



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

(21) BR 102017027608-2 A8



(22) Data do Depósito: 20/12/2017

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

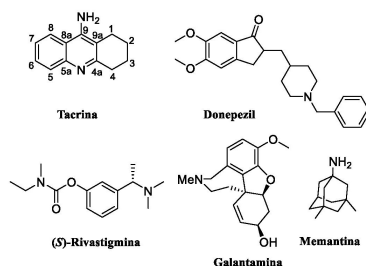
(54) **Título:** MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS LOFINA E DERIVADOS DE CARBOIDRATOS, COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, PROCESSO DE SÍNTESE E SEUS USOS

(51) **Int. Cl.:** C07D 493/04; C07D 493/14; A61K 31/4025; 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 2,4,5-triaril-1H-imidazol 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.



## **Relatório Descritivo de Patente de Invenção**

MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS LOFINA 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 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol 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 a forma mais comum entre as desordens neurodegenerativas, com uma significativa perda de neurônios no sistema colinérgico, déficits cognitivos que estão associados com o principal sintoma da doença, a perda progressiva da memória. (Lopes, J. P. B.; da Costa, J. S.; Ceschi, M. A.; Gonçalves, C. A. S.; Konrath, E. L.; Karl, A. L. M.; Guedes, I. A.; Dardenne, L. E.; *J. Braz. Chem. Soc.*; **2017**, 28, 2218). Em virtude dos baixos níveis de acetilcolina observados na patogênese da DA, vários compostos com atividade de inibição reversível da enzima acetilcolinesterase (AChE) têm sido sintetizados e estudados em fases *in vitro* e *in vivo*. Entretanto, em estágios avançados da DA o nível de atividade da AChE no cérebro decai a valores entre 55% e 67% do normal, enquanto a atividade da butirilcolinesterase (BuChE) cresce a 120%, indicando que a enzima BuChE possui um papel essencial na hidrólise da acetilcolina nessas condições. (Li, Q; Yang, H; Chen, Y; Sun, H; *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 132, 294). Além disso, é conhecido que a atividade da BuChE é maior em cérebros de pessoas idosas em relação a cérebros mais jovens, sendo que em pacientes da DA a BuChE atua principalmente no hipocampo e no córtex temporal. (Bono, G. F.; *et al.*; *Neurochem. Int.* **2015**, 81, 57).

[3] De acordo com dados recentes, entre 2010 e 2011, os prejuízos econômicos causados pela DA nos Estados Unidos superaram os 215 bilhões de dólares. Além disso, a estimativa é que a venda de medicamentos 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). Dentre os cinco fármacos aprovados para o tratamento da DA, quatro são do tipo inibidores de colinesterase (ChEI), a tacrina (Cognex®), a Rivastigmina (Exelon®), a galantamina (Razadyne®, Reminyl®) e o donepezil (Aricept®). Porém, nenhum desses age seletivamente na enzima BuChE, sendo que a galantamina e o donepezil são seletivos para a AChE. (Knez, D.; Sova, M.; Košak, U., Gobec, S.; *Fut. Med. Chem.* **2017**, *9*, 811). O outro fármaco, a memantina (Namenda®), age como antagonista dos receptores de *N*-metil-D-aspartato (NMDA) (Figura 1). A tacrina (9-amino-1,2,3,4-tetraidroacridina) foi o primeiro fármaco aprovado nos Estados Unidos pela *Food and Drug Administration* (FDA), em 1993, para o tratamento sintomático da DA. Apesar de ser um potente inibidor de ambas as enzimas AChE e BuChE, seu uso se tornou bastante limitado devido aos efeitos colaterais, principalmente a hepatotoxicidade. Os demais fármacos anti-Alzheimer também possuem efeitos colaterais, tais como diarreia, tonturas, sonolência, perda de peso, entre outros. (Ellul, J.; Archer, N.; Foy, C. M. L.; Poppe, M.; Boothby, H.; Nicholas, H.; Brown, R.; Lovestone, S.; *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2007**, *78*, 233).

[4] Desde que Pang e colaboradores descreveram os compostos do tipo bis(n)-tacrina, o número compostos estudados que possuem dupla interação com os sítios catalítico ativo (CAS) e aniônico periférico (PAS) das enzimas AChE e BuChE, têm aumentado significativamente. (Hu, S. Q.; Wang, R.; Cui, W.; Mak, S. H.; Li, G.; Hu, Y. J.; Lee, M. Y.; Pang, Y. P.; Han, Y. F., *CNS Neurosci Ther.* **2015**, *21*, 953). Híbridos contendo o núcleo tacrina conectado por uma cadeia metilênica a um outro núcleo bioativo têm sido estudados e têm se mostrado promissores como moléculas multialvo para o tratamento sintomático da DA. (Spilovska, K.; Korabecny, J.; Nepovimova, E.; Dolezal, R.; Mezeiova, E.; Soukup, O.; Kuca, K.; *Curr. Top. Med. Chem.* **2017**, *17*, 1006-1026). Híbridos tacrina-lofina (Figura 2), trabalho publicado pelo nosso grupo em 2013, também mostraram ser potentes inibidores das enzimas AChE e BuChE, sendo a maioria seletivos para a BuChE. (BR1020140076069) Neste trabalho verificou-se também que o dímero bis(8)lofina inibiu a enzima AChE na escala nanomolar, revelando o núcleo lofina como uma nova plataforma no desenvolvimento de compostos ChEI. (da Costa, J. S.; Lopes, J. P. B.; Russowsky, D.; Petzhold, C. L.; Borges, A. C. D.; Ceschi, M. A.; Konrath, E.; Batassini, C.; Lunardi, P. S.; Goncalves, C. A. S.; *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *62*, 556-563)

[5] A lofina (2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol, Figura 2) é um derivado imidazólico que apresenta três substituintes fenilas e possui atividade antioxidante e antibiótica. (Satyanarayana, V. S. V.; Sivakumar, A.; *Chem. Pap.* **2011**, *65*, 519). O núcleo imidazólico é encontrado em vários produtos naturais e possui diversas atividades farmacológicas, tais como anticâncer, antivírus, antibiótica,

anti-inflamatória, entre outros. (US5700826) (Cardoso, A. L.; Lemos, A.; Melo, T.; *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 5159). Compostos contendo o anel imidazólico têm sido explorados na literatura como inibidores de colinesterase, na forma de benzimidazóis e fenantroimidazóis, fundidos com anéis benzênicos com fim de melhorar as interações  $\pi$ - $\pi$  *stacking* com os aminoácidos-alvo no sítio ativo (Figura 2). (Yoon, Y. K.; Ali, M. A.; Wei, A. C.; Choon, T. S.; Khaw, K. Y.; Murugaiyah, V.; Osman, H.; Masand, V. H.; *Bioorg. Chem.* **2013**, *49*, 33). O núcleo imidazólico mostrou-se efetivo no bloqueio dos canais  $\beta$ -amiloide, que são formados em membranas celulares induzidos pelo acúmulo de peptídeos A $\beta$ , e que permitem a entrada de cálcio extracelular. Tal processo induz a um aumento na concentração intracelular de íons cálcio, causando distúrbios na homeostase deste metal. O bloqueio destes canais previne a apoptose celular induzida por A $\beta$ . (Arispe, N.; Diaz, J. C.; Flora, M.; *Biophys. J.*, **2008**, *95*, 4879).

[6] Compostos híbridos multialvo para o tratamento da DA que não possuem em sua estrutura o núcleo tacrina ou algum núcleo derivado de uns dos fármacos comercializados, têm sido uma abordagem pouco recorrente na literatura. Devido a alta toxicidade, composições sem tacrina e com alta afinidade pelas colinesterases são potenciais promissoras para o tratamento da DA com menos efeitos hepatotóxicos para os pacientes. Nesse contexto, no presente trabalho o núcleo lofina 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. (WO 2004035062-A1).

[7] Entre as estratégias na Química Medicinal para o desenvolvimento de novos fármacos, o desenho de fármacos baseado em estrutura (SBDD) é uma das abordagens mais versáteis e amplamente usadas dentro das pesquisas de descoberta 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.

[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.

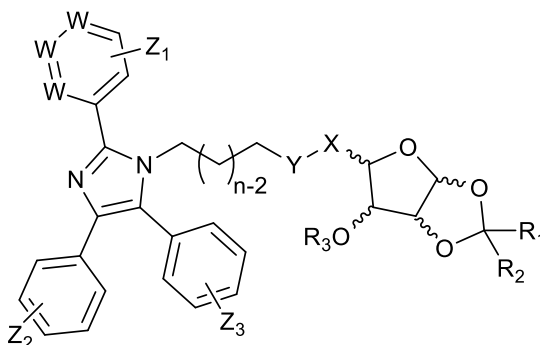
[9] O programa GOLD é um dos mais utilizados para estudos de *docking* proteína-ligante Jones, (G., Willett, P., Glen, R. C., Leach, A. R. & Taylor, R.; *J. Mol. Biol.* **1997**, *267*, 727–748) sendo bastante competitivo em diversos estudos comparativos. Além disso, a função de avaliação empírica ChemPLP 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.

## **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

[10] 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) e carboidratos ou derivados de carboidratos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, via reação de substituição nucleofílica.

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

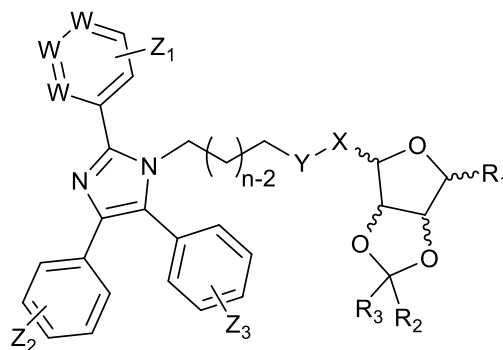
- a. Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo carboidrato D-xilose, um derivado do carboidrato D-xilose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- $R_1$  e  $R_2$  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;
- W é selecionado entre CH ou N;
- 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);
- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados 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;

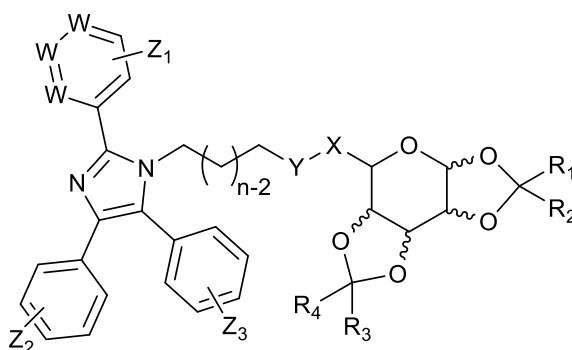
**b.** Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo carboidrato D-ribose, um derivado do carboidrato D-ribose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- $R_1$  é selecionado entre os grupos H, OH, OMe, OEt, OAc, OBn, alcóxi, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- $R_2$  e  $R_3$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- 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);
- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados 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;

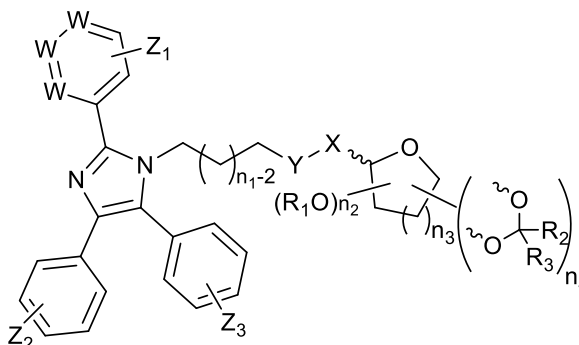
c. Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1H-imidazol e um núcleo carboidrato D-galactose, um derivado do carboidrato D-galactose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno ( $\text{CH}_2$ ), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila ) e calcogênios (S, Se, Te);
- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR,  $\text{NH}_2$ , 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;

[12] 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 carboidrato ou um derivado de carboidrato, apresentando a seguinte estrutura:



em que:

- $R_1$  é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- $R_2$  e  $R_3$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno ( $\text{CH}_2$ ), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila ) e calcogênios (S, Se, Te);

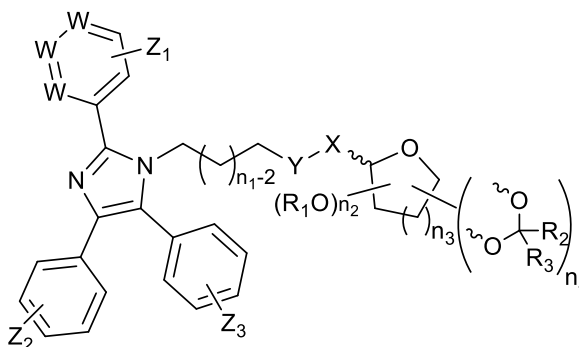


- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR,  $NH_2$ , NH, NHR ou outros grupos retiradores ou doadores de elétrons, onde R é selecionado entre os grupos alquila, arila, alila, benzila ou propargila;
- O valor de " $n_1$ " pode variar entre 1 e 20;
- O valor de " $n_2$ " pode variar entre 0 e 4;
- O valor de " $n_3$ " pode variar entre 1 e 2;
- O valor de " $n_4$ " pode variar entre 0 e 2.

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

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

[15] 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:

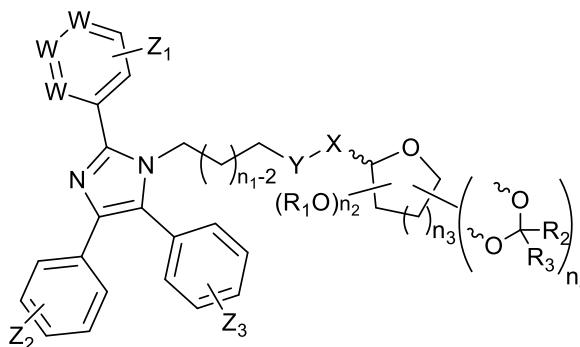


em que:

- $R_1$  é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- $R_2$  e  $R_3$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- 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);

- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados 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 " $n_1$ " pode variar entre 1 e 20;
- O valor de " $n_2$ " pode variar entre 0 e 4;
- O valor de " $n_3$ " pode variar entre 1 e 2;
- O valor de " $n_4$ " pode variar entre 0 e 2.

**[16]** 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:

- $R_1$  é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- $R_2$  e  $R_3$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- 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);
- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados 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 " $n_1$ " pode variar entre 1 e 20;
- O valor de " $n_2$ " pode variar entre 0 e 4;

- O valor de "n<sub>3</sub>" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n<sub>4</sub>" pode variar entre 0 e 2.

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

[18] 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.

[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 (lofina) e carboidratos ou derivados de carboidratos, separados por cadeias espaçadoras metilênicas, via reação de substituição nucleofílica.

[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, são apresentadas as presente figuras:

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

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

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

[25] Na Figura 4, 5, 6, 7 e 8 são apresentados os espectros de RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) (acima) e de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) (abaixo) dos compostos **1a**, **1b**, **1c**, **1d** e **1e**, respectivamente.

[26] Na figura 9 é mostrado um esquema para a rota sintética utilizada para a obtenção dos intermediários derivados da lofina **5a-5c**.

[27] Na Figura 10 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.

[28] Na Figura 11 é mostrado o resultado de *docking* do composto **1e** na AChE::2CKM (A) e na BuChE::5K5E (B).

[29] Na Figura 12 é mostrada a interação entre o carboidrato do inibidor **1e** com resíduos de aminoácidos na entrada da cavidade da BuChE (PDB ID 5K5E). Ligações de hidrogênio estão representadas como linhas pontilhadas amarelas.

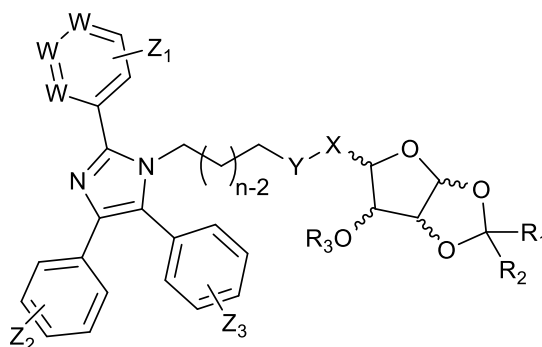
[30] Na Figura 13 é mostrado o resultado de *docking* do composto **1a** na AChE::1ZGC (A) e na BuChE::5K5E (B).

[31] Na Figura 14 é mostrada a interação entre o grupo lofina do inibidor **1a** com Trp231 localizado em um sítio de ligação adjacente no fundo da cavidade da enzima BChE (PDB ID 5K5E). Interação de *stacking* está representada como linha pontilhada azul.

## DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

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

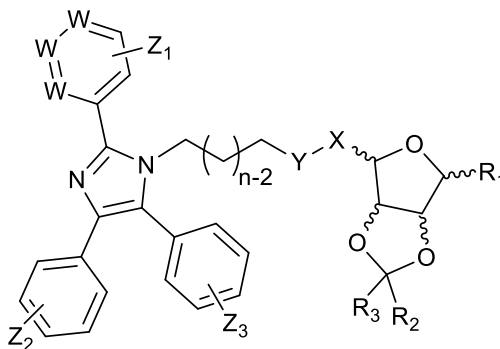
- a.** Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo carboidrato D-xilose, um derivado do carboidrato D-xilose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- R<sub>3</sub> é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- W é selecionado entre CH ou N;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH<sub>2</sub>), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila ) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> e Z<sub>3</sub> são selecionados entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH<sub>2</sub>, 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 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo carboidrato D-ribose, um derivado do carboidrato D-ribose ou um dos seus estereoisômeros:

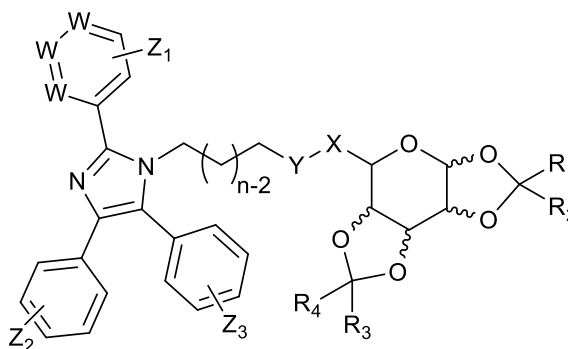


em que:

- R<sub>1</sub> é selecionado entre os grupos H, OH, OMe, OEt, OAc, OBn, alcóxi, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;

- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH<sub>2</sub>), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila ) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> e Z<sub>3</sub> são selecionados entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH<sub>2</sub>, 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;

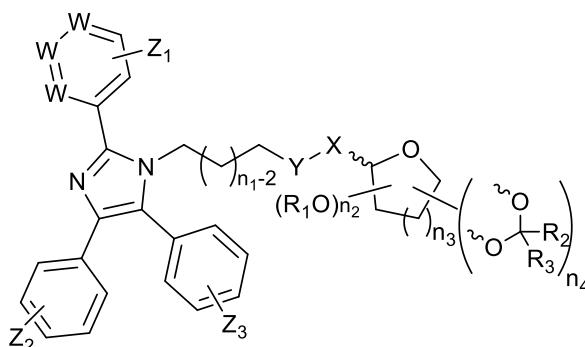
c. Híbrido contendo um núcleo baseado em 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo carboidrato D-galactose, um derivado do carboidrato D-galactose ou um dos seus estereoisômeros:



em que:

- R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH<sub>2</sub>), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila ) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> e Z<sub>3</sub> são selecionados entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH<sub>2</sub>, 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 2,4,5-triaril-1*H*-imidazol e um núcleo carboidrato ou um derivado de carboidrato, apresentando a seguinte estrutura:



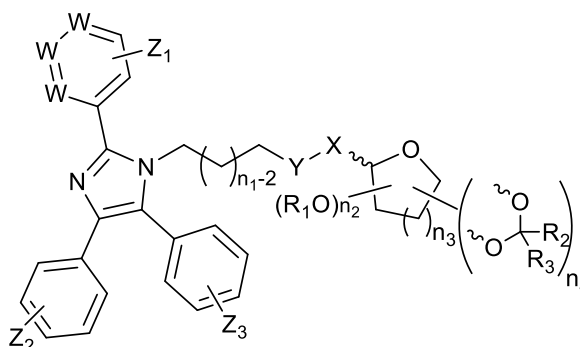
em que:

- $R_1$  é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- $R_2$  e  $R_3$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- $W$  é selecionado entre CH ou N;
- $X$  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);
- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados 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 " $n_1$ " pode variar entre 1 e 20;
- O valor de " $n_2$ " pode variar entre 0 e 4;
- O valor de " $n_3$ " pode variar entre 1 e 2;
- O valor de " $n_4$ " pode variar entre 0 e 2.

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

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

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

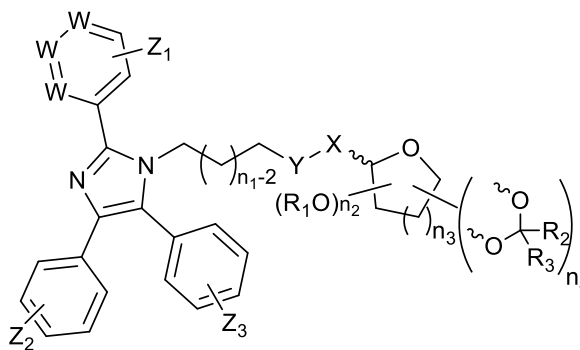


em que:

- R<sub>1</sub> é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH<sub>2</sub>), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila ) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> e Z<sub>3</sub> são selecionados entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH<sub>2</sub>, 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<sub>1</sub>" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n<sub>2</sub>" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n<sub>3</sub>" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n<sub>4</sub>" pode variar entre 0 e 2.

[37] 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:





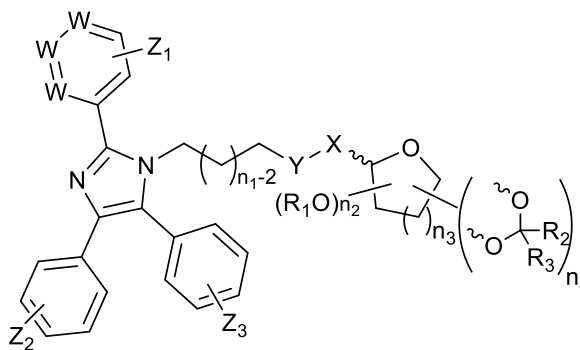
em que:

- $R_1$  é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- $R_2$  e  $R_3$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- $W$  é selecionado entre CH ou N;
- $X$  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);
- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados 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 " $n_1$ " pode variar entre 1 e 20;
- O valor de " $n_2$ " pode variar entre 0 e 4;
- O valor de " $n_3$ " pode variar entre 1 e 2;
- O valor de " $n_4$ " pode variar entre 0 e 2.

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

**[39]** 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.

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



em que:

- R<sub>1</sub> é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- W é selecionado entre CH ou N;
- X e Y são selecionados, independentemente, entre os grupos metileno (CH<sub>2</sub>), oxigênio (O), aminas (NH, NR, onde R = alquila, arila, alila, benzila ) e calcogênios (S, Se, Te);
- Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> e Z<sub>3</sub> são selecionados entre os grupos dos halogênios, OH, OR, HS, SR, NH<sub>2</sub>, 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<sub>1</sub>" pode variar entre 1 e 20;
- O valor de "n<sub>2</sub>" pode variar entre 0 e 4;
- O valor de "n<sub>3</sub>" pode variar entre 1 e 2;
- O valor de "n<sub>4</sub>" pode variar entre 0 e 2.

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

**[42]** 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.

**[43]** 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.

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

[45] 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.

[46] 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.

[47] 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.

[48] 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).

[49] 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:**

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

[51] O processo de preparo de híbridos de acordo com a presente invenção baseia-se na reação de substituição nucleofílica entre *n*-(2,4,5-trifenil-1*H*-imidazol-1-il)alquilaminas ou 1-alquilamino-(2,4,5-trifenilimidazol) e derivados tosilados de carboidratos, como descrito na Figura 3.

[52] Avaliou-se os híbridos lofina-derivados de carboidratos como inibidores das enzimas colinesterases AChE e BuChE e os resultados são mostrados na Tabela 1.

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

Entrada	Composto	IC <sub>50</sub> (nM) [intervalo de confiança]	
		AChE	BuChE
1	1a	3790 [1820 a 7860]	277 [172 a 445]
2	1b	n. a.	708 [215 a 233]
3	1c	n. a.	399 [278 a 574]
4	1d	n. a.	396 [312 a 502]
5	1e	n. a.	174 [96,0 a 316]
6	Tacrina	148 [82 a 265]	62,5 [44,0 a 89,0]
7	Bis(7)-tacrina	10,7 [7,8 a 14,7]	9,07 [6,58 a 12,5]

n. a. = não apresentou atividade.

### Processo de Preparo

Obtenção dos Híbridos lofina-derivados de carboidratos **1a-e**

[54] 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 1-alkilamino-(2,4,5-trifenilimidazol) (**5a-c**) 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 NaHCO<sub>3</sub> (20 mL), seguido de NaCl (20 mL) e lavada com 20 mL de água. A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 CHCl<sub>3</sub> : CH<sub>3</sub>OH (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 8.

[55] Descreve-se na Figura 9, o processo de obtenção dos intermediários derivados da lofina **7a-c**, que possui como etapa chave a reação tetracomponente entre a diamina protegida, benzila, o benzaldeído e acetato de amônio.

[56] Descreve-se na Figura 10, 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., Chemical investigations in the synthesis of O-serinyl aminoribosides. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 142; Kartha, K. P. R.; *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 3415).

#### Híbrido lofina(5)-xilose (1a)

[57] Sólido amarelo; rendimento: 67%; ponto de fusão: 53-54 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -107,6^\circ$  (*c* 0,196, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$  7,72 – 7,63 (m, 2H); 7,57 – 7,36 (m, 10H); 7,24 – 7,09 (m, 3H); 5,91 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H); 4,45 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H); 4,23 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H); 4,15 (s, 1H); 4,06 (s, 1H); 3,88 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 3,27 (dd, *J* = 12,9, 3,4 Hz, 1H); 2,81 (d, *J* = 11,9 Hz, 1H); 2,48 – 2,11 (m, 2H); 1,47 (s, 3H); 1,31 (s, 5H); 1,08 (s, 2H); 0,96 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H); RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)  $\delta$  147,8; 138,0; 134,7; 131,7; 131,6; 131,2; 129,7; 129,4; 129,3; 129,1; 128,9; 128,2; 127,0; 126,4; 111,6; 105,2; 86,2; 78,4; 77,0; 49,2; 48,6; 44,6; 30,2; 28,7; 27,0; 26,3; 23,8; HRMS-ESI: calculado [M-H]<sup>+</sup> 554,3013; calculado 554,3012.

#### Híbrido lofina(6)-xilose (1b)

[58] Sólido amarelo; rendimento: 72%; ponto de fusão: 55-56 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -7,1^\circ$  (*c* 0,210, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); IV (KBr)  $\nu_{max}/cm^{-1}$ : 3434, 2923, 2838, 1649, 1555, 1064, 998, 686; RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$  7,67 (d, *J* = 6,5 Hz, 2H); 7,57 – 7,35 (m, 10H); 7,14 (m, 3H); 5,92 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H); 4,45 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H); 4,23 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H); 4,16 (s, 1H); 4,00 (s, 1H); 3,88 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H); 3,28 (dd, *J* = 12,9, 3,3 Hz, 1H); 2,85 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H); 2,81 – 2,65 (m, 1H); 2,38 (m, 2H); 1,47 (s, 3H); 1,30 (s, 5H); 1,15 (s, 2H); 0,93 (s, 4H); RMN de <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)  $\delta$  147,7; 137,8; 134,6; 131,6; 131,5; 131,1; 129,7; 129,3; 129,1; 128,9; 128,71; 128,09; 126,91; 126,30; 111,45; 105,11; 86,08; 78,16; 77,01; 49,37; 48,54; 44,59; 30,1; 29,1; 26,9; 26,2; 26,1; 25,9; HRMS-ESI: calculado [M-H]<sup>+</sup> 568,3170; encontrado 568,3164.

#### Híbrido lofina(7)-xilose (1c)

[59] Sólido amarelo; rendimento: 61%; ponto de fusão: 54-55 °C;  $[\alpha]_D^{20} = -46,7^\circ$  (*c* 0,120, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>); IV (KBr)  $\nu_{max}/cm^{-1}$ : 3393, 3050, 2928, 2843, 1609, 1450, 1364, 1072, 1010, 981; RMN de

$^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  7,78 – 7,64 (m, 2H); 7,64 – 7,38 (m, 10H); 7,25 – 7,08 (m, 3H); 5,94 (d,  $J = 3,7$  Hz, 1H); 4,48 (d,  $J = 3,6$  Hz, 1H); 4,27 (d,  $J = 2,6$  Hz, 1H); 4,18 (s, 1H); 3,88 (t, 2H); 3,48 (s, 1H); 3,36 (dd,  $J = 12,8, 3,4$  Hz, 1H); 2,91 (d,  $J = 12,8$  Hz, 1H); 2,65 – 2,33 (m, 1H); 1,48 (s, 3H); 1,40 – 1,20 (m, 7H); 1,12 – 0,88 (m, 8H); RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  147,8; 137,8; 134,7; 131,6; 131,6; 131,1; 129,7; 129,3; 129,2; 129,0; 128,8; 128,2; 127,0; 126,4; 111,6; 105,2; 86,1; 78,3; 77,0; 49,6; 48,6; 44,7; 30,4; 29,4; 28,5; 27,0; 26,8; 26,3; 26,1; HRMS-ESI: calculado  $[\text{M-H}]^+$  582,3326; encontrado 582,3329.

### Híbrido lofina(6)-ribose (1d)

[60] Óleo amarelo; rendimento: 45%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -88,4^\circ$  ( $c$  0,301,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ); IV ( $\text{KBr}$ )  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3417, 2928, 2843, 1561, 1108, 693; RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  7,69 (dd,  $J = 7,9, 1,6$  Hz, 2H); 7,56 – 7,39 (m, 10H); 7,24 – 7,10 (m, 3H); 4,95 (s, 1H); 4,58 (dd,  $J = 11,8, 6,1$  Hz, 2H); 4,27 (t,  $J = 6,9$  Hz, 1H); 3,95 – 3,82 (m, 2H); 3,31 (s, 3H); 2,66 (dd,  $J = 10,9, 9,0$  Hz, 2H); 2,50 – 2,38 (m, 2H); 1,62 (sl, 3H); 1,48 (s, 3H); 1,40 – 1,18 (m, 5H); 1,05 – 0,90 (m, 4H); RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  147,8; 137,9; 134,7; 131,7; 131,8; 131,2; 129,7; 129,3; 129,2; 129,0; 128,8; 128,2; 127,0; 126,3; 112,4; 109,8; 86,3; 85,5; 82,9; 55,2; 53,1; 49,6; 44,8; 30,5; 29,8; 26,6; 26,5; 26,2; 25,1; HRMS-ESI: calculado  $[\text{M-H}]^+$  582,3326; encontrado 582,3327.

### Híbrido lofina(6)-galactose (1e)

[61] Óleo amarelo; rendimento: 64%;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -6,33^\circ$  ( $c$  0,300,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ); IV ( $\text{KBr}$ )  $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ : 3427, 2980, 2923, 2855, 1377, 1202, 1066, 687; RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz)  $\delta$  7,68 (d,  $J = 6,6$  Hz, 2H); 7,47 (m, 10H); 7,23 – 7,06 (m, 3H); 5,53 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H); 4,58 (dd,  $J = 7,9, 1,9$  Hz, 1H); 4,30 (dd,  $J = 4,9, 2,1$  Hz, 1H); 4,16 (d,  $J = 7,9$  Hz, 1H); 3,95 – 3,80 (m, 3H); 2,90 – 2,76 (m, 1H); 2,69 (dd,  $J = 12,5, 3,9$  Hz, 1H); 2,56 – 2,30 (m, 2H); 1,93 (br, 1H); 1,51 (s, 3H); 1,44 (s, 3H); 1,42 – 1,15 (m, 10H); 0,96 (m, 4H); RMN de  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz)  $\delta$  147,7; 137,7; 134,7; 131,6; 131,6; 131,1; 129,7; 129,3; 129,1; 128,9; 128,8; 128,7; 128,1; 126,9; 126,3; 109,2; 108,5; 96,4; 72,1; 70,9; 70,6; 66,8; 49,8; 49,7; 44,7; 30,3; 29,6; 26,4; 26,3; 26,2; 26,1; 25,0; 24,4; HRMS-ESI: calculado  $[\text{M-H}]^+$  638,3588; encontrado 638,3585.

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

[62] 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

[63] 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.

[64] 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).

[65] 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.

[66] A série de compostos híbridos lofina-derivados de carboidratos é sistematicamente seletiva para BuChE, demonstrando valores de  $IC_{50}$  na faixa de nanomolar enquanto que apenas valores na faixa de micromolar foram obtidos contra AChE. A diferença de atividade obtida entre os compostos pode ser devida ao fato de o grupo lofina ser bastante volumoso, o que poderia dificultar sua entrada no sítio de ligação mais estreito da AChE.

[67] O inibidor mais potente da série contra BuChE, **1e** ( $IC_{50} = 174,40$  nM, DockTScore:: $5K5E = -11,44$  kcal mol<sup>-1</sup>) é extremamente seletivo, não tendo atividade reportada contra AChE. Seu modo de ligação na cavidade da BuChE se caracteriza por possíveis interações de *stacking* com resíduos aromáticos no fundo do sítio de ligação, principalmente Trp82, Phe329 e Trp231 (Figura 11B). Interações do tipo *stacking* com o resíduo Trp231 da BuChE têm sido consideradas como estratégicas para o desenvolvimento de inibidores seletivos para BuChE, uma vez que o acesso ao mesmo resíduo aromático na AChE (Trp233 na conformação 2CKM) é estericamente impossibilitada pela presença dos resíduos volumosos Phe288 e Phe290. Nestas mesmas posições na BuChE, existem os resíduos hidrofóbicos menos volumosos Leu286 e Val288, permitindo o acesso de grupos hidrofóbicos e volumosos ao Trp231. Adicionalmente, o grupo amino positivamente carregado do *linker* realiza uma ponte salina com a cadeia lateral do Asp70 (Figura 12). Devido à proximidade deste grupo carregado com a Tyr332, é possível que ocorra uma interação do tipo cátion- $\pi$ . A região do carboidrato encontra-se exposta ao solvente, interagindo com a entrada da cavidade por interações fracas de van der Waals e uma possível ligação de hidrogênio entre o oxigênio de um dos grupos dioxol com a cadeia lateral da Ser72. O modo de ligação mais favorável para o composto **1e** na enzima AChE foi obtido na conformação 2CKM (DockTScore:: $2CKM = -13,62$  kcal mol<sup>-1</sup>, Figura 11A). Apesar de as funções de avaliação preverem o composto **1e** como potente inibidor de AChE, provavelmente o modo de ligação predito não é viável experimentalmente devido à dificuldade estérica associada à presença de resíduos volumosos no meio da cavidade, impedindo ou dificultando a passagem do grupo lofina até o fundo da cavidade da AChE como predito pelos estudos de *docking*.

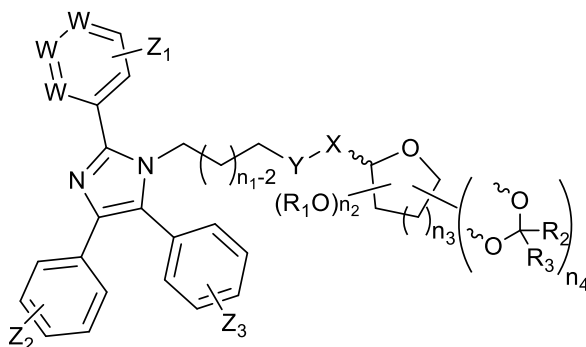
[68] O composto **1a** é um dos mais ativos da série contra AChE ( $IC_{50} = 3790$  nM, DockTScore:: $1ZGC = -13,09$  kcal mol<sup>-1</sup>) e o segundo mais potente contra BuChE ( $IC_{50} = 277$  nM, DockTScore:: $5K5E = -11,04$  kcal mol<sup>-1</sup>). De acordo com o modo de ligação predito para BuChE



Figura 13B, o inibidor **1a** interage principalmente com a enzima através de (i) interações de *stacking* com resíduos aromáticos no fundo do sítio de ligação, (ii) ponte salina entre o grupo amino, positivamente carregado, com a cadeia lateral do Asp70, e (iii) interação do tipo T-*stacking* com o resíduo Trp231 do sítio hidrofóbico envolvido na seletividade para BuChE (Figura 14). O grupo do carboidrato encontra-se em sua maior parte exposta ao solvente. O melhor modo de ligação de **1a** contra a AChE foi obtido para a conformação 1ZGC (DockTScore::1ZGC = -13,09 kcal mol<sup>-1</sup>), caracterizando-se principalmente por: (i) interações de *stacking* com resíduos aromáticos no fundo do sítio de ligação (Trp84, Phe330, Trp432), e (ii) ligação de hidrogênio entre o grupo hidroxila da xilose com a cadeia principal da Phe288.

## Reivindicações

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



em que:

- $R_1$  é selecionado entre os grupos H, alquila, arila, alila, acetila, benzila, ou outros grupos protetores típicos de carboidratos;
- $R_2$  e  $R_3$  são selecionados, independentemente, entre os grupos H, alquila, arila ou alila;
- $W$  é selecionado entre CH ou N;
- $X$  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);
- $Z_1$ ,  $Z_2$  e  $Z_3$  são selecionados 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 " $n_1$ " pode variar entre 1 e 20;
- O valor de " $n_2$ " pode variar entre 0 e 4;
- O valor de " $n_3$ " pode variar entre 1 e 2;
- O valor de " $n_4$ " 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  $\mu\text{M}$  até 0,1  $\mu\text{M}$ .

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).

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

8. 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

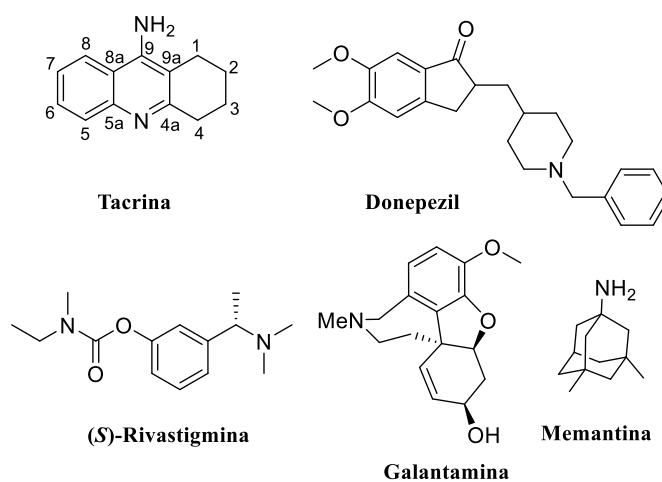


Figura 1

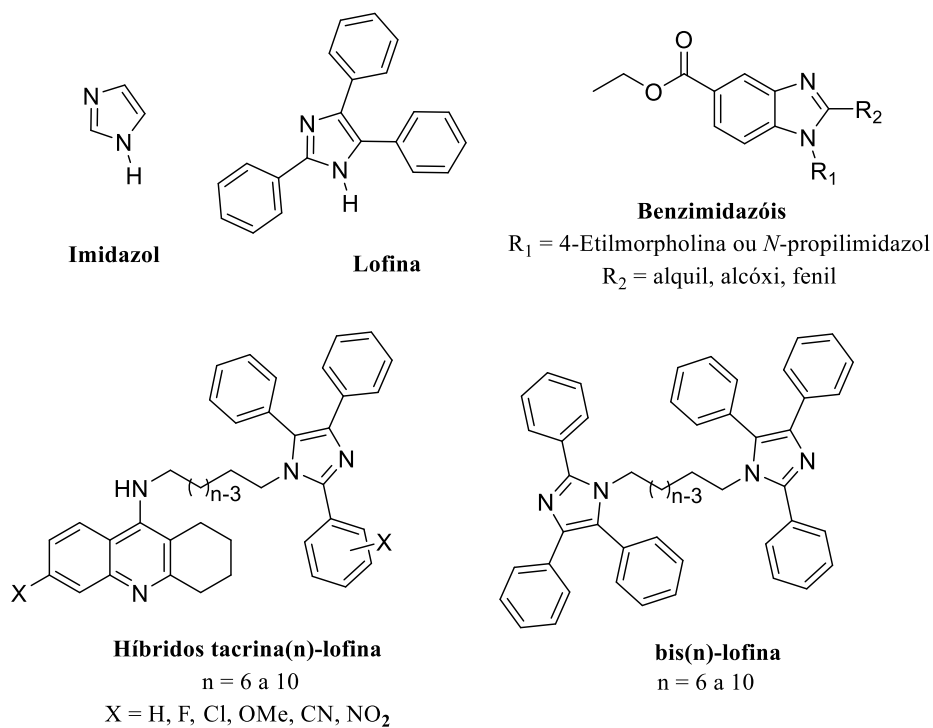


Figura 2

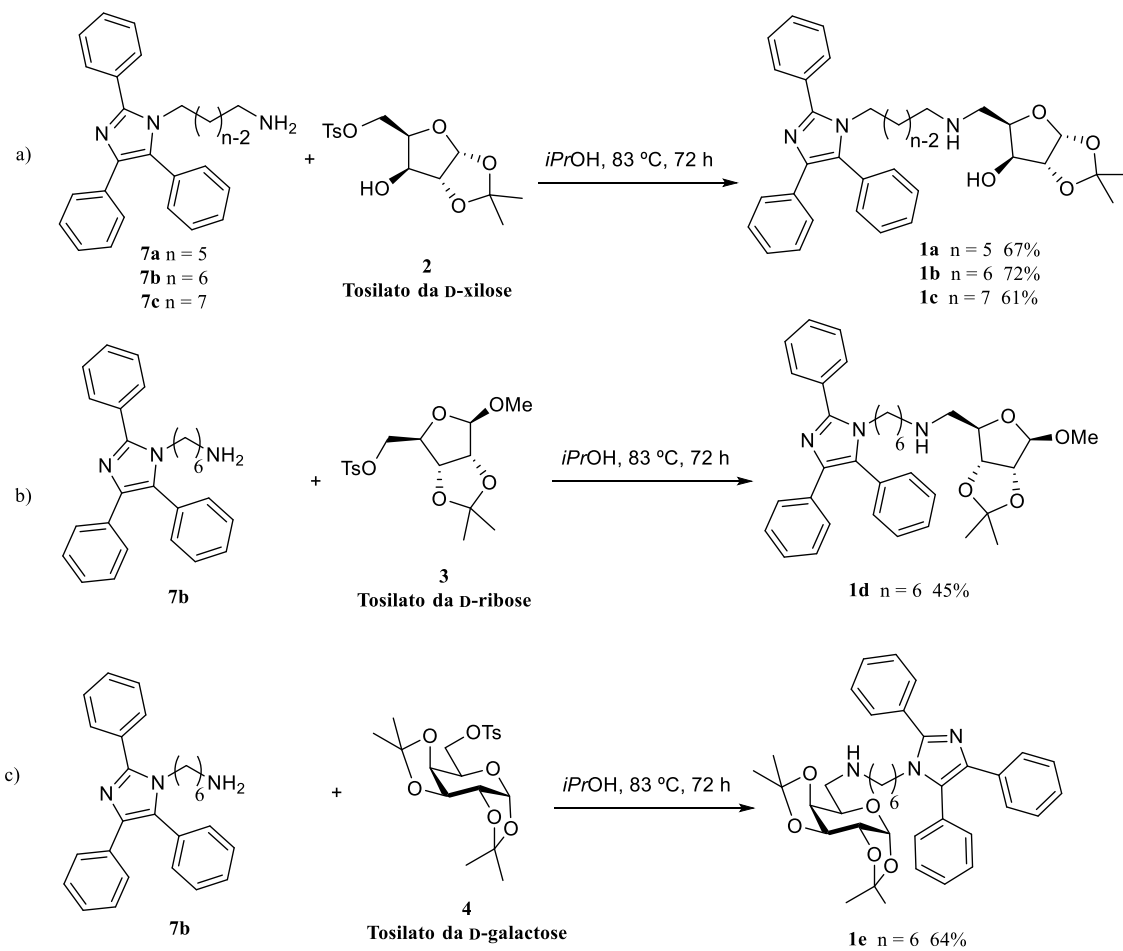


Figura 3

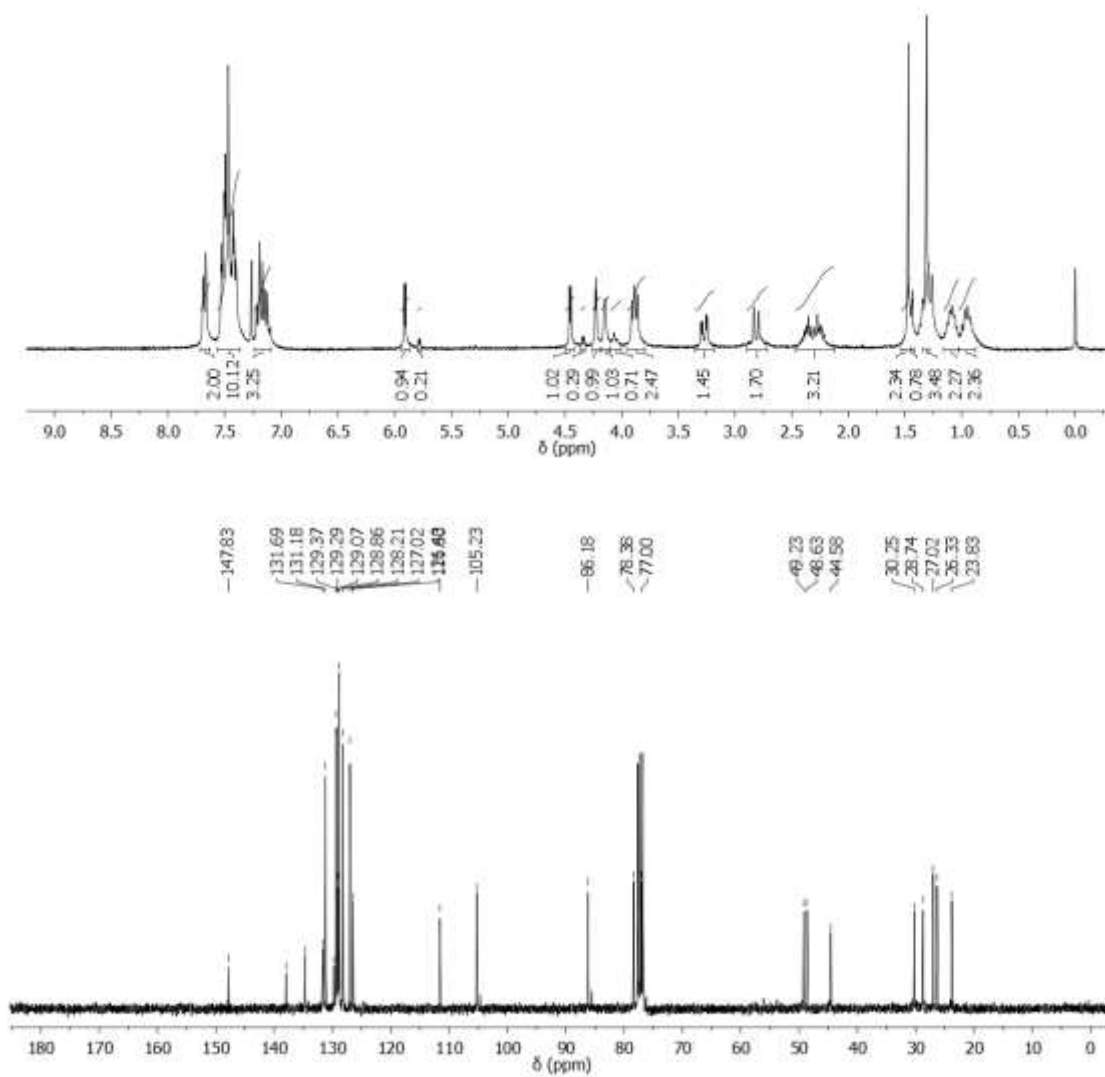
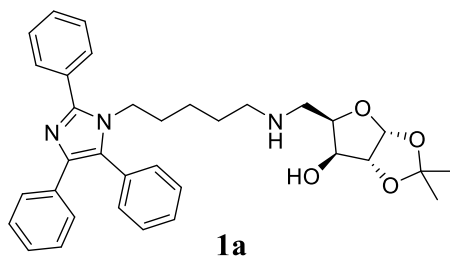


Figura 4

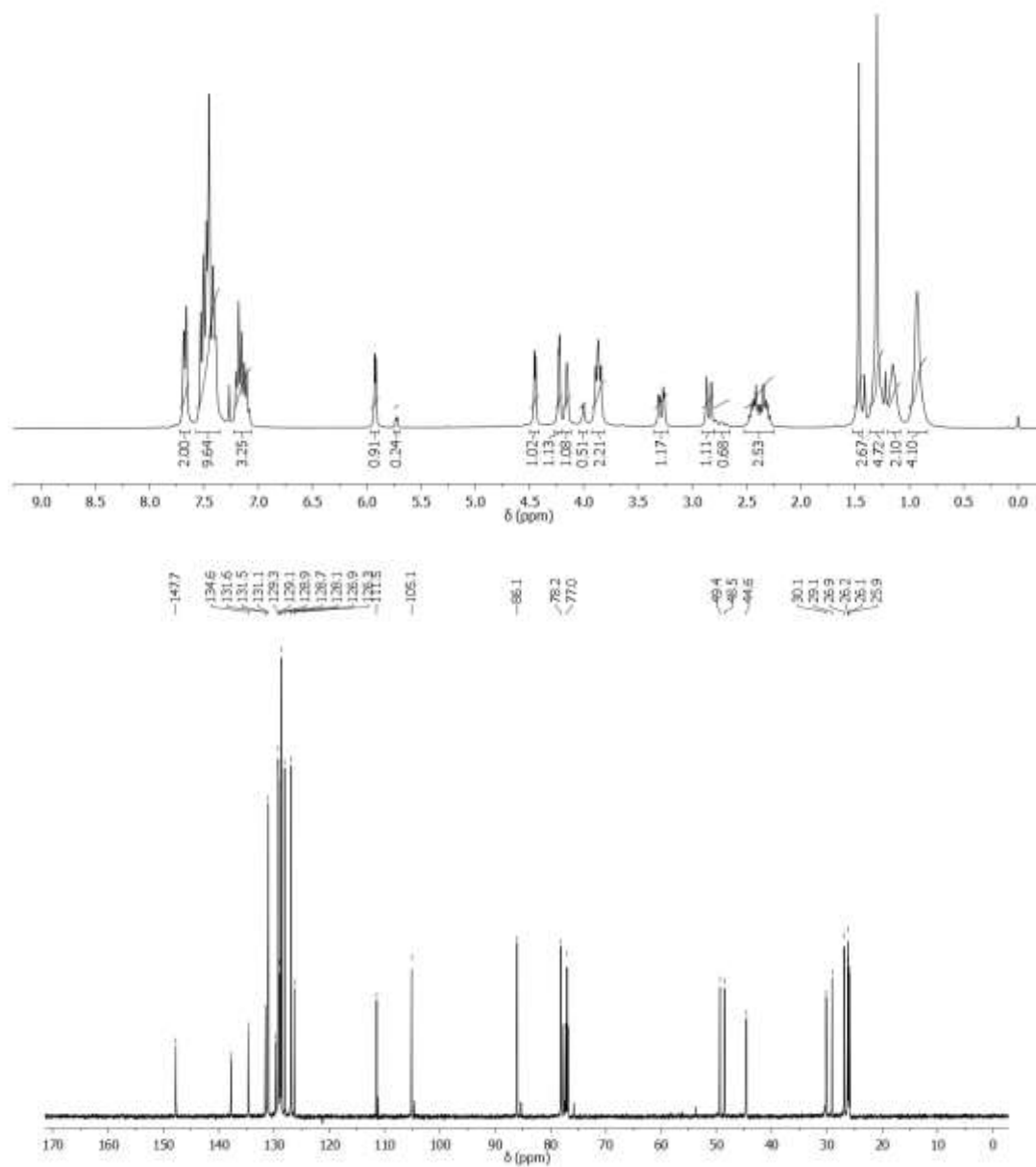
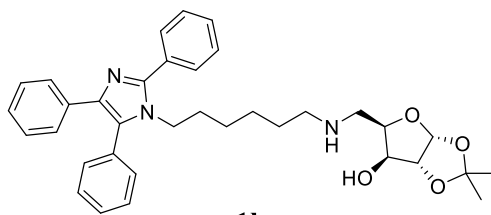
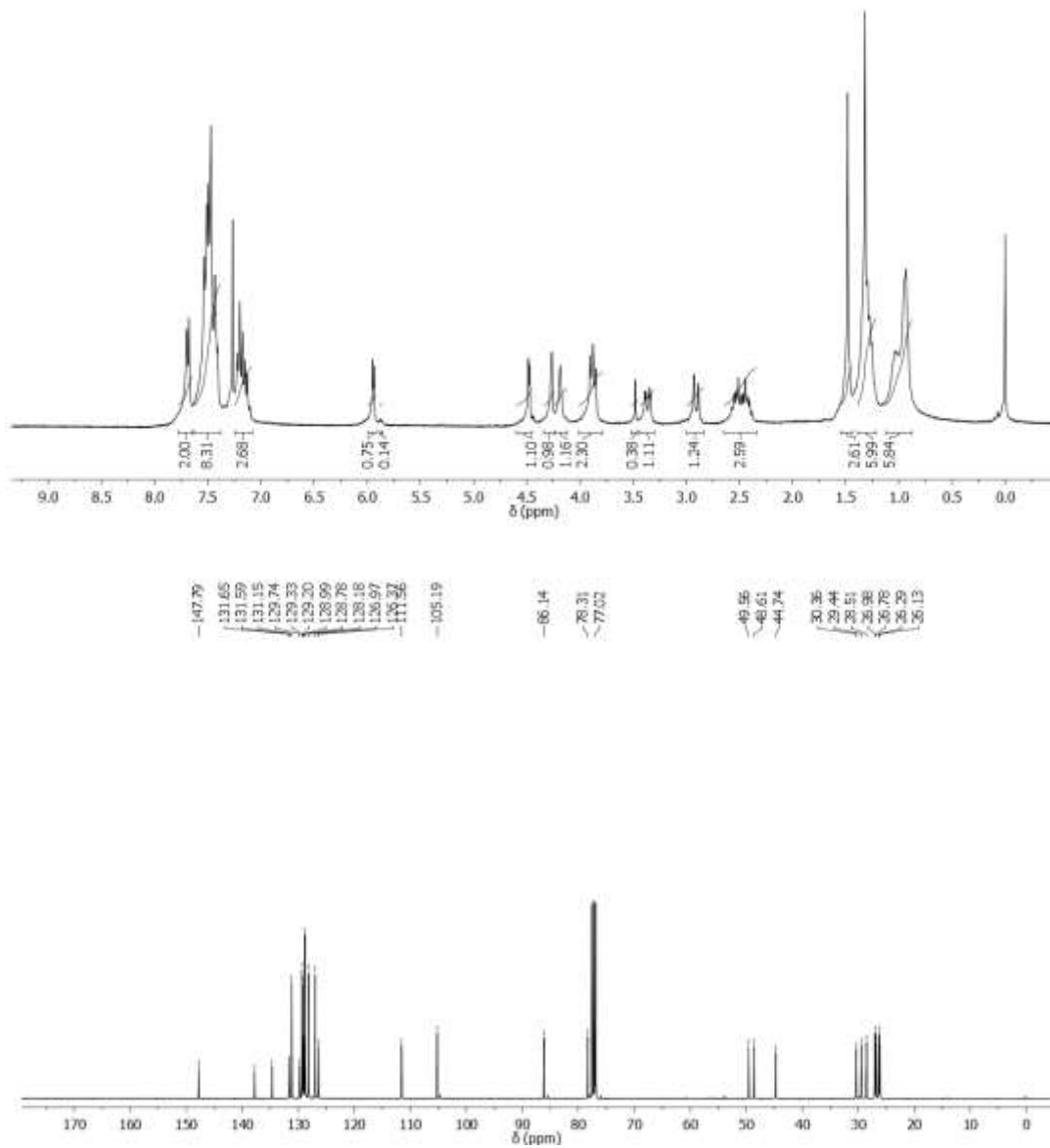
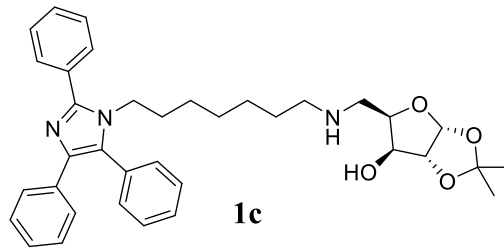
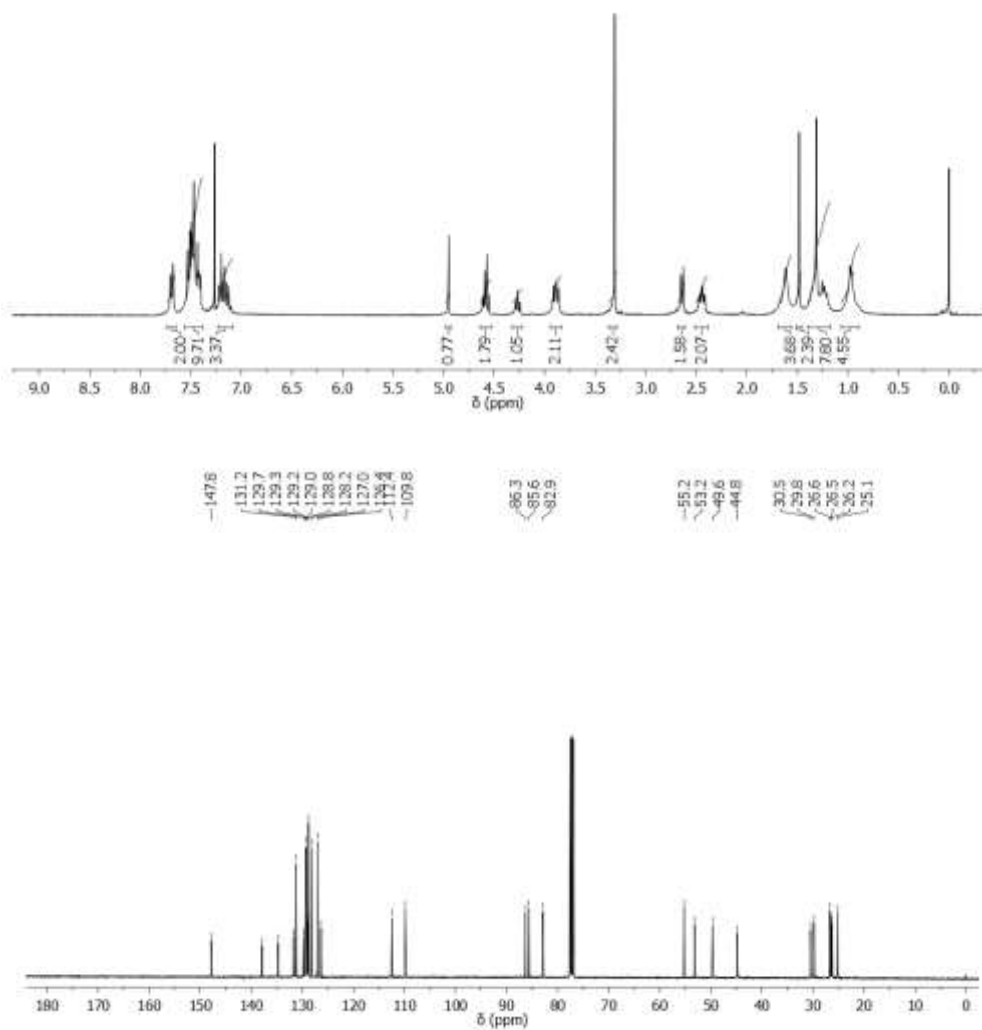
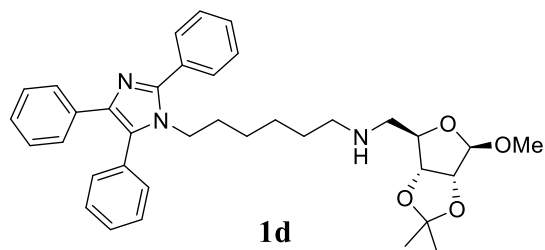


Figura 5

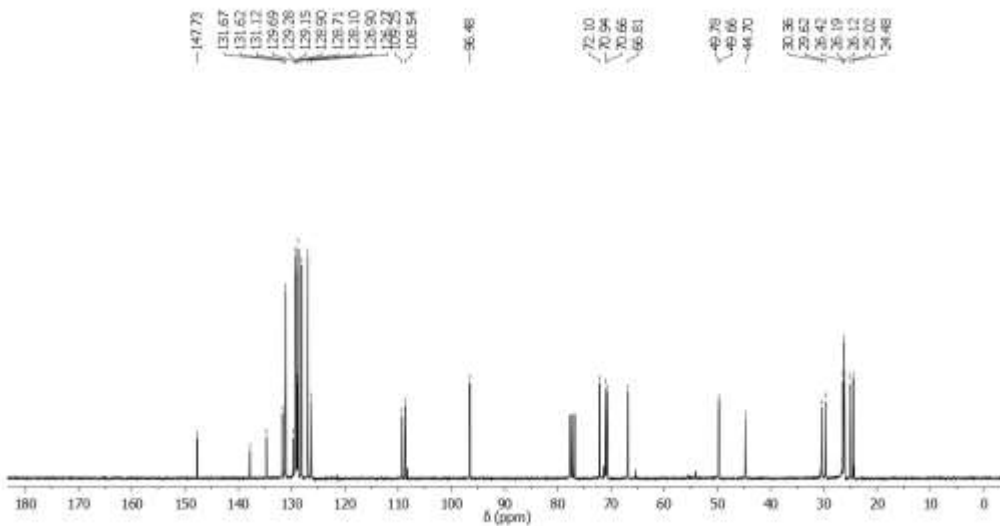
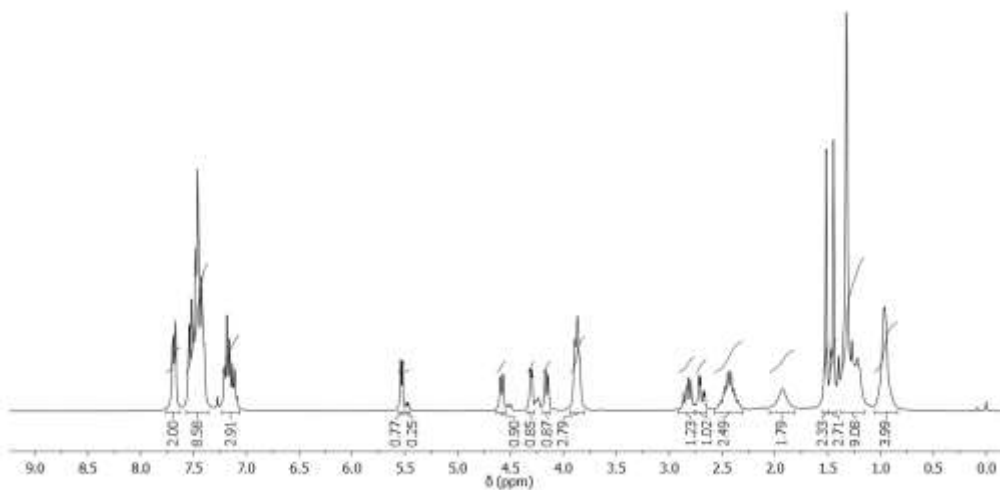
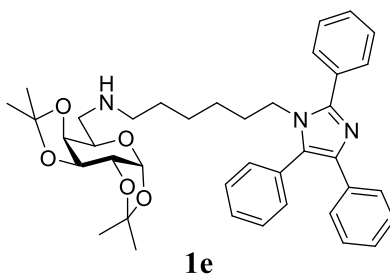


**Figura 6**





**Figura 7**



**Figura 8**

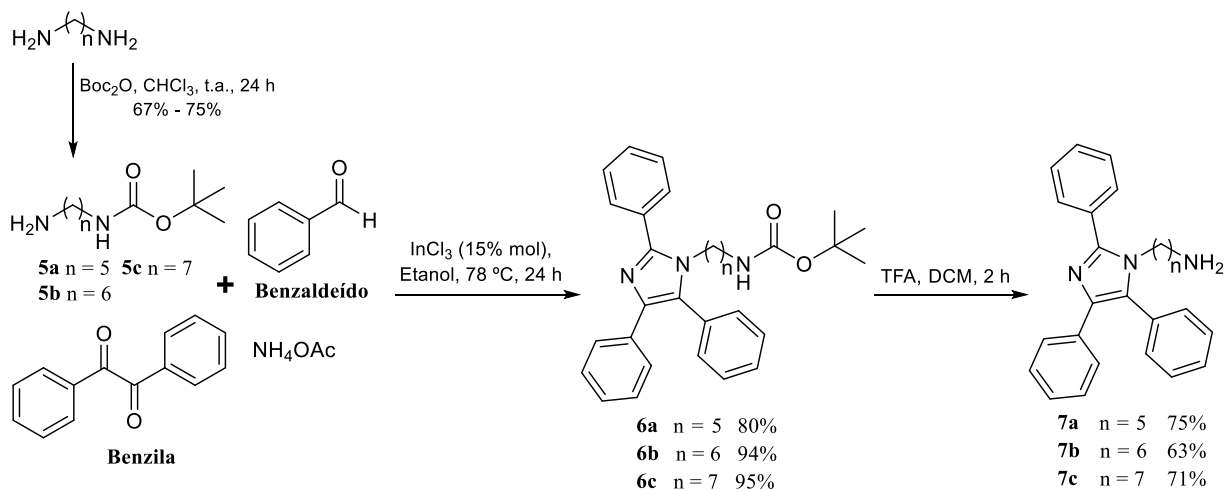


Figura 9

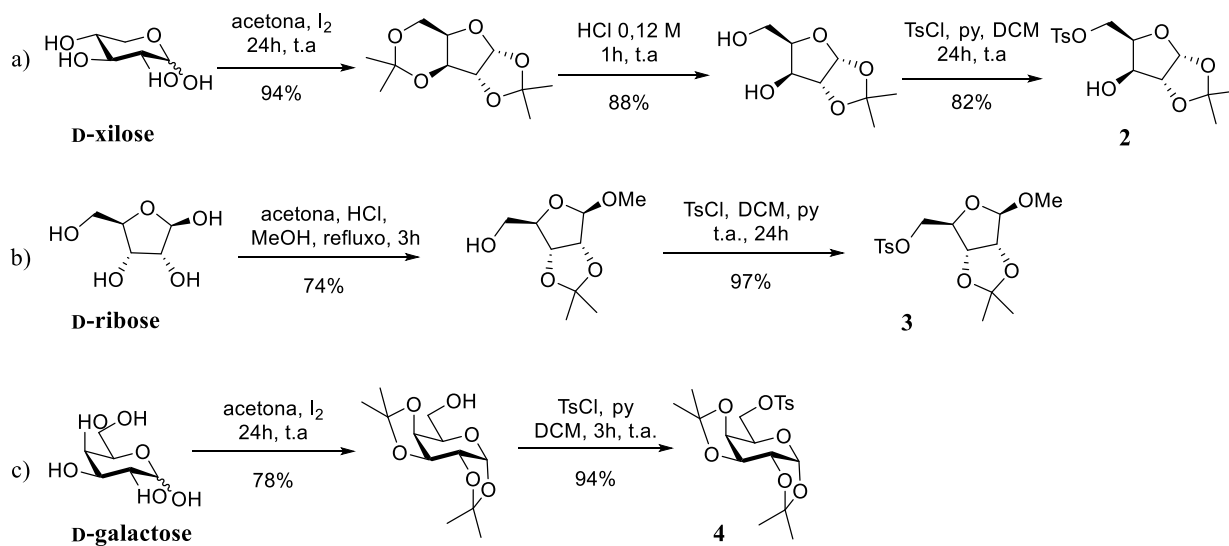


Figura 10

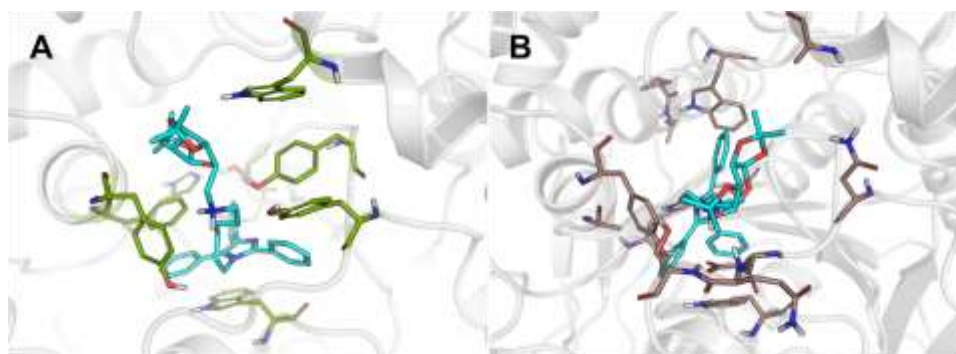
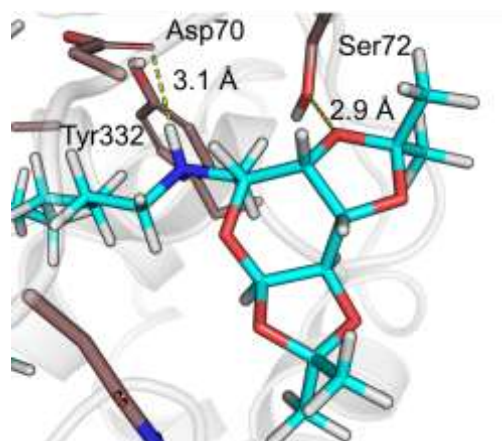
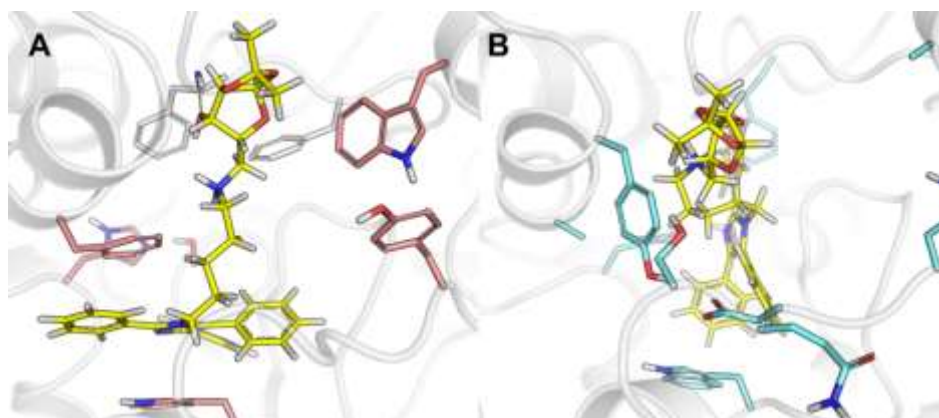
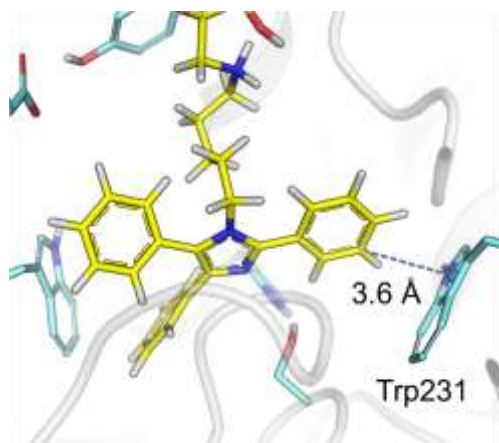


Figura 11

**Figura 12****Figura 13****Figura 14**

**Resumo****MOLÉCULA HÍBRIDA CONTENDO NÚCLEOS LOFINA E DERIVADOS DE CARBOIDRATOS, 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 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.