÂMARA; ANA JÚLIA SOARES; 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 2,4,5-triaril-1H-imidazol e derivados arílicos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, 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.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS IMIDAZÓLICOS, ARÍLICOS E BENZÍLICOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE SÍNTESE E SEUS USOS

Campo da Invenção

[1] A presente invenção descreve uma molécula híbrida baseada nos núcleos 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol, derivados arílicos e benzílicos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, 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 a forma mais comum de demência, correspondendo a cerca de 60 a 80 % dos casos. A idade é o maior fator de risco da DA, sendo observada, principalmente, em pacientes com 65 anos ou mais. De acordo com o *World Alzheimer Report 2016*, 47 milhões de pessoas no mundo vivem com a demência. Estima-se que esse número aumente para mais de 131 milhões até 2050. A DA tem um impacto muito grande na economia também, apresentando um custo mundial estimado em 818 bilhões de dólares, valor que chegará à casa dos trilhões de dólares em 2018. (Alzheimer's Association Report, *Alzheimer's & Dementia 2015*, 11, 332; M. Prince, A. Comas-Herrera, M. Knapp, M. Guerchet, M. Karagiannidou, *Alzheimer's Disease International*, 2016).

[3] A grande maioria dos casos confirmados de DA tem causas desconhecidas e hoje não existem medicamentos capazes de interromper o desenvolvimento da doença. Os medicamentos presentes no mercado, para o tratamento da DA, tem como objetivo amenizar os sintomas e prover uma melhor qualidade de vida para o paciente. Estas drogas, Rivastigmina (Exelon®), Galantamina (Razadyne®, Reminyl®), Tacrina (Cognex®), Donepezil (Aricept®) atuam na inibição da acetilcolinesterase (AChE), enquanto Memantina (Namenda®) atua como um antagonista do receptor NMDA (N-metil D-Aspartato).

[4] A DA é caracterizada por déficits no sistema colinérgico, sistema responsável por ações como memória e fala. Compostos que atuam como inibidores das enzimas colinesterases amplificam as transmissões colinérgicas diminuindo os déficits cognitivos. Nesse contexto, a Tacrina (Cognex®, Figura 1) foi o primeiro fármaco aprovado nos Estados Unidos, em 1993, para o tratamento sintomático da DA.

[5] Pang e colaboradores sintetizaram análogos dímeros da tacrina, conhecidos como bis(n)-tacrina, moléculas que contêm dois núcleos de tacrina separados por uma cadeia espaçadora de metilenos (Figura 1). Os bis(n)-tacrina mostraram maior eficiência na inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) comparativamente ao fármaco tacrina, devido à ação simultânea em dois sítios da enzima, catalítico (CAS) e periférico (PAS). Da série de compostos sintetizados por Pang, o bis(7)-tacrina é o que mais se destaca por apresentar a melhor interação com a enzima AChE. O bis(7)-tacrina foi cerca de mil vezes mais ativo que a tacrina na inibição da acetilcolinesterase, e possui maior seletividade na inibição da AChE em relação à butirilcolinesterase (BuChE). (Pang, Y. P.; Quiram, P.; Jelacic, T.; Hong, F.; Brimijoin, S., J. Biol. Chem. 1996, 271, 23646).

[6] As enzimas AChE e BuChE constituem o grupo das colinesterases, enzimas capazes de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina. A AChE possui uma atividade da ordem de 10^{13} vezes maior que a atividade da BuChE para a hidrólise da acetilcolina, nas mesmas condições de temperatura e pH. (Pan, L.; Tan, J.-H.; Hou, J.-Q.; Huang, S.-L.; Gu, L.-Q.; Huang, Z.-S. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2008, 18, 13, 3790). A AChE é encontrada no sistema nervoso em grande quantidade, enquanto a BuChE é sintetizada no fígado e encontrada no plasma e também no sistema nervoso. A acetilcolinesterase, entre outras funções fisiológicas, age em células pós-sinápticas, realizando a hidrólise da acetilcolina e encerrando a transmissão do impulso nervoso.

[7] A função fisiológica da BuChE ainda não é bem conhecida, mas é sugerida sua participação no mecanismo regulatório dos níveis da AChE na sinapse colinérgica. Observou-se, em pacientes com a DA, que a razão BuChE/AChE aumenta gradualmente, como decorrência da perda progressiva da sinapse colinérgica, causada pela doença, onde a AChE é ativa. (Giacobini, E., Pharmacol. Res. 2004, 50, 433). Além disso, estudos recentes mostraram que em cérebros de ratos modelos, a ausência da BuChE leva a uma diminuição do depósito das placas beta amiloide ($A\beta$), conservando a atividade cerebral em

certas regiões. (Debay, D. R.; Reid, G. A.; Macdonald, I. R.; Mawko, G.; Burrell, S.; Martin, E.; Bowen, C. V.; Darvesh, S. *Brain Res.* 2017, 1671, 102). Tendo em vista a importância da BuChE na DA, inibidores seletivos para essa enzima vem ganhando destaque na literatura. Nosso grupo de pesquisa sintetizou um híbrido contendo os núcleos tacrina e tianeptina (Figura 1) que apresentou seletividade na inibição da BuChE. (Ceschi, M. A.; da Costa, J. S.; Lopes, J. P. B.; Camara, V. S.; Campo, L. F.; Borges, A. C. D.; Gonçalves, C. A. S.; de Souza, D. F.; Konrath, E. L.; Karl, A. L. M.; Guedes, I. A.; Dardenne, L. E., *Eur. J. Med. Chem Chemistry* 2016, 121, 758; Patente, WO 2017112988A1).

[8] O imidazol é um composto heteroaromático de cinco membros contendo dois átomos de nitrogênio nas posições 1 e 3. Por sua vez, a lofina é um derivado que apresenta três substituintes fenílicos nas posições 2, 4 e 5 do imidazol (Figura 2). Devido a suas propriedades fotofísicas e quimioluminescentes, a lofina e seus derivados são amplamente utilizados como sondas. (Hamada, T., Le, T., Voegtle, M. J., Doyle, B., Rimby, J., Isovitsch, R. J. *Mol Struct.* 2017, 1130, 284; Patente, JP 04-279569-A). Na área de química medicinal, derivados da lofina são utilizados como antioxidantes e antibacterianos. (Satyanarayana, V. S. V.; Sivakumar, A. *Chem. Papers*, 2011, 65, 519). Híbridos contendo os núcleos tacrina e lofina (Figura 2) foram sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa e apresentaram atividade de inibição das colinesterases. (Da Costa, J.S.; Lopes, J. P. B.; Russowsky, D.; Petzhold, C.L.; Borges, A. C. D. A.; Ceschi, M. A.; Konrath, E.; Batassini, C.; Lunardi, P. S.; Gonçalves, C. A. S. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 62, 556; Patente, BR1020140076069).

[9] Na área da química medicinal, o desenho de fármacos baseado em estrutura (SBDD) é uma estratégia muito utilizada no desenvolvimento de novos fármacos (Grey, J. L. & Thompson, D. H.; *Expert Opin. Drug Discov.* 2010, 5, 1039-1045). O SBDD utiliza o conhecimento da estrutura tridimensional do alvo molecular para desenho das moléculas candidatas a fármacos, tendo como base as informações estruturais e as interações intermoleculares entre o ligante e o receptor. Neste sentido, o conhecimento acurado do sítio de ligação do alvo molecular que será estudado aumenta a probabilidade de se encontrar um novo fármaco com a abordagem SBDD.

[10] 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

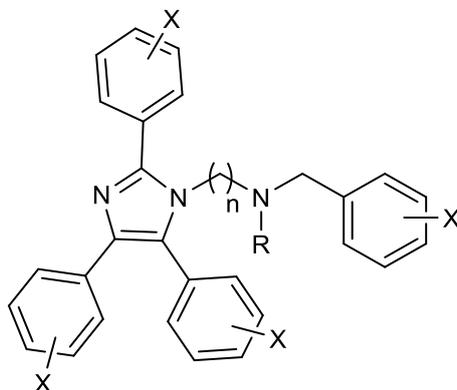
função de avaliação empírica ChemPLP tem se destacado como uma das mais robustas funções de avaliação lineares disponíveis atualmente, demonstrando boa capacidade preditiva tanto para a identificação do modo de ligação experimental quanto para a predição da afinidade proteína-ligante.

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 baseado em núcleos de 2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol (lofina), derivados arílicos e benzílicos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas.

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

- a. Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo benzilamina.



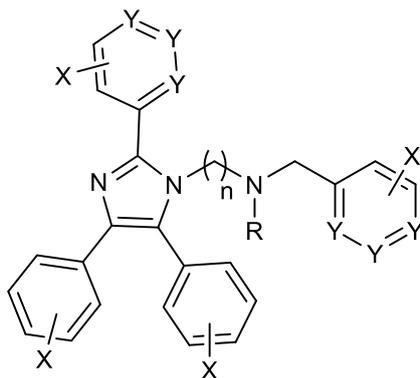
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

- b. Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo benzílico.



Em que:

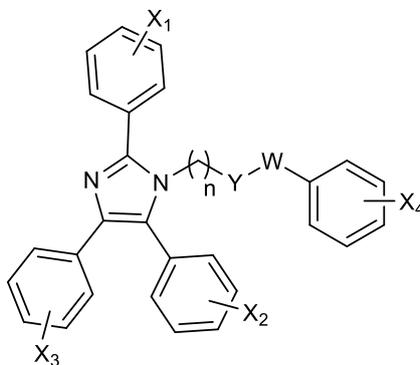
X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y = CH, N, +NH, +NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

[13] De uma forma geral, a presente invenção apresenta uma molécula híbrida, contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1H-imidazol e um núcleo benzílico ou arílico.



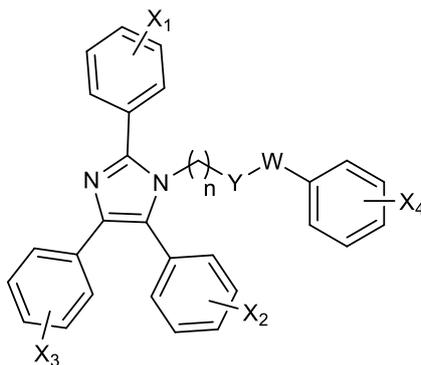
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y, W = CR₂, NR, O, S, Se onde R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

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



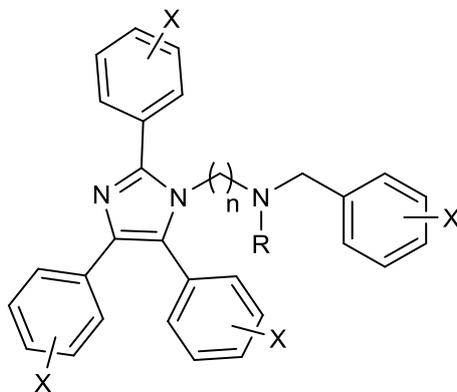
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y, W = CR₂, NR, O, S, Se onde R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 2

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



Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

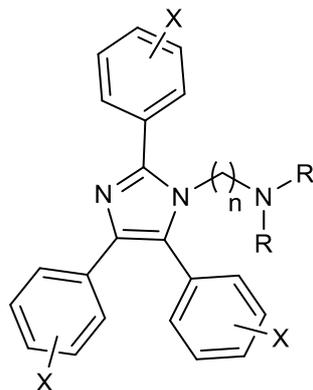
R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

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

[17] 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.

[18] Em um sexto objeto, a presente invenção apresenta um processo de síntese da molécula *N*-alquilaminolofina, em que o processo compreende uma reação de condensação tetracomponente, e em que a molécula possui a seguinte estrutura:



Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

[19] Ainda, o conceito inventivo comum a todos os contextos de proteção reivindicados é a molécula híbrida baseado em núcleos de 2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol, derivados arílicos e benzílicos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas.

[20] 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

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

[22] Na Figura 1 são mostradas as estruturas da tacrina, bis-tacrina e do híbrido tacrina-tianeptina, sintetizado pelo nosso grupo, compostos inibidores das colinesterases.

[23] Na Figura 2 são mostradas as estruturas de alguns derivados imidazólicos com atividade biológica, incluindo a lofina e os híbridos tacrina-lofina sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa.

[24] Na Figura 3 é mostrado o esquema para a síntese dos híbridos lofina-benzilamina através de reação de aminação redutiva.

[25] Na Figura 4 é mostrado o esquema para a síntese dos intermediários *N*-alquilaminolofina via reação de condensação tetracomponente.

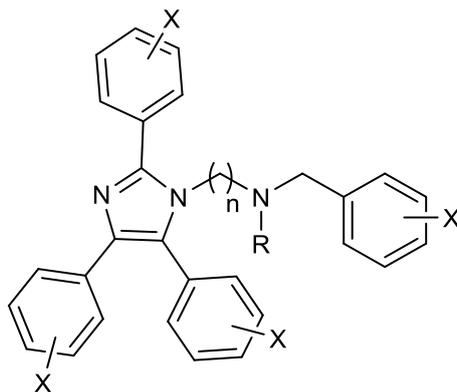
[26] Na Figura 5, 6 e 7 são apresentados os espectros de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) (acima) e de ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) (abaixo) dos compostos **3a**, **3b** e **3c** respectivamente.

[27] Na Figura 8 é mostrado o resultado de docking do composto 3b na BuChE:5K5E.

Descrição Detalhada da Invenção

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

a. Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo benzilamina.



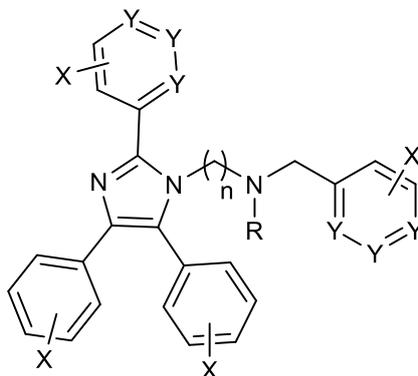
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

b. Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo arílico.



Em que:

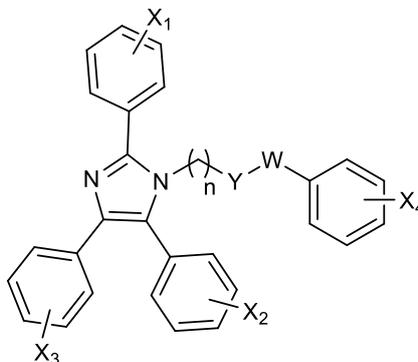
X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y = CH, N, +NH, +NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

[29] De uma forma geral, a presente invenção apresenta uma molécula híbrida, contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo benzílico ou arílico.



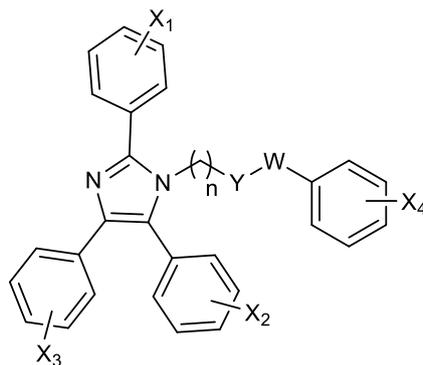
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y, W = CR₂, NR, O, S, Se onde R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

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



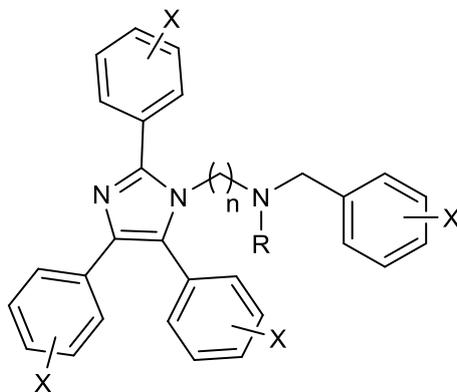
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y, W = CR₂, NR, O, S, Se onde R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 2

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



Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

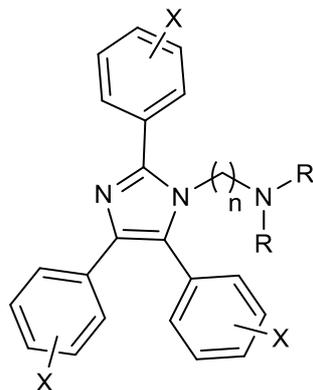
R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

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

[33] 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.

[34] Em um sexto objeto, a presente invenção apresenta um processo de síntese da molécula *N*-alquilaminolofina, em que o processo compreende uma reação de condensação tetracomponente, e em que a molécula possui a seguinte estrutura:



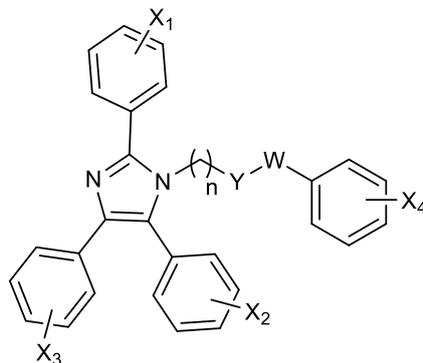
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

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



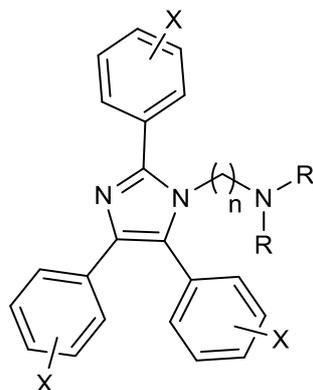
Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y, W = CR₂, NR, O, S, Se onde R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

[36] Em uma concretização, a presente invenção apresenta a molécula *N*-alquilaminolofina com a seguinte estrutura:



Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

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

[38] 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.

[39] 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.

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

[41] 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.

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

[43] Em uma concretização, a presente invenção apresenta o dito processo de síntese de uma molécula híbrida, em que o processo compreende uma reação de aminação redutiva.

[44] Em uma concretização, a presente invenção apresenta o dito processo de síntese de uma molécula híbrida, em que o processo compreende uma reação de aminação redutiva em um solvente selecionado entre etanol, metanol, dimetilformamida (DMF), acetonitrila, tetraidrofurano (THF), entre outro, e agentes redutores como borohidreto de sódio (NaBH_4), cianoborohidreto de sódio (NaBH_3CN), entre outros.

[45] Em uma concretização, a presente invenção apresenta o dito processo de síntese da *N*-alquilaminolofina, em que o processo compreende uma reação de condensação tetracomponente.

[46] Em uma concretização, a presente invenção apresenta o dito processo de síntese da *N*-alquilaminolofina, em que o processo compreende uma reação de condensação tetracomponente em um solvente selecionado entre etanol, metanol, dimetilformamida (DMF), acetonitrila e tetraidrofurano (THF). Como catalisador são utilizados ácidos de Lewis tais como tricloreto de índio (InCl_3), tricloreto de ferro (FeCl_3), tricloreto de alumínio (AlCl_3), dicloreto de estanho (SnCl_2), entre outros. Ácidos próticos também podem ser utilizados como catalisador.

[47] A composição farmacêutica, em um veículo farmaceuticamente 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, os núcleos lofina e benzilamina foram escolhidos como núcleos estruturais para a síntese de novos híbridos lofina-benzilamina, 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 aminação redutiva entre a *N*-alquilaminolofina e aldeídos aromáticos, na presença de um agente redutor como borohidreto de sódio (NaBH_4), cianoborohidreto de sódio (NaBH_3CN), entre outros, como descrito na Figura 3. A reação de aminação redutiva descrita na presente invenção pode ser realizada empregando-se diferentes solventes, tais como etanol, metanol, dimetilformamida (DMF), acetonitrila, tetraidrofurano (THF), entre outros.

[50] O processo de obtenção dos intermediários *N*-alquilaminolofina **1a-b**, via reação tetracomponente entre a 1,*n*-alcanodiamina, benzila, benzaldeído e acetato de amônio, utilizando ácido de Lewis como catalisador, tal como tricloreto de índio (InCl_3), é descrito na Figura 4. A reação pode proceder de forma térmica ou utilizando micro-ondas. A reação tetracomponente descrita na presente invenção pode ser realizada utilizando diferentes ácidos de Lewis como catalisador, tais como tricloreto de índio (InCl_3), tricloreto de ferro (FeCl_3), tricloreto de alumínio (AlCl_3), dicloreto de estanho (SnCl_2), entre outros. Ácidos próticos também podem ser utilizados como catalisador. A reação de condensação tetracomponente descrita na presente invenção pode ser realizada empregando-se diferentes solventes, tais como etanol, metanol, dimetilformamida (DMF), acetonitrila, tetraidrofurano (THF), entre outros

[51] Avaliou-se os híbridos lofina-benzilamina como inibidores das enzimas colinesterases AChE e BuChE e os resultados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Atividade biológica dos compostos descritos neste trabalho e dos padrões de referência.

Entrada	Composto	AChE	BuChE
		(%) inibição 10 μ M	IC ₅₀ (nM)
1	3b	72,51	570
2	3c	64,20	486
3	3d	n.a.	916
4	Tacrina	IC ₅₀ =148 nM	62,5
5	Bis(7)-tacrina	IC ₅₀ =10,7 nM	9,07

n. a. = não apresentou atividade.

Processo de Preparo:

[52] Processo de preparo dos Intermediários *N*-alquilaminolofina **1a-b**. A mistura de alcanodiamina (1 mmol), benzila (1 mmol), benzaldeído (1 mmol), acetato de amônio (1 mmol), ácido de Lewis, tal como InCl₃ (0,1 mmol) e EtOH (2,5 mL) foi aquecida à 110 °C em micro-ondas por 3 h. A potência utilizada no aquecimento foi de 300 W. Após o tempo reacional, evaporou-se o EtOH e dissolveu-se o sólido bruto em CH₂Cl₂ (20 mL). A fase orgânica foi lavada com 20 mL de água e 20 mL de solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e o solvente evaporado em rotaevaporador e alto vácuo a 60 °C por 2h. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna em sílica gel utilizando como mistura eluente CHCl₃:MeOH:Et₃N (90:9:1).

[53] Processo de preparo dos Híbridos Lofina-Benzilamina (**3a-c**). A mistura do intermediário 1a-b (0,5 mmol) e o aldeído aromático 2a-c foi refluxada em MeOH por 3 h. Em seguida, adicionou-se NaBH₄ (0,25 mmol) à temperatura ambiente. Após 1 h, realizou-se outra adição de NaBH₄ (0,5 mmol) e a solução foi agitada por 18 h. Após o tempo reacional, o solvente foi evaporado e ao resíduo foi adicionado 10 mL de água. Realizou-

se uma extração com EtOAc (4 x 10 mL), a fase orgânica foi lavada com solução saturada de NaCl e seca com Na₂SO₄. O solvente foi removido sob vácuo. O produto bruto foi purificado por coluna cromatográfica, utilizando como mistura eluente Hexano:AcOEt:Et₃N na proporção (90:9:1) com eluição por gradiente até (60:39:1). Os produtos obtidos foram caracterizados pelos métodos espectroscópicos adequados, sendo que, alguns exemplos representativos estão mostrados nas Figura 5 a 7.

[54] Híbrido lofina-benzilamina **3a**: Sólido amarelo. Rendimento 55 %. PF: 46,5 °C. IV $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3434; 3051; 2932; 2856; 1595; 1476; 1258; 693. ¹H RMN (400 MHz; CDCl₃) δ 7,70 – 7,65 (m; 2H); 7,55 – 7,37 (m; 10H); 7,22 – 7,09 (m; 4H); 6,94 (d; $J = 7,2$ Hz; 1H); 6,84 – 6,72 (m; 2H); 3,93 – 3,84 (m; 4H); 2,46 (t; $J = 7,1$ Hz; 2H); 1,35 – 1,19 (m; 4H); 1,02 – 0,89 (m; 4H). ¹³C RMN (101 MHz; CDCl₃) δ 158,30; 147,65; 137,77; 134,56; 131,57; 131,52; 131,04; 129,60; 129,22; 129,09; 128,85; 128,69; 128,66; 128,21; 128,05; 126,85; 126,25; 122,50; 118,94; 116,35; 52,72; 48,42; 44,49; 30,13; 29,09; 26,07; 25,87. HRMS-ESI: calculado [M - H]⁺ 502,2853 encontrado 502,2853.

[55] Híbrido lofina-benzilamina **3b**: Óleo incolor. Rendimento 75 %. IV $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3291; 3060; 2932; 2850; 1604; 1462; 1441; 757. ¹H RMN (400 MHz; CDCl₃) δ 7,73 – 7,67 (m; 2H); 7,57 – 7,41 (m; 10H); 7,39 – 7,33 (m; $J = 6,8; 1,8$ Hz; 2H); 7,27 – 7,18 (m; 4H); 7,18 – 7,11 (m; 1H); 3,90 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 3,83 (s; 2H); 2,46 (t; $J = 7,4$ Hz; 2H); 1,41 – 1,32 (m; 2H); 1,32 – 1,23 (m; 2H); 1,07 – 0,93 (m; 4H). ¹³C RMN (101 MHz; CDCl₃) δ 147,67; 137,73; 134,62; 133,70; 131,61; 131,57; 131,04; 130,16; 129,60; 129,50; 129,21; 129,05; 128,81; 128,62; 128,30; 128,03; 126,82; 126,79; 126,21; 51,43; 48,96; 44,61; 30,31; 29,65; 26,32; 26,07. HRMS-ESI: calculado [M - H]⁺ 520,2514 encontrado 520,2514.

[56] Híbrido lofina-benzilamina **3c**: Óleo incolor. Rendimento 60 %. IV $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3360; 3057; 2927; 2857; 1599; 1445; 768; 694. ¹H RMN (400 MHz; CDCl₃) δ 7,73 – 7,68 (m; 2H); 7,57 – 7,52 (m; 2H); 7,52 – 7,41 (m; 8H); 7,26 – 7,18 (m; 4H); 7,18 – 7,12 (m; 2H); 3,92 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 3,66 (s; 2H); 2,38 (t; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,37 (qn; $J = 7,6$ Hz; 3H); 1,19 (qn; $J = 7,6$ Hz; 2H); 1,01 (qn; $J = 7,6$ Hz; 2H). ¹³C RMN (101 MHz; CDCl₃) δ 147,67; 142,48; 137,75; 134,56; 134,24; 131,55; 131,51; 131,02; 129,65; 129,59; 129,20; 129,09; 128,86; 128,67; 128,13; 128,06; 127,09; 126,83; 126,25; 126,16; 53,39; 48,83; 44,60; 30,25; 29,08; 23,91. HRMS-ESI: calculado [M - H]⁺ 506,2358 encontrado 506,2357.

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

[57] 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 acetilticolina ou iodeto de butirilticolina 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

[58] As estruturas dos compostos foram desenhadas utilizando o Maestro Suite 2014 (versão 9.7, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2014) e preparadas com LigPrep. As estruturas das proteínas foram preparada utilizando o software Protein Preparation Wizard utilizando o PROPKA para ajustar a protonação e os estados tautoméricos dos resíduos das cadeias laterais em pH= 7,4. (Olsson, M.H.M. et al. *J. Chem. Theory Comput.* 2011, 7, 525–537).

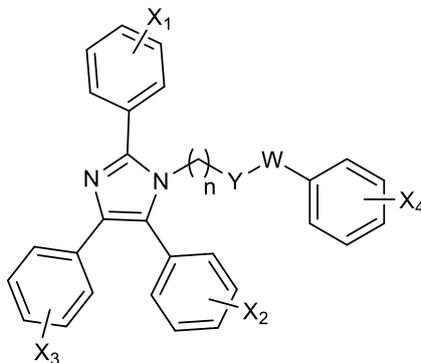
[59] Os estudos de ensemble docking foram realizados com o programas de docking molecular GOLD, utilizando a função de avaliação padrão ChemPLP e eficiência do algoritmo genético de 200% - configuração mais indicada para compostos altamente flexíveis. A seleção do melhor modo de ligação para cada inibidor 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.

[60] O modo de ligação mais favorável previsto do composto **3b** com a BuChE está representado na Figura 8. De acordo com os resultados do docking, a lofina se encontra no fundo da cavidade enzimática, interagindo com os resíduos aromáticos através de interações do tipo π - π stacking. Devido a ausência de aminoácidos aromáticos no PAS da BuChE, a porção benzilamina se encontra no interior da enzima, interagindo com o Trp231 através de interações do tipo T-stacking. Além dessas interações, o grupo amina forma uma ligação de hidrogênio com a Pro285 da cadeia principal da enzima. O átomo de cloro também contribui para a atividade, interagindo com o oxigênio da carbonila da Ser87, indicando que uma ligação de halogênio é possível.

Reivindicações

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



Em que:

X = -OH, -OR, HS, SR, -NH₂, -NH, -NHR onde R = alquila, arila, alila, benzila, propargila

Y, W = CR₂, NR, O, S, Se onde R = H, alquila, arila, alila, benzila, propargila

n = 1 a 20

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 farmacologicamente aceitável.
5. Processo de síntese de uma molécula híbrida conforme definida na reivindicação 1, **caracterizado** por compreender uma reação de condensação tetracomponente, utilizando um solvente selecionado entre metanol, etanol, clorofórmio, acetonitrila, tetraidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), entre outros e um ácido de Lewis, como tricloreto de índio (InCl₃), tricloreto de ferro (FeCl₃), tricloreto de alumínio (AlCl₃), dicloreto de estanho (SnCl₂), entre outros, ou ácidos próticos, seguida de uma reação de aminação redutiva, utilizando um solvente selecionado entre metanol, etanol, clorofórmio, acetonitrila, tetraidrofurano (THF), dimetilformamida (DMF), entre outros e um agente redutor selecionado entre NaBH₄, NaBH₃CN, entre outros.

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.

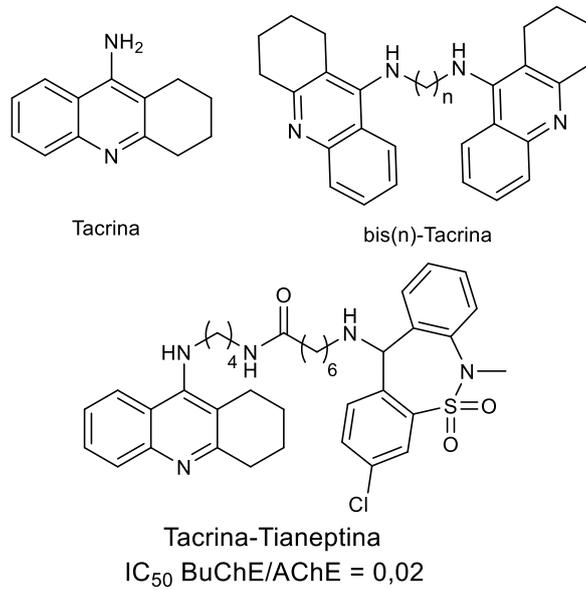
Figuras

Figura 1

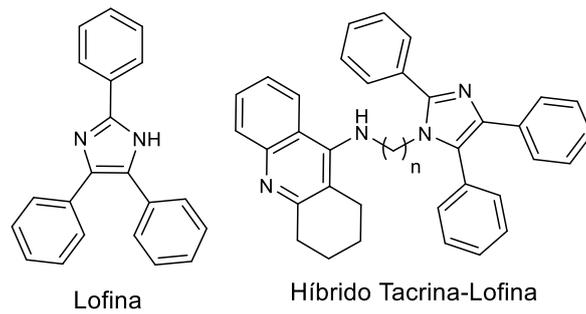


Figura 2

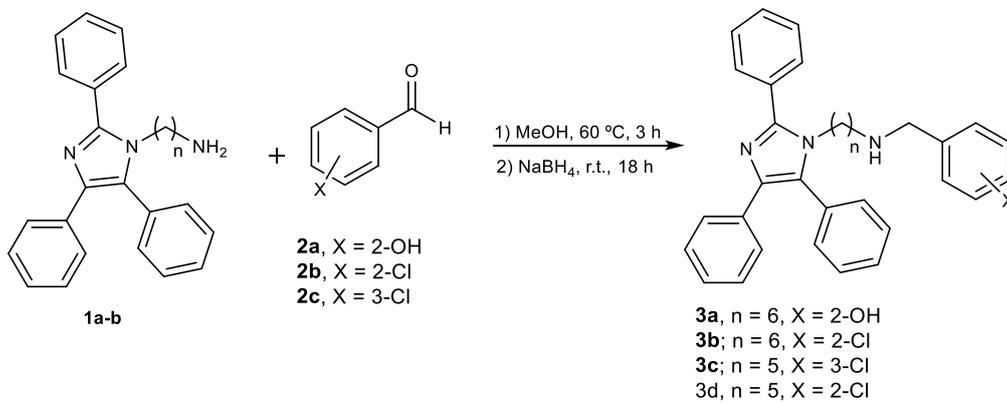


Figura 3

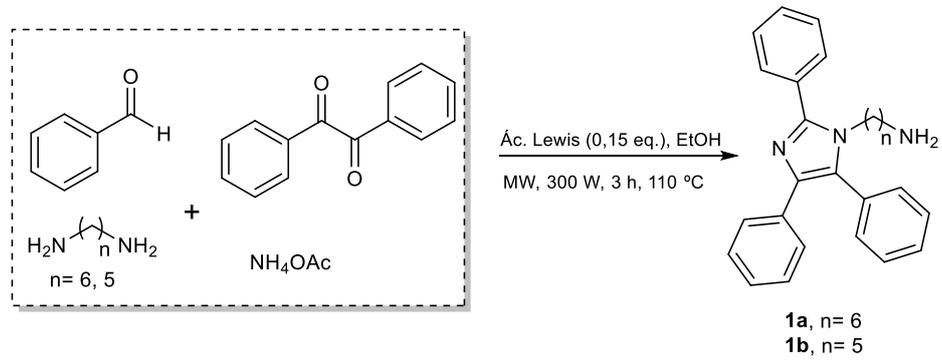


Figura 4

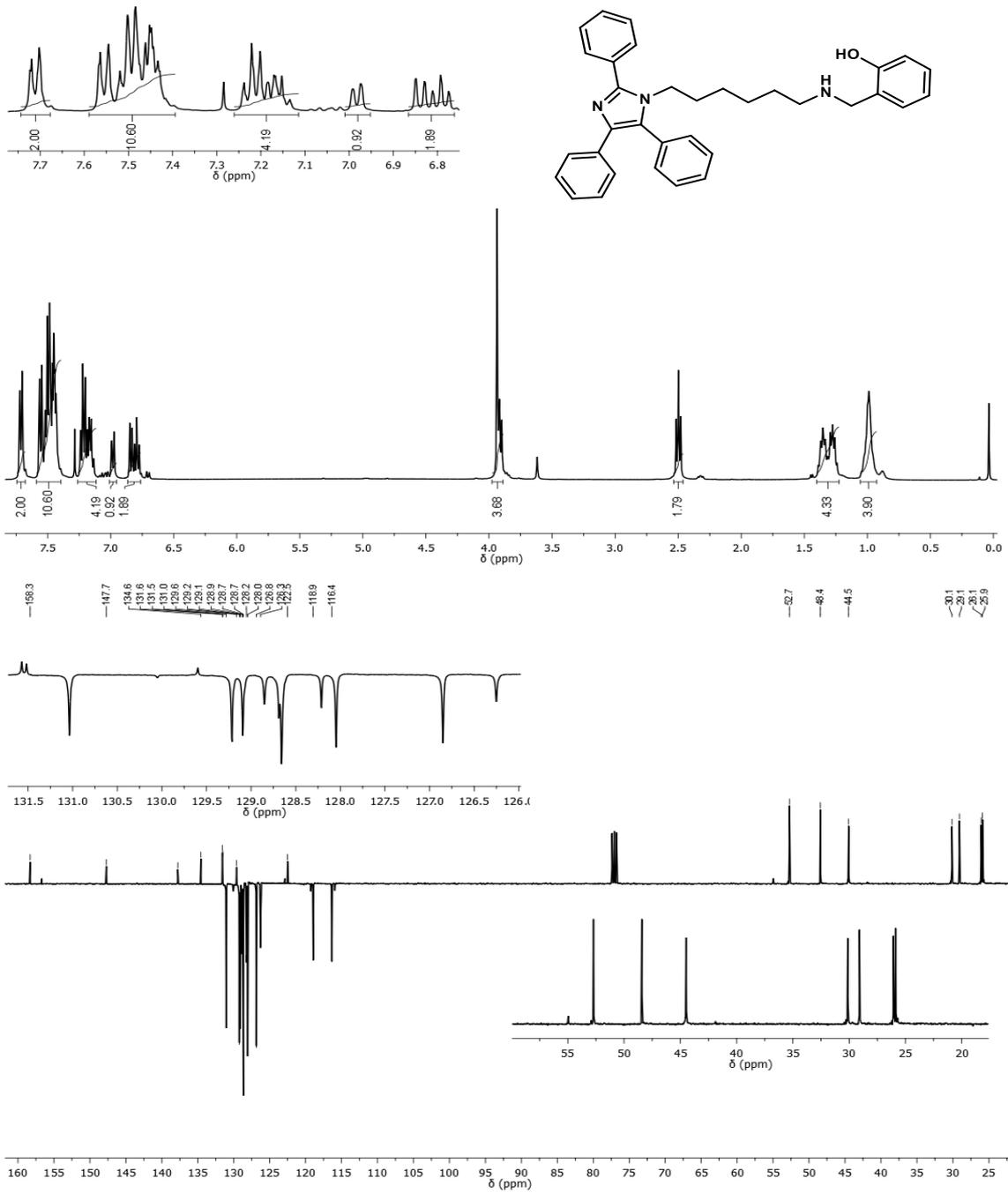


Figura 5

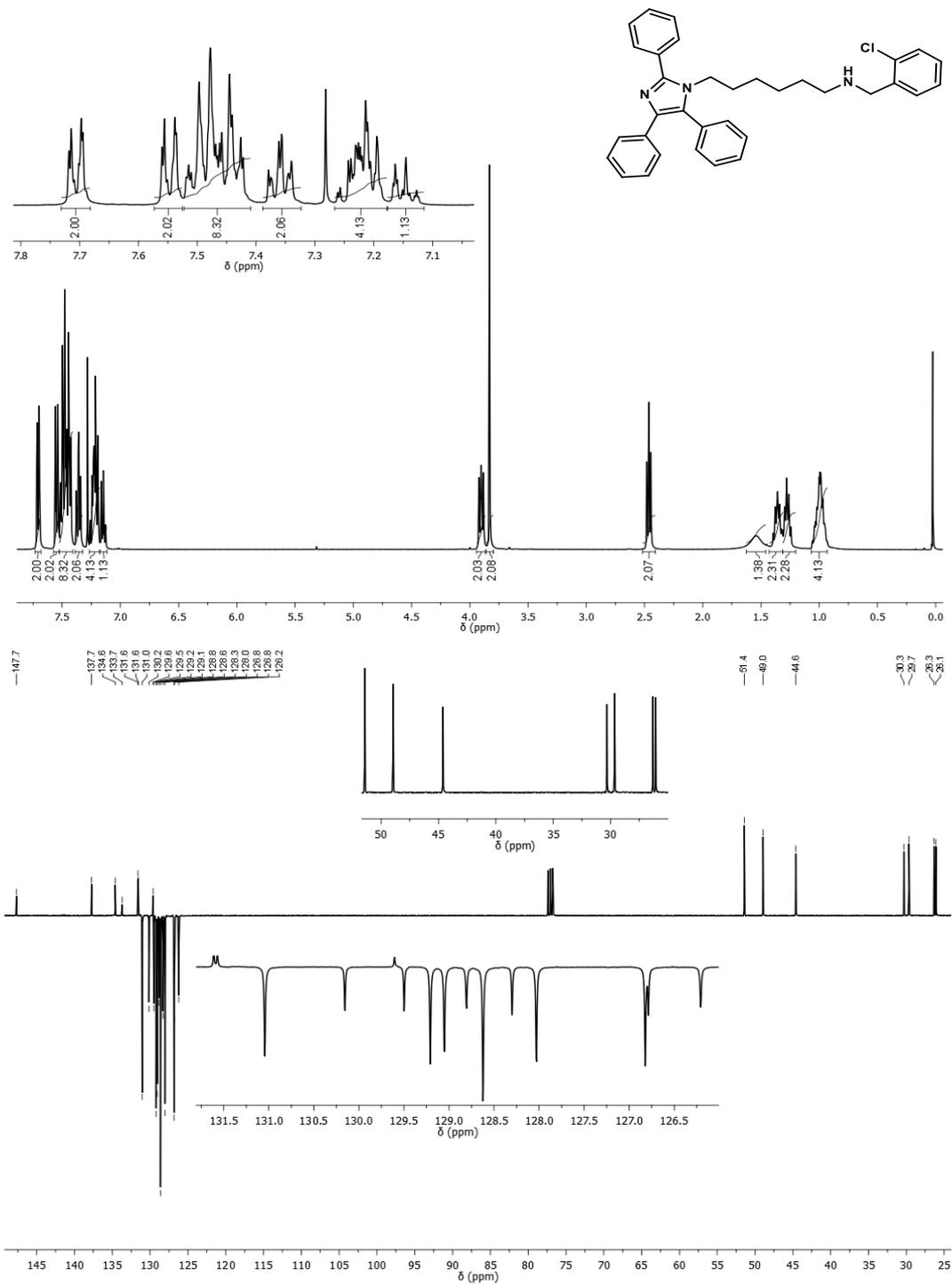


Figura 6

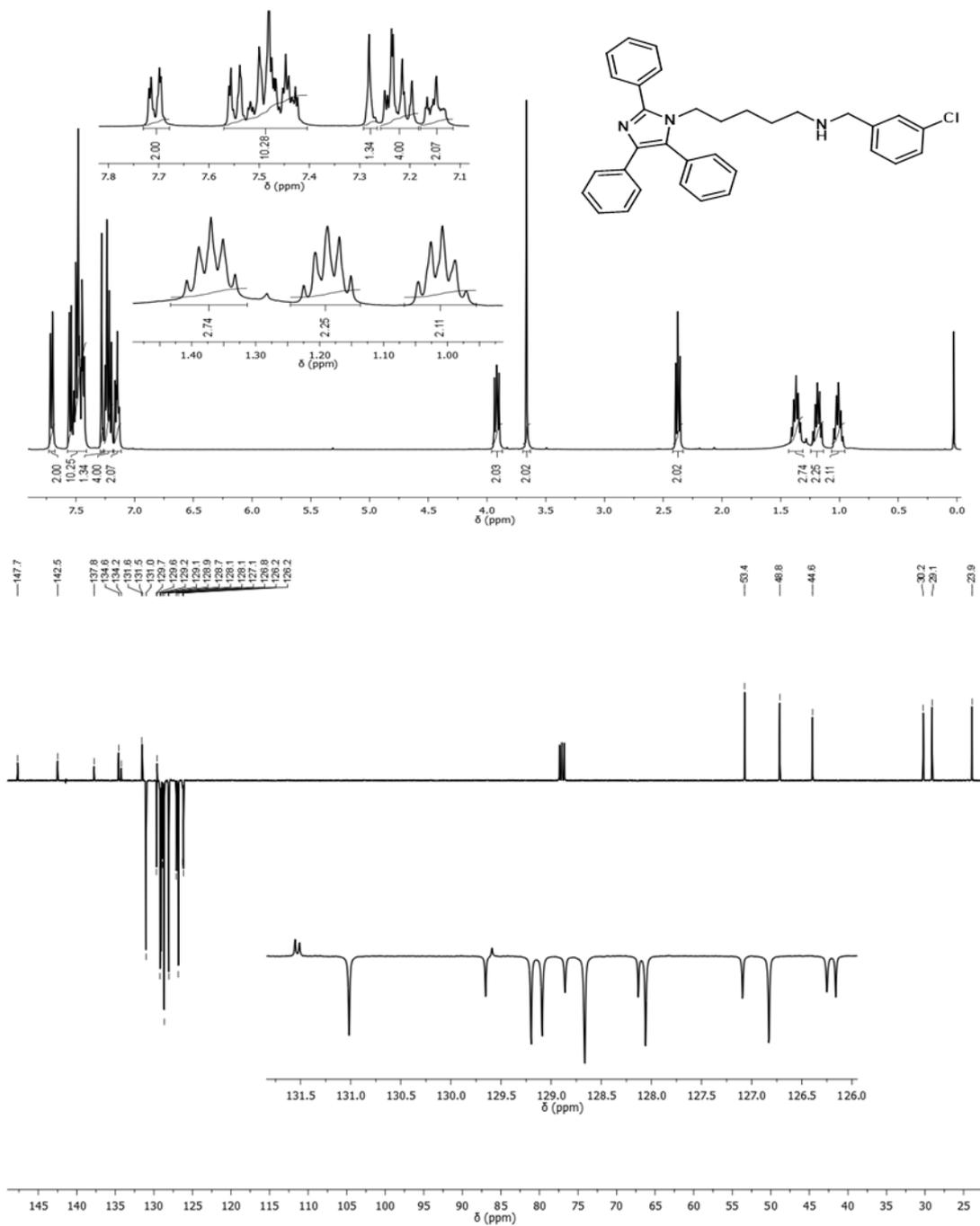


Figura 7

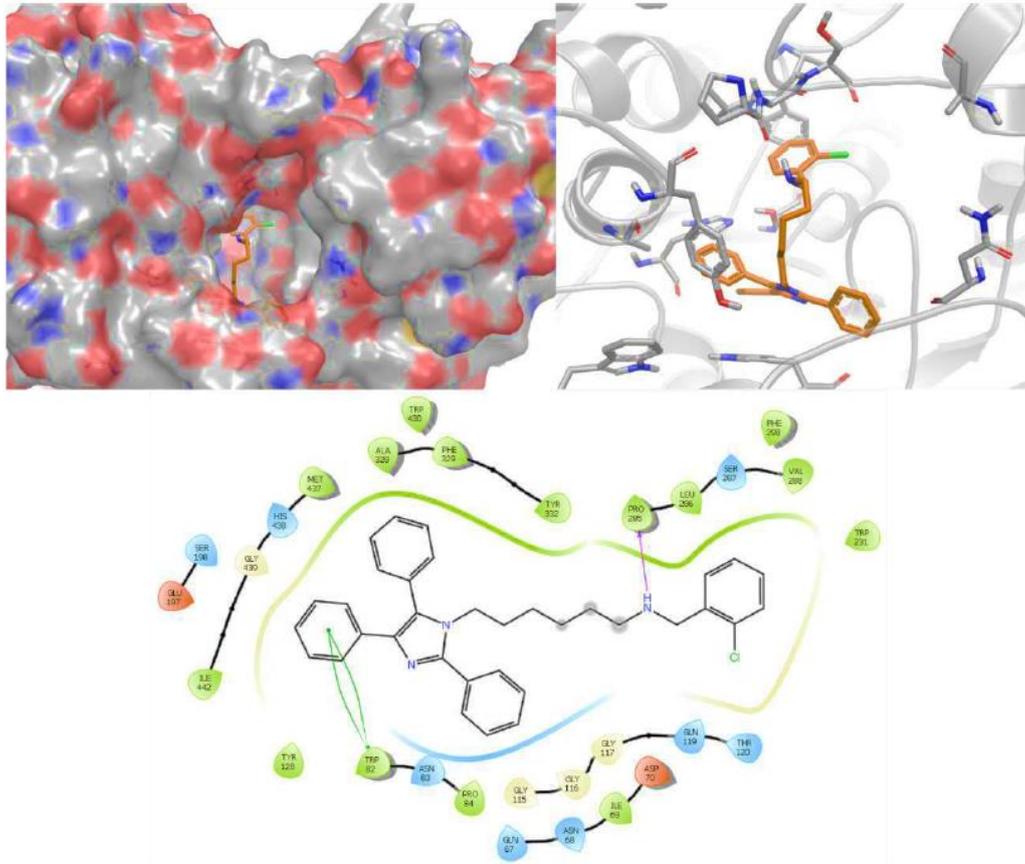


Figura 8

Resumo**MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS IMIDAZÓLICOS, ARÍLICOS E BENZÍLICOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE SÍNTESE E SEUS USOS**

A presente invenção descreve uma molécula híbrida baseada em núcleos de 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e derivados arílicos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, 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.