



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 0305690-2 A**



(22) Data de Depósito: 08/10/2003
(43) Data de Publicação: 28/06/2005
(RPI 1799)

(51) Int. Cl⁷.:
C07D 211/42
C07D 401/12
C07D 409/12
C07D 417/12
A61K 31/45
A61K 31/4525
A61K 31/4535
A61K 31/454
A61K 31/4545
A61P 25/00
A61P 21/04

(54) Título: **NOVOS DERIVADOS PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO**

(71) Depositante(s): Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ (BR/RJ), Universidade Estadual Paulista - UNESP (BR)

(72) Inventor(es): Cláudio Viegas Junior, Vanderlan da Silva Bolzani, Eliezer Jesus de Lacerda Barreiro, Newton G. Castro, Maria Cláudia Marx Young

(74) Procurador: Alves, Vieira, Lopes & Atem Advogados

(57) Resumo: "NOVOS DERIVADOS PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO". A presente invenção proporciona composições farmacêuticas compreendendo novas moléculas capazes de atuar na inibição da acetilcolinesterase, sendo úteis no tratamento de patologias associadas transmissão colinérgica, como quadros de deficiência de memória, doenças neurodegenerativas como o Mal de Alzheimer, Miastenia Gravis ou no tratamento intoxicações motivadas por agentes químicos de ação central; são também descritos processos de produção dos referidos compostos.

Relatório Descritivo

NOVOS DERIVADOS PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO

5 CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a novas composições farmacêuticas contendo novos compostos isolados de *Cassia spectabilis* (sin. *C. excelsa*, *Senna spectabilis*) bem como seus derivados semi-sintéticos. Mais especificamente, os compostos da presente invenção se demonstraram capazes de inibir a acetilcolinesterase, sendo portanto úteis no tratamento de distúrbios da memória, de doenças neurodegenerativas como o Mal de Alzheimer e o Mal de Parkinson. A presente invenção se refere também a processos de obtenção destes compostos.

15 ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa, de grande impacto sócio-econômico, responsável por cerca de 50-60% do número total de casos de demência dentre pessoas acima dos 65 anos (Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 66, 137). Esta patologia afeta cerca de 1,5% da população em idade entre 65-69 anos, 21% entre 85-86 e 39% acima dos 90 anos, acometendo aproximadamente 15 milhões de pessoas em todo o mundo. Esta doença é considerada um dos principais problemas de saúde devido ao enorme impacto ao indivíduo, famílias, ao sistema de saúde e à sociedade como um todo, uma vez que metade dos pacientes é internada em instituições de saúde, mas o restante recebe o tratamento em casa, envolvendo familiares, parentes e amigos para seu cuidado. Invariavelmente, o acompanhamento do paciente traz um enorme *stress* emocional, psicológico e financeiro às famílias, uma vez que o tratamento é caro e o paciente perde gradualmente suas funções motoras e de aprendizado, passando a não reconhecer os familiares mais próximos. Cientistas estimam que cerca de 4 milhões de pessoas são

acometidas desta doença e que sua incidência após os 65 anos de idade duplica a cada 5 anos. Além disso, nos países mais industrializados, a população que ultrapassa os 65 anos de idade é um dos segmentos da população que mais cresce, devendo atingir pelo menos 19 milhões de indivíduos no ano de 2050. Estima-se que metade deste contingente poderá desenvolver alguma forma da DA.

O processo degenerativo progressivo das funções psicomotoras e cognitivas, descrito inicialmente pelo patologista alemão Alois Alzheimer em 1907, dura cerca de 8,5-10 anos, desde o aparecimento dos primeiros sintomas clínicos até a morte. As regiões cerebrais associadas às funções mentais superiores, particularmente o neocórtex e o hipocampo, são aquelas mais comprometidas pelas alterações bioquímicas decorrentes da DA (Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 66, 137; Michaelis, M. L.; *J. Pharm. Exper. Ther.* 2003, 304, 897; Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Am. J. Health Syst. Pharm.* 1996, 53, 1545). Dentre as causas mais evidentes da gênese da doença estão a ocorrência de deposição extracelular de peptídeo β -amilóide (derivado do precursor amilóide de proteína – APP) em plaquetas senis e a formação errática de neurofibrilas intracelulares (contendo uma forma anormal fosforilada de uma proteína associada a microtúbulos - TAU) (Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Am. J. Health Syst. Pharm.* 1996, 53, 1545; Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 66, 137). Todo este processo resulta em perda da função neuronal e dano sináptico, com subsequente comprometimento da memória, da coordenação motora e do raciocínio, além de perda da capacidade cognitiva e demência.

No nível celular, a DA está associada à redução dos níveis de acetilcolina (ACh) no processo sináptico, diminuindo a neurotransmissão colinérgica cortical, além de outros neurotransmissores como noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato e substância P em menor extensão (Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future* 1997, 22, 397; Tabarrini, O.; Cecchetti, V.; Temperini, A.; Filipponi, E.; Lamperti, M. G.;

Fravolini, A.; *Bioorg. and Med. Chem.* 2001, 9, 2921). Estudos mais recentes demonstraram a ocorrência de redução do número de receptores nicotínicos e muscarínicos (M_2) de ACh, muitos dos quais localizados nas terminações colinérgicas pré-sinápticas, havendo preservação dos receptores muscarínicos (M_1 e M_2) pós-sinápticos (Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 66, 137).

A acetilcolina é biossintetizada a partir da acetil-coenzima A (acetil-coA) e colina por ação da acetilcolintransferase, que transfere um radical acetila para a colina, regenerando a Coenzima-A. Este neurotransmissor é encontrado no cérebro e nas junções neuromusculares, compondo parte do sistema nervoso parasimpático. Seus efeitos incluem a contração dos músculos lisos, dilatação dos vasos sanguíneos e regulação da taxa de batimentos cardíacos; no cérebro está envolvida no processo sináptico e está associada ao controle motor, memória e cognição. Sua atividade e permanência na fenda sináptica é regulada por hidrólise catalisada pela acetilcolinesterase (AChE), que regenera a colina, seu precursor. O sítio ativo da AChE responsável pelo processo de hidrólise é composto por uma tríade catalítica de resíduos dos aminoácidos serina (SER 200), histidina (HIS 440) e glutamato (GLU 327). O mecanismo de hidrólise da AChE ocorre por ataque nucleofílico da serina ao carbono carbonílico da ACh, gerando um intermediário tetraédrico estabilizado por ligações de hidrogênio que produz a colina livre e serina acetilada. Ao final, a hidrólise do grupo acetila da serina pela água recupera o sítio enzimático.

O fundamento da hipótese colinérgica está relacionado à capacidade de drogas que, ao potencializarem a função colinérgica central possam melhorar a cognição e, talvez, alguns dos efeitos comportamentais revelados pela doença. Existem várias alternativas para a correção do *deficit* colinérgico, a maioria dos quais enfocando a substituição de precursores de ACh (colina ou lecitina). Entretanto, estes agentes têm sido ineficientes no incremento da atividade colinérgica central (Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 66, 137). Outros estudos investigaram o uso de inibidores de colinesterase (ChE) que reduzam a hidrólise de ACh - por

exemplo, a fisostigmina. Recentemente, têm sido exploradas abordagens terapêuticas que envolvem agonistas específicos de receptores muscarínicos (M_1) e nicotínicos ou antagonistas muscarínicos M_2 (Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 66, 137; 5 Gooch, M. D.; Stennett, D. J.; *Am. J. Health Syst. Pharm.* 1996, 53, 1545). Os avanços obtidos na compreensão da evolução e da patologia molecular da DA têm demonstrado que o uso de inibidores de AChE deve ser a forma mais eficiente de abordagem terapêutica da DA (Francis, P. T.; Palmer, A. M.; Snape, M.; Wilcock, G. K.; *J. Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999, 66, 137; 10 Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future* 1997, 22, 397; Tabarrini, O.; Cecchetti, V.; Temperini, A.; Filipponi, E.; Lamperti, M. G.; Fravolini, A.; *Bioorg. and Med. Chem.* 2001, 9, 2921; Maelicke, A.; Schratzenholz, A.; Samochocki, M.; Radina, M.; Albuquerque, E. X.; *Behavioural Brain Res.* 2000, 113, 199; Quik, M.; Jeyarasasingam, G.; *Eur. J. 15 Pharmacol.* 2000, 393, 223).

Uma das abordagens terapêuticas para a DA é o desenvolvimento de agonistas diretos de receptores muscarínicos pos-sinápticos M_1 . Como exemplos concretos dessa linha de pesquisa, podemos citar os documentos US 4,211,867, US 4,414,211 e US 6,093,733, todos eles descrevendo novos 20 compostos agonistas muscarínicos. A estimulação destes receptores demonstrou efeitos de aumento da cognição em animais. Entretanto, apesar dos esforços no desenvolvimento de ligantes agonistas M_1 , muitos dos compostos que foram testados mostraram baixa seletividade, além de vários efeitos colaterais devido à ativação de receptores M_3 nos intestinos, bexiga e 25 pulmão. Agonistas não-seletivos M_1 podem, também, interagir com receptores M_4 e M_5 no SNC, cujas conseqüências ainda não são completamente conhecidas. Outra abordagem colinérgica seria o desenvolvimento de antagonistas de autoreceptores M_2 pos-sinápticos. Dados farmacológicos em 30 modelos animais demonstraram que o bloqueio destes receptores contribui para o aumento dos níveis de ACh e promove melhora em ensaios que medem a cognição. A despeito do grande número de potentes antagonistas M_2

relatados, muito poucos mostraram seletividade frente a outros subtipos de receptores muscarínicos (Greenlee, W.; Clader, J.; Asberom, T. *et al.*; // *Farmaco* 2001, 56, 247).

A observação inicial de que os antagonistas muscarínicos, como a escopolamina produziam *déficits* na memória de curta duração levou à proposta de que o *déficit* colinérgico na DA era predominantemente de natureza muscarínica. Entretanto, este ponto de vista foi alterado por uma série de evidências, incluindo estudos autoradiográficos e histoquímicos de autópsia de tecido cerebral, além de estudos em imagens cerebrais em pacientes, que demonstraram a perda específica de receptores nicotínicos em maior extensão do que muscarínicos na DA (Maelicke, A.; Schrattenholz, A.; Samochocki, M.; Radina, M.; Albuquerque, E. X.; *Behavioural Brain Res.* 2000, 113, 199; Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 393, 165; Maelicke, A.; Samochocki, M.; Jostock, R.; Fehrenbacher, A.; Ludwig, J.; Albuquerque, E. X.; Zerlin, M.; *Biol. Psych.* 2001, 49, 279)

Atualmente, existem muitas evidências indicando que drogas nicotínicas afetam o aprendizado e a memória. A nicotina e outros agonistas nicotínicos podem melhorar a função cognitiva e psicomotora, enquanto que antagonistas nicotínicos causam deficiência na cognição. Além disso, a incidência da DA em fumantes é menor do que em não-fumantes, o que pode relacionar ao aumento dos níveis de expressão dos receptores nicotínicos da ACh (nAChRs) observados no cérebro de fumantes. Assim sendo, drogas nicotínicas podem apresentar efeitos agudos e crônicos na função cognitiva e, além disso, os efeitos crônicos possivelmente possam incluir a neuroproteção (Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 393, 165). Baseado nesses achados, alguns cientistas vêm buscando, com algum sucesso, o planejamento de novos agonistas nicotínicos, como no caso dos documentos WO 02/44176, WO 94/04152 e WO 03/022856.

Os receptores nicotínicos são expressos sob vários subtipos nos mamíferos, sendo que os subtipos $\alpha 4\beta 2$ e $\alpha 7$ são os mais proeminentes e estão presentes em regiões pos-, pré-, peri- e extrasinápticas. Os nAChR $\alpha 7$

exercem funções pouco diferenciadas daquelas dos subtipos $\alpha 4\beta 2$, com uma permeabilidade para Ca^{++} muito maior, dessensibilização muito mais rápida e farmacologia diferente, incluindo ativação por Ch e bloqueio pela α -bungarotoxina (uma toxina de cobra) (Maelicke, A.; Samochocki, M.; Jostock, R.; Fehrenbacher, A.; Ludwig, J.; Albuquerque, E. X.; Zerlin, M.; *Biol. Psych.* 2001, 49, 279). Devido a sua sensibilidade à colina, os receptores nicotínicos $\alpha 7$ podem ser quimicamente excitados mesmo após o neurotransmissor natural ter sido clivado. Desta forma, este subtipo de receptor pode responder não só a eventos sinápticos, oriundos da liberação de ACh, mas também a alterações de volume na concentração de ACh/Ch. Além disso, devido a sua alta permeabilidade a ions Ca^{++} , a ativação dos receptores $\alpha 7$ pode produzir respostas metabotrópicas nas células excitadas, incluindo a liberação de transmissores controlada por Ca^{++} e estimulação da transcrição genética e biossíntese protéica (Maelicke, A.; Samochocki, M.; Jostock, R.; Fehrenbacher, A.; Ludwig, J.; Albuquerque, E. X.; Zerlin, M.; *Biol. Psych.* 2001, 49, 279; Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 393, 165; Maelicke, A.; Schrattenholz, A.; Samochocki, M.; Radina, M.; Albuquerque, E. X.; *Behavioural Brain Res.* 2000, 113, 199).

Modernamente, três estratégias principais estão sendo aplicadas para equilibrar os *déficits* colinérgicos nicotínicos: estimulação da síntese de ACh, inibição da degradação da ACh e administração de agonistas de receptores nicotínicos. Na prática, nenhum avanço terapêutico foi obtido pela administração de precursores de ACh; a administração de inibidores de esterase da colina, atualmente, vêm sendo a alternativa terapêutica mais comum e que alcançou os melhores resultados. Entretanto, estes inibidores têm seu valor terapêutico limitado e sua grande maioria não é capaz de prevenir a progressão da doença em nenhum de seus níveis (Maelicke, A.; Samochocki, M.; Jostock, R.; Fehrenbacher, A.; Ludwig, J.; Albuquerque, E. X.; Zerlin, M.; *Biol. Psych.* 2001, 49, 279; Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 393, 165; Maelicke, A.; Schrattenholz, A.; Samochocki, M.; Radina, M.; Albuquerque, E. X.; *Behavioural Brain Res.* 2000, 113, 199).

Vários agonistas de receptores nicotínicos estão em fase de testes pré-clínicos e clínicos, embora sejam de difícil dosagem; em níveis elevados, podem causar dessensibilização em maior extensão do que o aumento na ativação dos receptores nicotínicos. Outros desafios, ainda insolúveis até o presente momento, incluem o transporte do fármaco até o receptor nicotínico-alvo (subtipo específico de receptor) no cérebro e a seletividade do subtipo de receptor (Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 393, 165).

Em virtude dos últimos avanços realizados a cerca dos receptores nicotínicos (sua fisiologia, bioquímica e expressão gênica) e sua efetiva participação nos eventos relacionados à DA, a aplicação de moduladores alostéricos destes receptores passou a ser uma nova estratégia no tratamento da DA. Moduladores alostéricos são substâncias que interagem com o receptor através de sítios de ligação distintos daqueles utilizados pela ACh e pelos agonistas e antagonistas nicotínicos. Como a DA está associada com a redução da neurotransmissão nicotínica, os moduladores alostéricos são capazes de potencializar a atividade dos canais dos receptores nicotínicos em resposta à ACh. Estas propriedades deram origem a uma nova classe de ligantes de nAChR, os ligantes potencializadores alostéricos (APL) (Maelicke, A.; Samochocki, M.; Jostock, R.; Fehrenbacher, A.; Ludwig, J.; Albuquerque, E. X.; Zerlin, M.; *Biol. Psych.* 2001, 49, 279; Maelicke, A.; Albuquerque, E. X.; *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 393, 165; Maelicke, A.; Schratzenholz, A.; Samochocki, M.; Radina, M.; Albuquerque, E. X.; *Behavioural Brain Res.* 2000, 113, 199).

A hipótese colinérgica é a teoria bioquímica mais aceita e uma das estratégias de intervenção terapêutica mais eficazes no tratamento da DA. Dentre os vários mecanismos de incrementar a transmissão colinérgica, a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), uma proteína tetramérica responsável pela clivagem metabólica da ACh, é o método mais eficiente de melhorar o *deficit* colinérgico pelo aumento dos níveis de ACh no sistema nervoso central (SNC) e levar a uma melhora sintomática.

Apesar do fato da Miastenia Gravis ser associada a um número reduzido de receptores colinérgicos na junção neuromuscular, diferentemente da Doença de Alzheimer, onde há déficit de neurotransmissor, existe a hipótese de que a inibição da etapa de metabolização do neurotransmissor via AChE

5 poderia também aliviar os sintomas da miastenia. Assim sendo, independentemente de se conhecer completamente os mecanismos envolvidos, a disponibilidade de novas moléculas como as da presente invenção podem ter utilidade no tratamento da Miastenia Gravis.

10 Dentre os fármacos disponíveis no mercado para o tratamento da DA, a tacrina (THA, Cognex[®]) foi o primeiro fármaco (sintético) aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos para uso terapêutico, demonstrando efeito moderado, mas significativo no alívio dos sintomas da DA

15 de intensidade média e leve. Entretanto, sua aplicação tem sido limitada devido aos sérios efeitos colaterais, como a hepatotoxicidade, que tem forçado os pacientes a descontinuarem o tratamento (Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future* 1997, 22, 397). Além da tacrina, outros três fármacos estão sendo comercializados atualmente nos EUA e Europa para o

20 tratamento da DA: donepezil (Aricept[®]), rivastigmina (Exelon[®]) e por último a galantamina (Reminyl[®]). Destes, THA, donepezil e galantamina são inibidores reversíveis da AChE, sendo que a galantamina é um produto natural, recentemente aprovado pelo FDA e que está servindo de protótipo para o

25 desenvolvimento de fármacos anticolinesterásicos (Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future* 1997, 22, 397; Michaelis, M. L.; *J. Pharm. Exper. Ther.* 2003, 304, 897).

A diversidade estrutural dos IACHEs conhecidos e a possibilidade de explorar-se modos de ação distintos têm estimulado o estudo fitoquímico de várias espécies vegetais e de microrganismos que possam fornecer novos modelos de substâncias anticolinesterásicas. Neste sentido, várias espécies

30 vegetais e de microrganismos têm sido estudadas em decorrência de sua utilização popular ou dados etno-botânicos. Um dos exemplos mais difundidos

de fitomedicamentos são os extratos de *Ginkco*. A *Ginkco biloba* (*Ginkgoaceae*) é uma árvore utilizada há séculos na medicina tradicional chinesa para melhoria do estado de alerta. Hoje em dia, a *Ginkco* é provavelmente o extrato vegetal mais difundido para o aumento da função cognitiva. Seu uso prevalece especialmente na Europa, tendo sido recentemente aprovada sua utilização para o tratamento de demência pelo *German Bundesgesundheits Association*. A maioria das evidências sugere que a capacidade de aumento da função cognitiva está associada ao uso de um extrato padronizado, o EGb 761. A medida dos efeitos cognitivos vêm sendo realizada em testes de atenção, aprendizado, memória de tempo-curto e tempo de reação e escolha, mas os resultados não são reprodutivos interpopulações. Além disso, muitos estudos estão publicados em periódicos de circulação restrita, o que dificulta o acesso às informações; na maior parte dos casos, os experimentos *in vivo*, tanto em animais como em humanos, restringe-se a um pequeno número de indivíduos o que compromete uma avaliação conclusiva e abrangente dos resultados (Gold, P. E.; Cahill, L.; Wenk, G.L.; *Psych. Sci. Publ. Int.* 2002, 3, 2).

Alguns estudos utilizando pacientes tratados com o extrato padronizado de *Ginkco biloba* e com placebo revelaram que os efeitos foram comparáveis aos obtidos com o donepezil, que atualmente é a droga de escolha para o tratamento da DA. Aparentemente, muitos dos efeitos protetores do SNC associados ao uso crônico de extratos de *Ginkco* estão relacionados à presença de constituintes terpênicos e flavonóides com propriedades antioxidantes e antiinflamatórias. Estas substâncias podem atuar de diferentes formas, contribuindo para a integridade no tecido neuronal: a) inibindo a atividade das enzimas superóxido-desmutase e monoamino-oxidase, que contribuem para a geração de radicais livres no cérebro e no corpo; b) seqüestrando radicais livres que poderiam causar danos aos neurônios e conseqüentemente retardar as mudanças associadas à idade no cérebro; c) reduzindo a liberação de ácido araquidônico, um co-produto tóxico do

metabolismo lipídico que aparece no cérebro logo após o episódio isquêmico (Gold, P. E.; Cahill, L.; Wenk, G.L.; *Psych. Sci. Publ. Int.* 2002, 3, 2).

A necessidade de tornar mais objetivas e menos dispendiosas as pesquisas por constituintes químicos de plantas, animais e microrganismos, levou ao desenvolvimento de numerosas técnicas de ensaios químicos e bioquímicos para monitoramento e seleção de extratos, frações de extratos e substâncias puras bio- e farmacologicamente úteis. Quanto à busca de inibidores de AChE, dois testes bioautográficos em cromatografia em camada delgada foram recentemente desenvolvidos (Hostettmann, K.; Queiroz, E. F.; Vieira, P. C.; *Princípios Ativos de Plantas Superiores*, 1ª. ed., EdUFSCar: São Carlos, 2003). Marston e cols. (Marston, A.; Kissiling, J.; Hostettmann, K.A.; *Phytochem. Anal.* 2002, 13, 51) utilizaram um corante azóico para identificar a atividade da AChE sobre o acetato de 1-naftila; no outro caso, Rhee e cols. (Rhee, I. K.; van der Meent, M.; Ingkaninan, K.; Verpoorte, R.; *J. Chromatography A* 2001, 915, 217) preconizaram a utilização de 5,5'-ditiobis- (ácido 2-nitrobenzóico) (reagente de Ellmann) para a visualização da atividade enzimática. Aparentemente, o único inconveniente da utilização do reagente de Ellmann é o limite de detecção visual, pois em ambos os casos formam-se halos de inibição brancos sobre placa corada de azul (teste de Marston e Cols.) (Marston, A.; Kissiling, J.; Hostettmann, K.A.; *Phytochem. Anal.* 2002, 13, 51) e amarelo (teste de Rhee e cols) (Hostettmann, K.; Queiroz, E. F.; Vieira, P. C.; *Princípios Ativos de Plantas Superiores*, 1ª. ed., EdUFSCar: São Carlos, 2003).

Um estudo recente com plantas brasileiras (Trevisan, M. T. S.; Macedo, F. V. V.; van de Meent, M.; Rhee, I. K.; Verpoorte, R.; *Química Nova* 2003, 26, 301) utilizou o ensaio bioautográfico de Rhee e cols. e o ensaio de Ellmann em microplaca para identificar extratos que poderiam conter substâncias inibidoras da AChE (Rhee, I. K.; van der Meent, M.; Ingkaninan, K.; Verpoorte, R.; *J. Chromatography A* 2001, 915, 217; Ellmann, G. L.; *Biochem. Pharmacol.* 1961, 7, 88). Foram estudados 58 extratos de 30 espécies de diversos gêneros vegetais, dos quais os autores consideraram os resultados de inibição maior ou igual a 50% como critério de seleção para o fracionamento químico. A partir do

trabalho de triagem, *Paullinia cupana* (guaraná), *Amburana cearensis* (cumaru) e *Lippia sidoides* foram as espécies que demonstraram os melhores resultados, inibindo de 65-100% da atividade enzimática em ambos os bioensaios. No caso do guaraná, foi evidenciado um efeito positivo de aquisição de memória após a administração aguda e crônica; o fracionamento bio-guiado dos extratos de *A. cearensis* e *L. sidoides* levou ao isolamento de 12 cumarinas até o momento, demonstrando a utilidade e praticidade deste tipo de ensaio para a bioprospecção de novos fármacos anticolinesterásicos.

A galantamina é um alcalóide isolado de várias espécies vegetais da família *Amaryllidaceae* e mostrou-se um inibidor da AChE de ação longa, seletivo, reversível e competitivo, que cujos efeitos terapêuticos permanecem mesmo após o término do tratamento (López, S.; Bastida, J.; Viladomat, F.; Codina, C.; *Life Sciences* 2002, 71, 2521). Isto é devido ao seu mecanismo de ação duplo, atuando como inibidor da AChE e nos receptores nicotínicos no cérebro. A modulação destes receptores amplifica a neurotransmissão do sinal da AChE caracteriza um grande avanço no planejamento de fármacos e no tratamento da DA, através de fármacos moduladores alostéricos de receptores nicotínicos (Rufani, M.; Filocamo, L.; Lappa, S.; Maggi, A.; *Drugs in the Future* 1997, 22, 397; Maelicke, A.; Schrattenholz, A.; Samochocki, M.; Radina, M.; Albuquerque, E. X.; *Behavioural Brain Res.* 2000, 113, 199; Quik, M.; Jeyarasasingam, G.; *Eur. J. Pharmacol.* 2000, 393, 223). A galantamina atua ligando-se ao sítio ativo da AChE cerebral e ainda estimula os receptores nicotínicos pré- e pos-sinápticos os quais podem, então, aumentar a liberação de neurotransmissores como ACh e glutamato, estimulando diretamente a função neuronal (Fennel, C. W.; van Staden, J.; *J. Ethnopharm.* 2001, 78, 15). Um ótimo exemplo entre patentes envolvendo análogos de galantamina capazes de se ligar alostericamente ao receptor é o documento WO 01/43697.

Outro alcalóide isolado de *Narcissus* L. (*Amaryllidaceae*), a sanguinina (9-O-desmetilgalantamina), mostrou-se 10 vezes mais ativo que a própria galantamina em ensaios *in vitro*. A busca por outras substâncias inibidoras de AChE (IAChE) nesse gênero vegetal, levou ao isolamento de outros dois

derivados ativos da galantamina, a 11-hidroxicigalantamina e a epinorgalantamina. Outro tipo estrutural de alcalóides, tipo-licorina, foi isolado desse gênero, cujos constituintes mais ativos foram a oxoassoanina, a assoanina e a pseudolicorina (López, S.; Bastida, J.; Viladomat, F.; Codina, C.;
5 *Life Sciences* 2002, 71, 2521).

O estudo de várias espécies vegetais de uso corrente na medicina popular chinesa e do Oriente Médio levaram ao isolamento de vários alcalóides ativos. Exemplo disso foi *Huperzia serrata* (sinonímia: *Lycopodium serratum*), que fornece um chá prescrito há séculos na China para o tratamento da febre e
10 inflamação. O estudo fitoquímico dessa planta levou ao isolamento da huperzina A, um candidato interessante para o tratamento de distúrbios do SNC e epilepsia, cujo efeito diminui a morte neuronal causada por altas concentrações de glutamato. É um AChE seletivo, muito potente e o uso sistêmico aumenta a liberação de ACh, dopamina e norepinefrina, sendo que o
15 aumento da concentração de ACh persiste por até 6 horas e praticamente não possui ação sobre a butirilcolinesterase (BuChE) (Chang, J.; *Biochem. Pharmacol.* 2000, 59, 211; Rajendran, V.; Saxena, A.; Doctor, B. P.; Kozikowski, A. P.; *Bioorg. Med. Chem.* 2002, 10, 599). Dessa mesma planta foi obtida a huperzina P, um novo alcalóide tipo-licopodium, entretanto sua
20 atividade foi menor do que da huperzina A.

Os resultados obtidos com a huperzina A estimularam Orhan e cols. a estudarem outras 5 espécies de *lycopodium* à procura de outros metabólitos inibidores de AChE (Orhan, I.; Terzioglu, S.; Sener, B.; *Planta Medica* 2003, 69, 265). Após uma avaliação preliminar dos extratos pelo ensaio de Ellmann
25 (Ellmann, G. L.; *Biochem. Pharmacol.* 1961, 7, 88), o extrato das partes aéreas de *L. clavatum* foi selecionado e o fracionamento bio-guiado resultou no isolamento da α -onocerina. Os resultados da atividade anticolinesterásica demonstraram que a α -onocerina, cujo IC₅₀ equivale a 5,2 μ M, foi melhor que o donepezil nas concentrações de 1 e 3 mg/mL e praticamente equipotente na
30 concentração de 5 mg/mL, embora não tenha atingido a potência da galantamina em nenhuma dose testada. Essa performance chamou ainda mais

atenção para a huperzina, intensificando a busca por análogos estruturais e resultando em diversos pedidos de patente, como por exemplo, WO 99/11625, WO 92/19238 e EP 806 416.

Alguns alcalóides triterpênicos foram isolados de *Buxus hyrcana*, como a homomoenjodaramina e a moenjodaramina, mostrando-se promissores como inibidores de AChE (Ur-Rahman, A.; Choudhary, M. I.; *Pure Appl. Chem.* 1999, 71, 1079). Desta mesma família, *Buxus papillosa* forneceu outros três alcalóides esteroidais inibidores seletivos de AChE: cicloprotobuxina C, ciclovirobuxina A e ciclomicrofilina A (Ur-Rahman, A.; Parveen, S.; Khalid, A.; Farroq, A.; Choudhary, M. I.; *Phytochemistry* 2001, 58, 963).

A zeatina, inicialmente descrita como agente indutor de crescimento de plântulas, foi isolada de *Fiatoua villosa* cujo extrato metanólico havia sido selecionado após triagem para atividade inibitória de AChE. A zeatina pura inibiu a atividade da AChE de modo dose-dependente numa IC_{50} correspondente a $1,09 \times 10^{-4}$ M (Heo, H-J.; Hong, S-C.; Cho, H-Y.; Hong, B.; Kim, H-K.; Kim, E-K.; Shim, D-H.; *Mol. Cells* 2002, 13, 113).

Os glico-alcalóides presentes em altas concentrações na pele do tomate (*Solanum tuberosum* L.) têm sido responsáveis por vários dos casos de intoxicação alimentar. A observação de pacientes intoxicados revelou sintomas como confusão mental, depressão e fraqueza. Estes efeitos foram atribuídos à inibição da AChE pela α -solanina e α -chaconina que correspondem a 95% dos glicoalcalóides presentes em *S. tuberosum* (Smith, D. B.; Roddick, J. G.; Jones, J. L.; *Trends in Food and Tech.* 1996, 7, 126).

Culturas de microrganismos, especialmente de fungos de diversas famílias e gêneros, vêm sendo sistematicamente estudadas como fontes importantes na busca por fármacos úteis no tratamento de doenças graves como câncer, malária e infecções bacterianas dentre muitas outras. Ootoguro, Kuno e cols. (Kuno, F.; Ootoguro, K.; Shiomi, K.; Iwai, Y.; Omura, S.; *J. Antibiot.* 1996, 49, 742; Kuno, F.; Shiomi, K.; Ootoguro, K.; Sunazuka, T.; Omura, S.; *J. Antibiot.* 1996, 49, 748; Ootoguro, K.; Kuno, F.; Omura, S.; *Pharmacol. Ther.* 1997, 76, 45), buscando candidatos a fármacos novos capazes de re-

estabelecer o sistema de neurotransmissão através da triagem sistemática de produtos naturais produzidos por fungos, descobriram novos inibidores de AChE, as arisugacinas. A partir das culturas WK-4164 e FO-4259 de fungos do solo, foram obtidas a ciclofostina, a arisugacina A e B, além dos já conhecidas territrens B e C e a ciclopenina. Destes, as arisugacina A, possuindo um IC_{50} de 1,0 nM, e arisugacina B, possuindo um IC_{50} de 25,8 nM, não inibiram a BuChE mesmo em concentrações 20.000 vezes superior à concentração de inibição de 50% da atividade da AChE, o que demonstrou sua alta seletividade, resultando em pesquisas e inovações patenteadas, como pode-se ver na patente US 6,384,045.

Por outro lado, as territrens B e C foram muito menos seletivas, apesar dos IC_{50} correspondentes a 7,6 nM e 6,8 nM, respectivamente, serem bastante baixos. A ciclopenina foi a menos ativa, com um IC_{50} de 2.040 nM; entretanto, foi bastante seletiva, não inibindo a BuChE em concentrações até 2000 vezes maiores que seu IC_{50} . Apesar de muito potente, com um IC_{50} de 1,3 nM, a ciclofostina foi a substância que apresentou a menor seletividade, passando a inibir a BuChE em doses superiores a 35 vezes sua IC_{50} (Shiomi, K.; Tomoda, H.; Otaguro, K.; Omura, S.; *Pure Appl. Chem.* 1999, 71, 1059; Kuno, F.; Otaguro, K.; Shiomi, K.; Iwai, Y.; Omura, S.; *J. Antibiot.* 1996, 49, 742; Kuno, F.; Shiomi, K.; Otaguro, K.; Sunazuka, T.; Omura, S.; *J. Antibiot.* 1996, 49, 748; Otaguro, K.; Kuno, F.; Omura, S.; *Pharmacol. Ther.* 1997, 76, 45).

As territrens A, B e C já haviam sido isoladas de culturas de *Aspergillus terreus* e apesar da baixa seletividade demonstrada pelos estudos de Otaguro e cols. (Otaguro, K.; Kuno, F.; Omura, S.; *Pharmacol. Ther.* 1997, 76, 45), a territrem B foi cerca de 20 vezes mais potente do que a neostigmina na inibição da AChE. Estes resultados estimularam Peng (Peng, F-C.; *J. Nat. Prod.* 1995, 58, 857) a preparar derivados de territrens para um estudo da relação estrutura-atividade. A avaliação da inibição da atividade enzimática pelo método de Ellmann não revelou aumento de potência para nenhum dos derivados semi-sintéticos dos territrens, entretanto permitiu o reconhecimento da ligação dupla em C-2, da carbonila em C-1 e da unidade pirona intacta

como os grupos farmacofóricos imprescindíveis para a atividade anticolinesterásica desta série de compostos.

O interesse por inibidores de AChE em metabólitos microbianos, monitorados pelo ensaio de Ellmann, levou Kim e cols. (Kim, W-G.; Song, N-K.; Yoo, I-D.; *J. Antibiot.* 2001, 54, 831) a investigar as culturas de um novo fungo, o *Penicillium citrinum* 90648. Do fermentado sólido deste microorganismo foram isolados os diastereoisômeros quinolactacina A1 e quinolactacina A2. A avaliação da atividade anticolinesterásica destas substâncias revelou que o isômero A2 apresentou atividade inibitória da AChE 14 vezes superior do que seu diastereoisômero A1. Seu efeito foi dose-dependente, apresentando um IC₅₀ de 19.8 µM, enquanto que o IC₅₀ do isômero A1 foi de apenas 280µM. Além disso, o eutômero mostrou atividade inibitória competitiva com o substrato e seletiva para a AChE versus butirilcolinesterase (BuChE), com IC₅₀ de 650 µM, utilizando-se em todos os ensaios a tacrina como padrão positivo (IC₅₀ BuChE = 0.006 µM, IC₅₀ AChE = 0,12µM, muito pouco seletiva).

Cassia spectabilis, uma leguminosa bastante conhecida na região Centro Oeste brasileira, foi estudada exaustivamente por nosso grupo de pesquisa objetivando a busca por alcalóides piperidínicos com atividade bio- e farmacológica. O estudo fitoquímico das folhas, frutos e flores dessa leguminosa forneceu cerca de doze 2,6-alkuil-piperidin-3-óis e derivados que apresentaram citotoxicidade seletiva fraca em linhagens mutantes de *Saccharomyces cerevisiae*. A atividade citotóxica pouco relevante destes alcalóides levou-nos a explorar outros ensaios farmacológicos que pudessem comprovar alguns dados etnofarmacológicos, descritos para o gênero *Cassia*. Assim, foram realizados ensaios de atividade analgésica periférica e central, antiinflamatória e de inibição de AChE (Bolzani, V.S.; Gunatilaka, A.A.L.; Kingston, D.G.I., "Bioactive and other piperidine alkaloids from *Cassia leptophylla*", *Tetrahedron* 1995, 51(21), 5929-5934; Moreira, M.S.A.; Viegas Jr., C.; Miranda, A.L.P. Bolzani, V.S.; Barreiro, E.J., "Analgesic profile of (-)-spectaline: a piperidine alkaloid from *Cassia leptophylla* Vog. (Leguminosae)", *Planta Medica* 2003, trabalho submetido; Viegas Jr., C., Tese de doutoramento,

UNESP-Araraquara/SP, 2003, dados não publicados; Viegas Jr., C.; Young, M.C.M.; Bolzani, V.S.; Rezende, A.; Barreiro, E.J., "Estudo fitoquímico de *Cassia leptophylla* biomonitorado por linhagens transgênicas de *S. cerevisiae*", 24ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-MG, 5 2001, PN-075; Barreiro, E.J.; Bolzani, V.S.; Viegas Jr. C., "Novos alcalóides piperidínicos isolados das flores de *Cassia leptophylla* (Leguminosae), 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas-MG, 2002, PN-058). Das flores dessa planta foram obtidas as maiores quantidades de (-)-3-O-acetil-espectalina e da (-)-espectalina, que foram submetidas a 10 diferentes modificações químicas para a obtenção de novos derivados. Os derivados cloridratos LASSBIO-767, LASSBIO-768 e LASSBIO-822 foram avaliados quanto à capacidade inibitória de AChE *ex vivo* e demonstraram marcante atividade anticolinesterásica. Apesar da novidade quanto à estrutura molecular destes novos derivados, diversos outros compostos piperazínicos (os 15 compostos em questão são alcalóides piperidínicos) com atividade anticolinesterásica já haviam sido descritos, fazendo parte do estado da técnica. Alguns exemplos desta produção intelectual são os documentos WO 00/33788, que descreve heterocíclicos nitrogenados capazes de atuar em 20 desordens neurológicas não revelando o mecanismo de ação, porém dizendo que os compostos são fracos inibidores da AChE, WO 92/17475, EP 1 300 395 e EP 1 116 716 que descrevem anticolinesterásicos derivados piperidínicos e piperazínicos, diferentes dos compostos aqui revelados. Entretanto, não é conhecido qualquer relato do uso das moléculas da presente invenção como 25 anticolinesterásicos ou para o tratamento de distúrbios da memória, desordens neurodegenerativas, ou intoxicações com substâncias de ação central.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É um objeto da invenção proporcionar novas composições farmacêuticas destinadas à inibição da AchE. Em um aspecto da presente invenção, 30 composições farmacêuticas para esta finalidade podem ser obtidas a partir de alcalóides piperidínicos obtidos de *C. spectabilis* e seus derivados semi-

sintéticos, preferencialmente os compostos 2-(*R*)-metil-3-(*R*)-*O*-acetil-6-(*S*)-(tetradecil-13'-ona)-piperidina, 2-(*R*)-metil-6-(*S*)-(tetradecil-13'-ona)-piperidin-3-(*R*)-ol e 2-(*R*)-metil-3-(*R*)-*O*-*ter*-butoxicarbonil-6-(*S*)-(tetradecil-13'-ona)-piperidina, juntamente com seus respectivos cloridratos.

5 As composições farmacêuticas da presente invenção, por serem capazes de inibir a AChE, podem ser utilizadas no tratamento de patologias associadas à transmissão colinérgica como, por exemplo, as doenças neurodegenerativas como, Doença de Alzheimer e Mal de Parkinson e a outras patologias associadas a quadros de deficiência de memória.

10 Em um outro aspecto, as composições farmacêuticas da presente invenção, também devido à capacidade de inibição da AChE, podem ser utilizadas no tratamento de outras condições associadas à transmissão colinérgica como, por exemplo, doenças musculares como a Miastenia Gravis e condições de paralisia muscular decorrentes da ação de agentes químicos e/ou
15 biológicos de uso militar.

Um adicional objeto da invenção é proporcionar processos de obtenção das composições farmacêuticas da presente invenção.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

20

A FIGURA 1 apresenta o efeito da tacrina (1 mg/kg) na reversão da amnésia induzida por escopolamina no teste do labirinto aquático. O histograma mostra a latência de escape (em seg) nos 4 dias de teste do grupo controle (- μ -), escopolamina (- λ -), e tacrina+escopolamina (- \diamond -). Valores são expressos como
25 média e erro padrão da média; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ Mann-Whitney test.

25

A FIGURA 2 apresenta o efeito do alcalóide semi-sintético LASSBio-767 na concentração de 1 mg/kg na reversão da amnésia induzida por escopolamina no teste do labirinto aquático. O histograma mostra a latência de escape (em seg) nos 4 dias de teste do grupo controle (- μ -), escopolamina (- λ -), e LASSBio-
30 767 + escopolamina (- \diamond -). Valores são expressos como média e erro padrão da média; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ Mann-Whitney test.

30

A FIGURA 3 apresenta o efeito do alcalóide semi-sintético LASSBio-767 na concentração de 10 mg/kg na reversão da amnésia induzida por escopolamina no teste do labirinto aquático. O histograma mostra a latência de escape (em seg) nos 4 dias de teste do grupo controle ($-\mu-$), escopolamina ($-\lambda-$), e LASSBio-767 + escopolamina ($-\diamond-$). Valores são expressos como média e erro padrão da média; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ Mann-Whitney test.

A FIGURA 4 apresenta o efeito do alcalóide semi-sintético LASSBio-822 na concentração de 1 mg/kg na reversão da amnésia induzida por escopolamina no teste do labirinto aquático. O histograma mostra a latência de escape (em seg) nos 4 dias de teste do grupo controle ($-\mu-$), escopolamina ($-\lambda-$), e LASSBio-822 + escopolamina ($-\diamond-$). Valores são expressos como média e erro padrão da média; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, Mann-Whitney test.

A FIGURA 5 apresenta a ausência do efeito do alcalóide LASSBio-767 na concentração de 1 e 10 mg/kg na reversão da amnésia induzida por escopolamina em camundongos no teste da esQUIVA inibitória. As latências estão mostradas no primeiro (training) e segundo (retention) dia de teste. Observar que os animais previamente tratados com LASSBio-767 não diferem dos tratados somente com escopolamina. Valores são expressos como média e erro padrão da média.

A FIGURA 6 apresenta o efeito do alcalóide LASSBio-822 na concentração de 1 e 3 mg/kg na reversão da amnésia induzida no teste da esQUIVA inibitória. As latências estão mostradas no primeiro (training) e segundo (retention) dia de teste. Observar que os animais previamente tratados com LASSBio-822 apresentam uma reversão parcial significativa da amnésia induzida por escopolamina. Valores são expressos como média e erro padrão da média; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ Mann-Whitney test.

A FIGURA 7 apresenta o efeito de tacrina na concentração de 5,6 mg/kg na reversão da amnésia induzida no teste da esQUIVA inibitória. As latências estão mostradas no primeiro (training) e segundo (retention) dia de teste. Observar que os animais previamente tratados com tacrina apresentam uma reversão

completa significativa da amnésia induzida por escopolamina. Valores são expressos como média e erro padrão da média; *** $p < 0,001$ Mann-Whitney test.

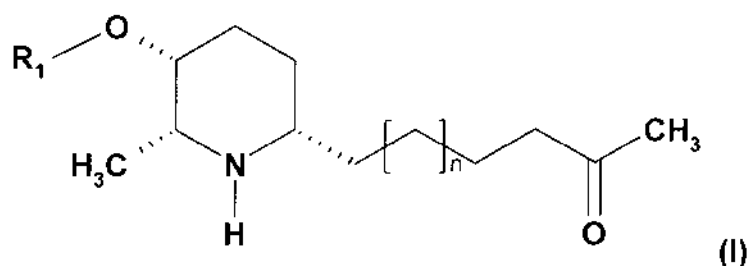
A FIGURA 8 apresenta o estudo da LD50 da tacrina. O histograma mostra a percentagem de camundongos que chegam ao óbito após 10 a 30 minutos de administração de diferentes concentrações de tacrina.

A FIGURA 9 apresenta os efeitos colaterais colinérgicos induzidos pela administração de salina (□), LASSBio-767 (▨), tacrina 10 mg/kg (▤), tacrina 30 mg/kg (▥), e tacrina 50 mg/kg (■), após 10 e 30 minutos da administração. Valores são expressos como média e erro padrão da média.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Para efeito desta invenção, por "composições farmacêuticas" entende-se toda e qualquer composição que contenha um princípio ativo, com fins profiláticos, paliativos e/ou curativos, atuando de forma a manter e/ou restaurar a homeostase, podendo ser administrada de forma tópica, parenteral, enteral e/ou intratecal. Por "princípio ativo" entende-se todos ou quaisquer compostos de fórmula (I) ou (II), ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

Os novos compostos de que trata esta invenção pertencem à classe dos alcalóides piperidínicos, de estrutura geral (I):



onde:

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil- W ;

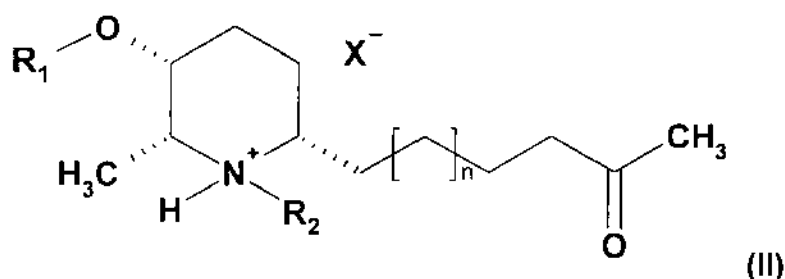
onde W é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoila, *orto*-cicloalcoila, *orto*-tioila, *orto*-ariloila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-

sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotoialcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos,

5 *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotoialcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotoialcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro.

Os novos compostos de que também trata esta invenção pertencem à classe dos derivados da estrutura geral (I), de estrutura geral (II):

15



onde:

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16,

20 **R₁** é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotoialcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos,

25

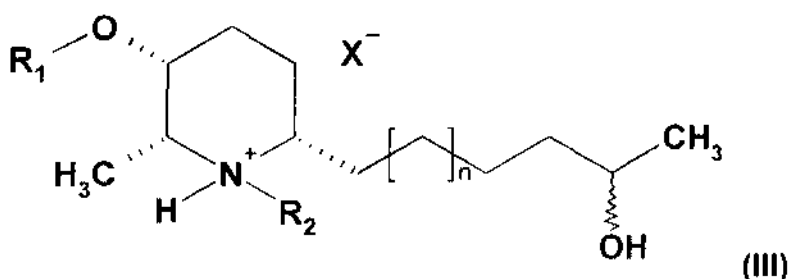
meta-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*- haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotoialcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*- sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotoialcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro,

R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

X é halogênio;

10

Os novos compostos de que também trata esta invenção pertencem à classe dos derivados da estrutura geral (I), de estrutura geral (III):



15

onde:

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16,

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil- W ;

20

onde W é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotoialcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos,

25

meta-carboalcoxila, *meta*-carbotoialcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*- sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotoialcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro,

R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

X é halogênio;

10 Para melhor clareza, a seguinte terminologia para os derivados cloridratos será usada: **LASSBio-767** corresponde ao derivado de fórmula geral (II) onde R_1 corresponde a acetil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9; **LASSBio-768** corresponde ao derivado de fórmula geral (II) onde R_1 corresponde à H, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9, **LASSBio-822** corresponde ao derivado de fórmula geral (II) onde R_1 corresponde a *ter*-butoxicarbonil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9, **LASSBio-795** corresponde ao derivado de fórmula geral (II) onde R_1 corresponde à acetil, R_2 é metil, X é iodeto e n é igual a 9 e **LASSBio-783** corresponde ao derivado de fórmula geral (III) onde R_1 corresponde à acetil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.

20 Os exemplos a seguir não limitam, mas sim apenas ilustram um meio de se realizar a invenção.

Exemplo 1

25 **Obtenção e identificação estrutural dos substratos naturais correspondentes à formula geral (I)**

O extrato etanólico de flores e botões de *C. spectabilis* foi concentrado, fornecendo 39,7 g de material bruto, que foi solubilizado em mistura metanol-água 8:2. A mistura foi submetida ao ultra-som e o resíduo insolúvel, com um peso de 10,4 g, foi removido por filtração em papel. A solução hidroalcoólica foi submetida à extração líquido-líquido, da qual foram obtidas as subfrações

hexânica (2,0 g), diclorometânica (7,96 g), acetato de etila (0,34 g), *n*-butanólica (2,5 g) e aquosa (11,9 g).

Uma porção da subfração diclorometânica, pesando 3,25 g, foi dissolvida em 100 mL de clorofórmio, seguida de extrações com sucessivas
5 porções de 50 mL de sol. aquosa de HCl a 40%, sob agitação magnética por 15 minutos cada, totalizando 4 porções. Os extratos aquosos foram combinados e alcalinizados com sol. aq. NH₄OH conc. até pH 9-11, seguido de extrações sucessivas com clorofórmio (3 x 50 mL) e acetato de etila (3 x 50 mL). Os extratos clorofórmico e acetato de etila foram combinados fornecendo
10 1,45 g de mistura alcaloídica. Esta mistura foi fracionada em coluna cromatográfica de 44 g de alumina neutra como fase estacionária. Foram aplicados 1,45 g da mistura alcaloídica seguida de eluição com mistura de clorofórmio/hexano (9:1 a 9,5:0,5) seguida de clorofórmio/metanol/hexano (8:0,5:1,5 até 9:1:0), obtendo-se 910 mg de um composto correspondente a
15 fórmula geral (I) quando R é H (espectralina) e 151 mg de um composto correspondente a fórmula geral (I) quando R é acetil (3-*O*-acetil-espectralina).

O rendimento deste procedimento cromatográfico de purificação da espectralina foi de 28% a partir da subfração diclorometânica e 5% a partir do extrato bruto das flores e botões de *C. spectabilis*, enquanto que a 3-*O*-acetil-espectralina foi obtida com 4,6% de rendimento a partir da subfração
20 diclorometânica.

As substâncias espectralina e 3-*O*-acetil-espectralina tiveram suas estruturas químicas confirmadas pelos dados de polarimetria, ponto de fusão e pelos dados espectrométricos RMN de ¹H e ¹³C uni- e bidimensionais,
25 Infravermelho (IV) e massas. A espectralina foi identificada por comparação dos dados disponíveis no laboratório, como sendo a (-)-espectralina e a 3-*O*-acetil-espectralina foi caracterizada como um derivado natural novo da espectralina, a (-)-3-*O*-acetil-espectralina.

30 Exemplo 2

Obtenção dos derivados semi-sintéticos, cloridratos, correspondentes à fórmula geral (II)

a) *Abordagem sintética para a preparação de 2-(R)-metil-3-(R)-O-ter-butoxicarbonil-6-(S)-(tetradecil-13'-ona)-piperidina*

- 5 A uma solução de espectralina (0,5 g; 1,54 mmol), sob atmosfera de N₂, em 15 mL de CH₂Cl₂ seco, adicionou-se 0,3 mL (2,156 mmol) de Et₃N seca e deixou-se 5 minutos sob agitação em temperatura ambiente. Em seguida, adicionou-se uma solução de (Boc)₂O (369 mg; 1,694 mmol) em 15 mL de CH₂Cl₂ e deixou-se sob agitação, em t. a. por 24 h, acompanhando por CCD.
- 10 Adicionou-se, então, quantidade catalítica de 4-DMAP e mais 100 mg de (Boc)₂O, mantendo a agitação e atmosfera de N₂ por mais 4 dias.

- Após conversão completa do material de partida, adicionou-se 10 mL de H₂O e extraiu-se com CHCl₃ (4 x 10 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, lavados com sol. aq. de HCl 2 N (3 x 10 mL), seguido de salmoura
- 15 (2 x 10 mL). O extrato orgânico foi seco com MgSO₄, filtrado e concentrado à pressão reduzida.

- O produto bruto foi purificado em coluna de Al₂O₃ neutra e eluente CHCl₃/Hex/MeOH para fornecer 280,5 mg do carbonato 3-O-Boc-espectralina desejado, juntamente com o subproduto carbamato correspondente, num
- 20 rendimento de 60%.

O produto da reação foi caracterizado por RMN de ¹H e ¹³C. O ponto de fusão do derivado 3-O-Boc-espectralina foi de 57,5-60°C.

- b) *Preparação do cloridrato de 2-(R)-metil-3-(R)-O-acetil-6-(S)-(tetradecil-13'-ona)-piperidina (LASSBio-767)*
- 25

- Em balão monotubulado, dissolveu-se 15 mg de 2-(R)-metil-3-(R)-O-acetil-6-(R)-(tetradecil-13'-ona)-piperidina (0,041 mmol) em 3 mL de diclorometano seco. Num sistema *keeper* colocou-se HCl conc. e adicionou-se lentamente H₂SO₄ conc., deixando-se borbulhar o HCl gasoso gerado no
- 30 sistema reacional. A reação foi mantida por cerca de 45 min, sempre adicionando diclorometano para manter o nível inicial do solvente. Ao final, com

a evaporação do solvente, houve formação de material sólido na parede do balão de reação. Este foi re-dissolvido em diclorometano e concentrado em evaporador rotatório. O LASSBio-767 foi obtido com rendimento quantitativo e caracterizado por RMN de ^1H e ^{13}C e dados físico-químicos. O derivado solúvel em água apresentou ponto de fusão na faixa de 142,8-147,5°C.

O mesmo procedimento experimental foi utilizado para a preparação do cloridrato de espectralina, obtido com rendimento quantitativo a partir do substrato natural, a (-)-espectralina. Sua caracterização foi feita por RMN de ^1H e ^{13}C e dados físico-químicos. O derivado solúvel em água apresentou ponto de fusão na faixa de 149,1-151,1°C.

c) Abordagem sintética para a obtenção do cloridrato de espectralina a partir de 2-(R)-metil-6-(S)-(tetradecil-13'-ona)-piperidin-3-(R)-ol (LASSBio-768)

Em balão monotubulado, munido de condensador de refluxo, dissolveu-se 375 mg (1,15 mmol) de 2-(R)-metil-6-(S)-(tetradecil-13'-ona)-piperidin-3-(R)-ol em 10 mL de acetato de etila e adicionou-se 4 mL de HCl fumegante. O sistema reacional foi mantido em t.a. por 10h e sob refluxo durante 4h. Ao final da reação, evaporou-se o solvente, redissolveu-se em metanol, secou-se com MgSO_4 anidro, filtrou-se e evaporou-se o solvente. Após secagem sob vácuo, obteve-se o composto LASSBio-768 quantitativamente.

Em balão bitubulado, munido de condensador de refluxo e sob atmosfera de N_2 , dissolveu-se o composto LASSBio -767 (114 mg, 0,31 mmol) em 5 mL de clorofórmio anidro. Adicionou-se, via seringa, cloreto de acetila recém destilado (0,1 mL, 1,42 mmol) e deixou-se reagir durante 12h a 50°C. Ao final, evaporou-se o solvente e secou-se sob vácuo para obter o composto LASSBio-767, com rendimento de 93%.

d) Abordagem sintética para a obtenção do cloridrato de 2-(R)-metil-3-(R)-O-ter-butoxicarbonil-6-(S)-(tetradecil-13'-ona)-piperidina (LASSBio-822)

O mesmo procedimento experimental descrito para a obtenção do cloridrato LASSBio-767 foi utilizado para a preparação do cloridrato LASSBio-

822 a partir de 3-O-Boc-espectalina. O derivado LASSBio-822 foi obtido em rendimento quantitativo e sua caracterização foi feita por RMN de ^1H e ^{13}C . O derivado LASSBio-822, solúvel em água, apresentou ponto de fusão na faixa de 126-129,5°C.

- 5 e) *Abordagem sintética para a obtenção do cloridrato de (2R, 3R, 6S)-3-acetoxi-6-(13-hidroxi-tetradecil-2-metil-piperidina (LASSBio-783)*

O procedimento experimental para a preparação deste derivado se baseia na simples redução da carbonila, através de inúmeras reações conhecidas pelo técnico no assunto, como por exemplo a reação de NaBH_4 em
10 H_2O a uma temperatura ambiente.

Exemplo 3

Avaliação farmacológica

a) Ensaio da atividade anticolinesterásica

- 15 O efeito anticolinesterásico dos compostos da presente invenção é aqui exemplificado dentre outros pelos resultados dos compostos LASSBio-767, LASSBio-768 e LASSBio-822. Os composto da presente invenção foram investigados em tecido de cérebro de rato, onde a principal forma da enzima expressa, como em humanos, é o tetrâmero de subunidades tipo T, a qual está
20 ligada às membranas através de cadeias hidrofóbicas (Boschetti, N.; Liao, J.; Brodbeck, U. The Membrane Form of Acetylcholinesterase From Rat Brain Contains a 20 KDa Hydrophobic Anchor. *Neurochem. Res.* 1994, 19, 359-365; Fernandez, H. L.; Moreno, R. D.; Inestrosa, N. C. Tetrameric (G4) Acetylcholinesterase: Structure, Localization, and Physiological Regulation. *J.*
25 *Neurochem.* 1996, 66, 1335-1346). O método colorimétrico de Ellman (Ellman, G. L.; Courtney, K. D.; Andres, V.; Featherstone, J.; Featherstone, R. M. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem. Pharmacol.* 1961, 7, 88-95) foi adaptado para a determinação da atividade total de colinesterase em homogeneizados de cérebro de rato. Tecidos de cérebro
30 de ratos Wistar foram homogeneizados em 2% v/v de tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4, com adição de NaCl 58,5g/L e Triton X-100 0,05% v/v. Aliquotas

do homogeneizado (20 μ L) foram incubadas com os compostos anticolinesterásicos por 10 minutos em tampão fosfato pH 8 antes da adição de ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico), juntamente com 1mM de iodeto de acetilcolina (SIGMA, EUA). A reação foi realizada à temperatura ambiente (22-25°C), num volume de 235 μ L em microplacas de 96 orifícios, acompanhada por placa leitora (SpectraMAX 250, Molecular Devices, EUA) a 412 nm durante 5 minutos. Em todos os experimentos a hidrólise colinesterase-independente do substrato (não específica) foi determinada por inclusão de um grupo experimental tratado com THA 20 μ M. Tecidos apropriados e reagentes brancos foram, também, incluídos. As velocidades de reação foram determinadas em 3 ou 4 replicatas por condição; foram calculados os valores médios e expressos em porcentagem de atividades relativas ao controle (solvente), após subtração da taxa de hidrólise não-específica. As substâncias foram testadas em pelo menos cinco concentrações distintas. A partir da curva de inibição obtida, foram considerados os valores relativos a menos de 20% e mais de 80% de inibição, com concentração limitada em 500 μ M. A IC₅₀ baseada em um modelo de sítio único foi determinada por regressão linear. Os resultados foram expressos pela média \pm SEM da IC₅₀ obtidos independentemente a partir de 2 a 4 animais, e são mostrados na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Dados da Inibição da Colinesterase Cerebral

Composto	IC ₅₀ Experimental				N	Média	DP*	SEM**
	THA (09/08/00)	THA (10/08/00)	THA (11/07/01)A	THA (11/07/01)B				
Tacrine	0,173433	0,224864	0,110992	0,112401	4	0,16	0,05	0,03
Galantamina	Gal (11/07/01)A	Gal (11/07/01)B			2	3,10	0,26	0,18
LASSBio 767	767 (22/11/01-r2)	767 (29/11/01)			2	4,65	0,23	0,17
LASSBio 768	768 (22/11/01)	768 (29/11/01)			2	236,34	59,11	41,79

LASSBio 783	783 (28/3/03-rA) 333,033844	783 (4/4/03-rB) 701,750244	783 (4/4/03-rC) 241,899277	3	425,56	243,49	140,58
LASSBio 795	795 (26/3/03-rA) 173,047897	795 (1/4/03-rB) 232,144257	795 (1/4/03-rC) 325,254974	3	243,48	76,73	44,30
LASSBio 822	822 (28/3/03-rA) 9,154104	822 (8/4/03-rB) 16,217253	822 (8/4/03-rC) 19,869019	3	15,08	5,45	3,14

b) Avaliação da amnésia induzida por escopolamina no labirinto aquático (Morris Water Maze)

- 5 Foram utilizados 39 ratos Wistar (fêmeas - \pm 200 g). Os animais foram divididos em 5 grupos experimentais e respectivos controles:
- a) controle = salina + salina – 11 animais
 - b) salina + escopolamina (1 mg/kg) – 8 animais
 - c) tacrina (1 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais
 - 10 d) LASSBio-767 (1 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais
 - e) LASSBio-767 (3 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais
 - f) LASSBio-767 (10 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais
 - g) LASSBio-822 (1 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais

15 Após 30 minutos da administração intraperitoneal da segunda administração (salina ou escopolamina), os animais eram desafiados a localizar uma plataforma submersa em um recipiente circular contendo água opaca (labirinto aquático), e a latência de escape (em segundos) era computada. Se o animal não localizasse a plataforma em 150 segundos, era colocado sobre a plataforma por um período de 20 segundos, e então removido da piscina. Os

20 testes foram feitos duas vezes por dia, durante 4 dias consecutivos.

Como pode ser observado nas figuras 1-4, os animais do grupo controle reduzem significativamente a latência de escape no terceiro e quarto dia de teste. Quando são tratados com escopolamina 30 minutos antes do desafio, não conseguem aprender a tarefa, e a latência de escape se aproxima a

valores máximos (150 seg) no quarto dia de teste. Os resultados da injeção das composições são mostrados nas figuras 1-4.

5 O agente anticolinesterásico tacrina é capaz de reverter a amnésia induzida por escopolamina, efeito que é significativo no quarto dia do estudo. O alcalóide semi-sintético LASSBio-767 teve efeito superior à tacrina na reversão da amnésia induzida por escopolamina, já que o efeito já começa a ser observado no segundo dia de tratamento, e é bastante significativo no terceiro e quarto dia, quando os animais, embora tenham recebido escopolamina (10 mg/kg), se comportam como o grupo controle. O efeito do composto LASSBio-767 também foi observado na concentração de 10 mg/kg. Entretanto, o alcalóide LASSBio-822 não foi capaz de reverter a amnésia induzida por escopolamina em ratos no teste do labirinto aquático.

15 *c) Avaliação da amnésia induzida por escopolamina no teste de esquiva inibitória*

Foram utilizados 120 camundongos suíços machos adultos (25-30 g). Os animais foram submetidos ao teste de esquiva passiva inibitória, que consiste de uma caixa cujo fundo é composto por uma grade conectada a um eletroestimulador (0,6mA/3s), contendo uma plataforma de madeira (3cm³). Os camundongos eram colocados sobre esta, sendo computada a latência (em s) até os animais colocarem as quatro patas sobre a grade. No primeiro dia de teste ("training") os animais recebiam um estímulo elétrico aversivo (0,6 mA / 3 seg.) quando desciam para a grade (step down latency –SDL). Nesta etapa, os animais que permaneciam um tempo superior a 15 segundos sobre a plataforma eram descartados. Vinte e quatro horas depois, os animais eram re-colocados sobre a plataforma e a SDL computada ("retention").

Os camundongos foram divididos em seis grupos experimentais, que foram:

- 30 a) controle = salina + salina
b) salina + escopolamina (1 mg/kg)

- c) LASSBIO-767 (1 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg)
- d) LASSBIO-767 (10 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais
- e) LASSBIO-822 (1 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais
- f) LASSBIO-822 (3 mg/kg) + escopolamina (1 mg/kg) – 4 animais

5 Observamos que o alcalóide LASSBio-767 nas duas concentrações utilizadas não apresentou efeito na amnésia induzida por escopolamina. Entretanto, neste teste, o alcalóide semi-sintético LASSBio-822 foi capaz de reverter a amnésia induzida por escopolamina significativamente. Neste ensaio, a tacrina reverte totalmente o efeito da escopolamina. Os resultados destes
10 ensaios podem ser observados nas figuras 5-7.

d) Avaliação efeitos colaterais colinérgicos induzidos por tacrina e LASSBIO-767

Após 10 e 30 minutos após a administração I.P. das drogas,
15 observamos os animais (n=10 camundongos / grupo) quanto a atividade psicomotora no teste do campo aberto, projeção das patas traseiras para a lateral, tremor, salivação, lacrimejamento, diarreia, micção, e hipotermia. Observamos também a concentração de tacrina capaz de levar ao óbito 50 % dos animais tratados (LD50).

20 Após administração de 10 mg/kg de tacrina, observamos diarreia e micção em 70% dos camundongos. Além disto, esta concentração de tacrina resultou em hipotermia e diminuição da atividade locomotora. Após administração de tacrina em concentração superior a 30 mg/kg, todos os parâmetros analisados são alterados.

25 Além dos camundongos, observamos ratos após 30 minutos da administração de 1 mg/kg de tacrina (n=4), LASSBIO-767 (n=12) e salina (n=12). Somente os animais tratados com tacrina apresentaram diarreia após 30 minutos da administração, e este sintoma foi observado em 100% dos animais. Os resultados destes ensaios podem ser observados nas figuras 8-9.

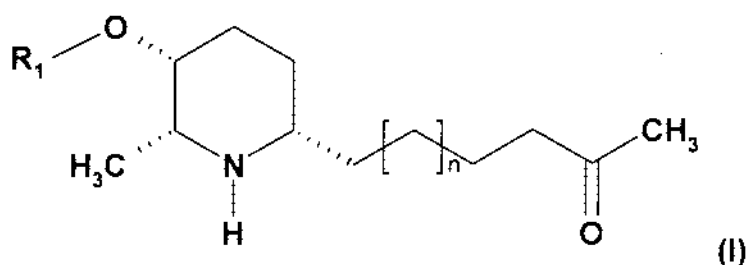
Os compostos LASSBIO-767 e LASSBIO-822 foram capazes de reverter a amnésia induzida por escopolamina em diferentes modelos de aprendizado e memória, em concentrações inferiores à tacrina. Por outro lado, não foram observados efeitos colaterais colinérgicos e interferência na atividade motora dos animais com LASSBIO-767 (10 mg/kg), o que foi observado com a tacrina. Nos nossos estudos a janela terapêutica da tacrina se mostrou bastante estreita. Estes resultados apontam para um papel promissor dos compostos estudados na terapêutica da Doença de Alzheimer e a outras patologias associadas a quadros de deficiência de memória. Estes compostos parecem ter eficácia e segurança superiores à fármacos utilizados atualmente na clínica.

Reivindicações

NOVOS DERIVADOS PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS
CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO

5

- 1- Novos derivados piperidínicos inibidores de acetilcolinesterase e/ou suas isoformas caracterizados por apresentar fórmula geral (I):



10

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

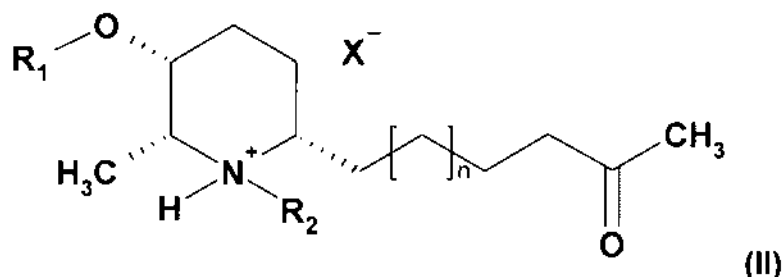
15

onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotoalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotoalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotoalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro;

25

ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

- 2- Novos derivados piperidínicos inibidores de acetilcolinesterase e/ou suas isoformas caracterizados por apresentar fórmula geral (II):



5

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

10

onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotoalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotoalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotoalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro;

20

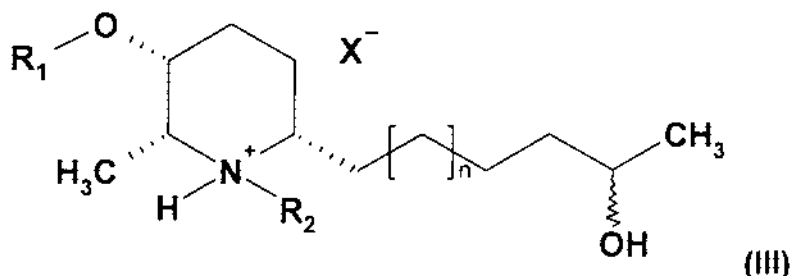
R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

25

X é halogênio;

ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

- 3- Novos derivados piperidínicos inibidores de acetilcolinesterase e/ou suas isoformas caracterizados por apresentar fórmula geral (III):



onde:

5

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16,

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

10

onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clícicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotioalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clícicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotioalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clícicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotioalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro,

15

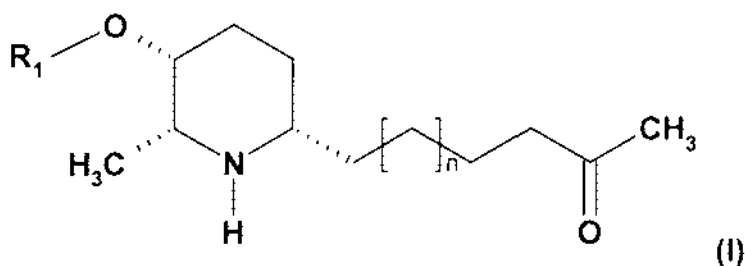
R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

X é halogênio;

20

ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

- 4- Novos derivados piperidínicos, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.
- 5- Novos derivados piperidínicos, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que R_1 é hidrogênio, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.
- 6- Novos derivados piperidínicos, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que R_1 é ter-butoxicarbonil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.
- 7- Novos derivados piperidínicos, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é metil, X é iodeto e n é igual a 9.
- 8- Novos derivados piperidínicos, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.
- 9- Composição farmacêutica para o tratamento de patologias associadas à transmissão colinérgica, caracterizada por compreender um veículo farmacologicamente aceitável e pelo menos um composto de fórmula geral (I):



n corresponde a um número inteiro de 2 até 16

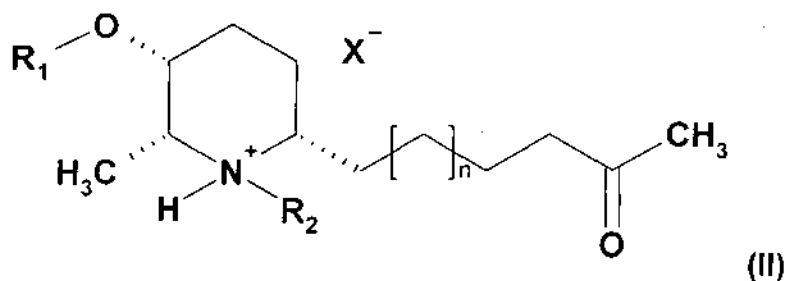
R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-

sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotioalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotioalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotioalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro;

ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

10-Composição farmacêutica para o tratamento de patologias associadas à transmissão colinérgica, caracterizada por compreender um veículo farmacêuticamente aceitável e pelo menos um composto de fórmula geral (II):



n corresponde a um número inteiro de 2 até 16

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido,

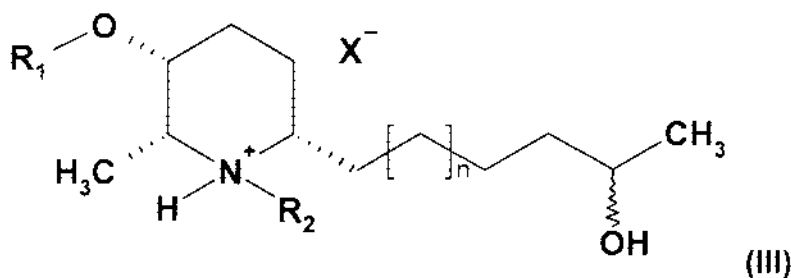
orto-haletos, *orto*- carboalcoxila, *orto*-carbotioalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*- haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotioalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*- sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotioalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro;

R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

X é halogênio;

ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

11-Composição farmacêutica para o tratamento de patologias associadas à transmissão colinérgica, caracterizada por compreender um veículo farmacêuticamente aceitável e pelo menos um composto de fórmula geral (III):



onde:

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16,

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil- W ;

onde W é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido,

5 *orto*-haletos, *orto*- carboalcoxila, *orto*-carbotioalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*- haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotioalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*- sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotioalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro,

R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

X é halogênio;

ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

15 12-Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.

20 13-Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que R_1 é hidrogênio, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.

14-Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que R_1 é ter-butoxicarbonil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.

25 15-Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é metil, X é iodeto e n é igual a 9.

16-Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.

17-Composição farmacêutica conforme reivindicações 9 a 16, caracterizada pelo fato de que a patologia associada à transmissão colinérgica é um distúrbio da memória.

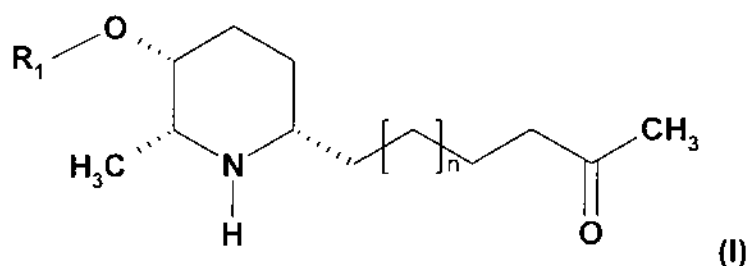
18-Composição farmacêutica conforme reivindicação 17, caracterizada pelo fato de que o distúrbio da memória é o Mal de Alzheimer.

19-Composição farmacêutica conforme reivindicações 9 a 16, caracterizada pelo fato de que a patologia associada à transmissão colinérgica é o Mal de Parkinson.

20-Composição farmacêutica conforme reivindicações 9 a 16, caracterizada pelo fato de que a patologia associada à transmissão colinérgica é a Miastenia Gravis.

21-Composição farmacêutica conforme reivindicações 9 a 16, caracterizada pelo fato de que a patologia associada à transmissão colinérgica é resultante de intoxicações com substâncias de ação central.

22-Processo para a preparação de derivados piperidínicos de fórmula geral (I):



n corresponde a um número inteiro de 2 até 16

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoila, *orto*-clicloalcoila, *orto*-tioila, *orto*-ariloila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoila, *orto*-carbotioalcoila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoila, *meta*-clicloalcoila, *meta*-tioila, *meta*-ariloila, *meta*-sulfonas, *meta*-

sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotioalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotioalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro;

ou sais farmacologicamente aceitáveis dos mesmos,

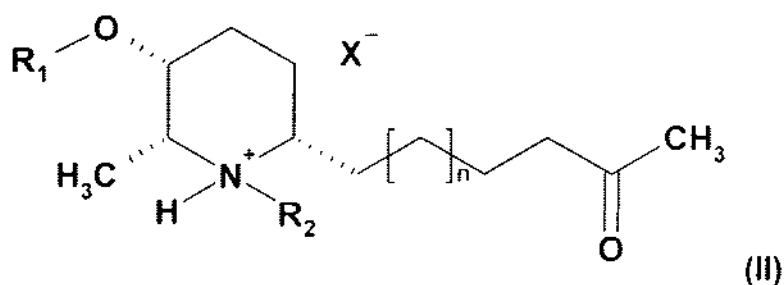
caracterizado por compreender pelo menos uma etapa de extração alcoólica e/ou hidroalcoólica de flores e/ou botões de plantas do gênero *Cassia*.

23-Processo, conforme reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que os referidos derivados piperidínicos são obtidos de plantas da espécie *C. spectabilis*.

24-Processo, conforme reivindicação 22 ou 23, caracterizado por adicionalmente compreender pelo menos uma das seguintes etapas:

- concentração;
- filtração;
- extração líquido-líquido;
- alcalinização;
- fracionamento em coluna cromatográfica; e
- combinações das mesmas.

25-Processo para a preparação de derivados piperidínicos de fórmula geral (II):



n corresponde a um número inteiro de 2 até 16

R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirroil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

5 onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotioalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila,
 10 *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotioalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotioalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou
 15 *para*-nitro;

R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

20 **X** é halogênio;

ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos, caracterizado pelo fato de os respectivos compostos de partida serem submetidos à reação de acidificação com ácidos fortes.

25 26-Processo, conforme reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o referido ácido forte é o ácido clorídrico.

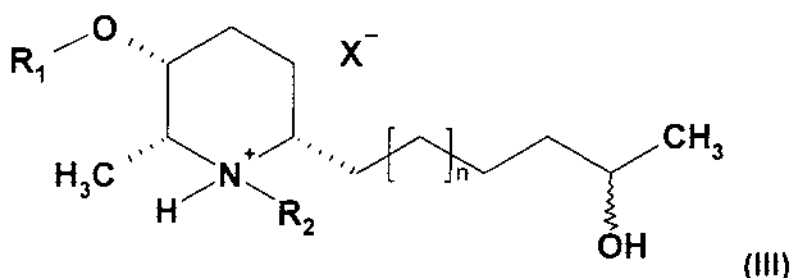
27-Processo, conforme reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é hidrogênio, **X** é cloreto e n é igual a 9.

28-Processo, conforme reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que R_1 é hidrogênio, R_2 é hidrogênio, **X** é cloreto e n é igual a 9.

29-Processo, conforme reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que R_1 é ter-butoxicarbonil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.

30-Processo, conforme reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é metil, X é iodeto e n é igual a 9.

5 31-Processo para a preparação de derivados piperidínicos de fórmula geral (III):



onde:

n corresponde a um número inteiro de 2 até 16,

10 R_1 é hidrogênio, acila, alquila, alcoxila, cicloalquila; furil, tiofenil, piridinil, pirimidinil, pirrolil, tiazolil, quinazolil, isoquinolil ou Fenil-**W**;

15 onde **W** é hidrogênio, *orto*-alquila, *orto*-cicloalquila, *orto*-alcoxila, *orto*-clicloalcoxila, *orto*-tioxila, *orto*-ariloxila, *orto*-sulfonas, *orto*-sulfetos, *orto*-sulfóxidos, *orto*-sulfonatos, *orto*-sulfonamidas, *orto*-amino, *orto*-amido, *orto*-haletos, *orto*-carboalcoxila, *orto*-carbotioalcoxila, *orto*-trihaloalcano, *orto*-ciano, *orto*-nitro, *meta*-alquila, *meta*-cicloalquila, *meta*-alcoxila, *meta*-clicloalcoxila, *meta*-tioxila, *meta*-ariloxila, *meta*-sulfonas, *meta*-sulfetos, *meta*-sulfóxidos, *meta*-sulfonatos, *meta*-sulfonamidas, *meta*-amino, *meta*-amido, *meta*-haletos, *meta*-carboalcoxila, *meta*-carbotioalcoxila, *meta*-trihaloalcano, *meta*-ciano, *meta*-nitro, *para*-alquila, *para*-cicloalquila, *para*-alcoxila, *para*-clicloalcoxila, *para*-tioxila, *para*-ariloxila, *para*-sulfonas, *para*-sulfetos, *para*-sulfóxidos, *para*-sulfonatos, *para*-sulfonamidas, *para*-amino, *para*-amido, *para*-haletos, *para*-carboalcoxila, *para*-carbotioalcoxila, *para*-trihaloalcano, *para*-ciano ou *para*-nitro,

25 R_2 é hidrogênio ou alquila com 1 a 9 átomos de carbono, e

X é halogênio;

caracterizado pelo fato de os respectivos compostos de partida serem submetidos à reação de redução.

- 5 32-Processo, conforme reivindicação 31, caracterizado pelo fato de que o agente redutor é escolhido dentre $\text{NaBH}_4/\text{H}_2\text{O}$, sódio em etanol, LiAlH_4 , H_2 e mistura dos mesmos.
- 33-Processo, conforme reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que R_1 é acetil, R_2 é hidrogênio, X é cloreto e n é igual a 9.

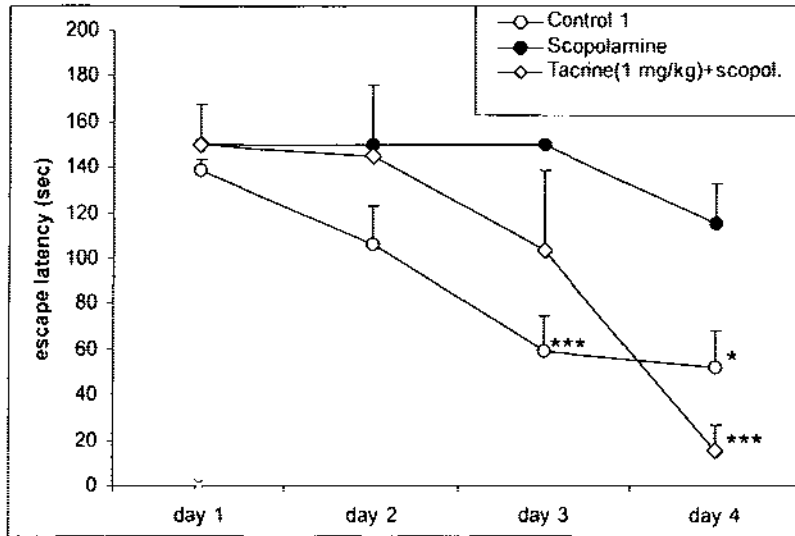


Figura 1

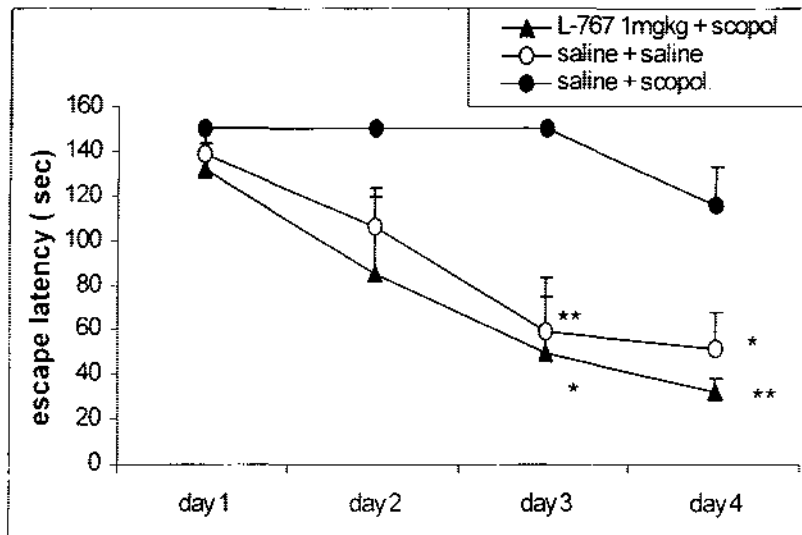


Figura 2

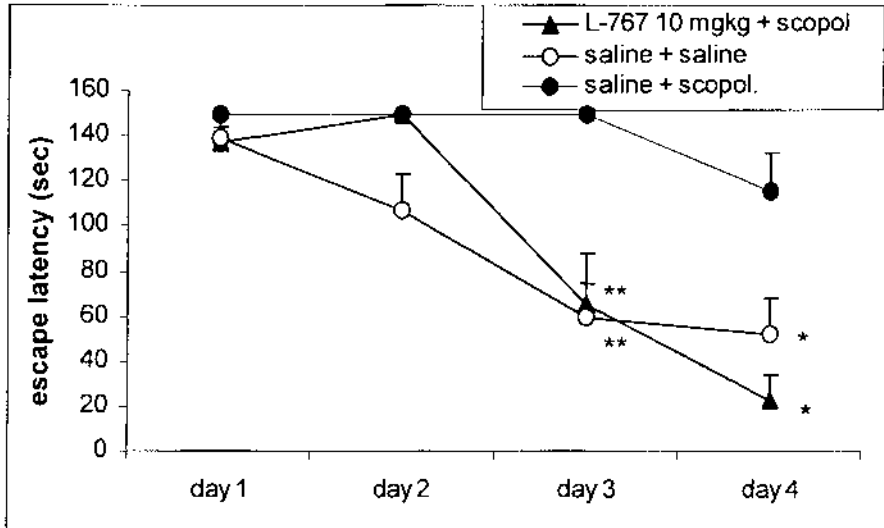


Figura 3

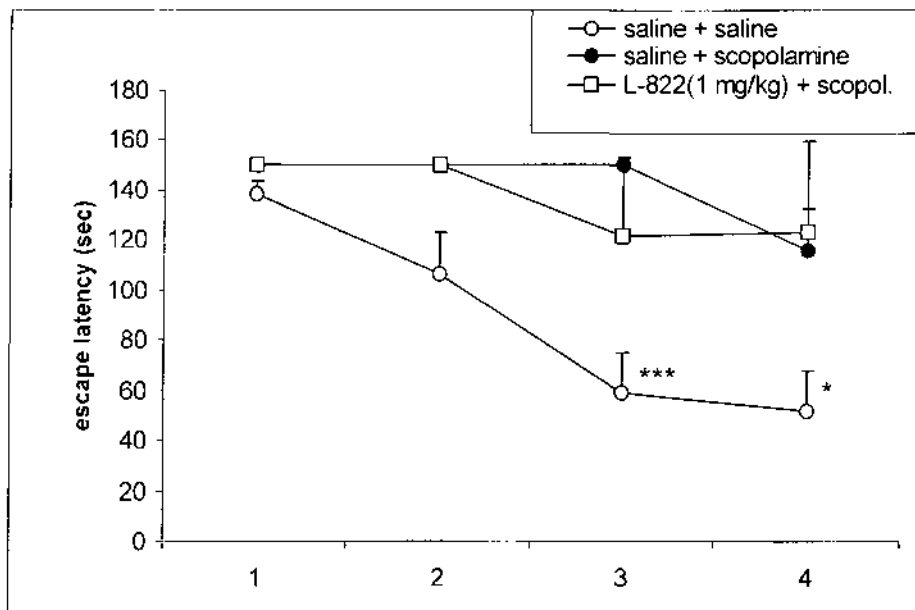


Figura 4

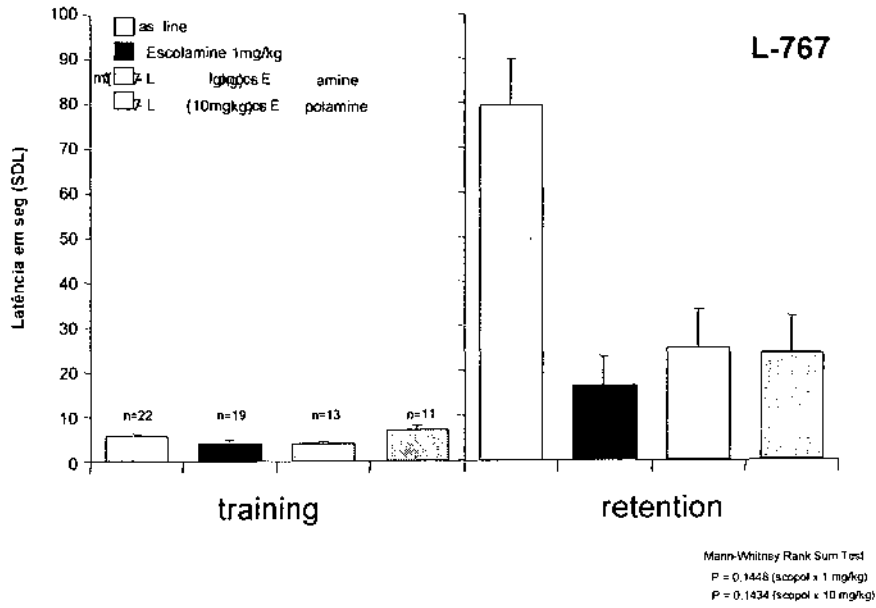


Figura 5

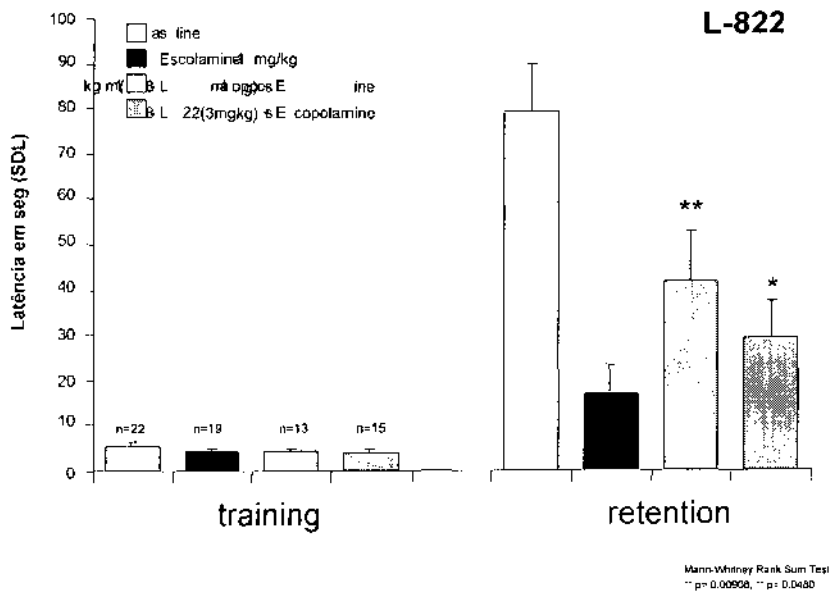


Figura 6

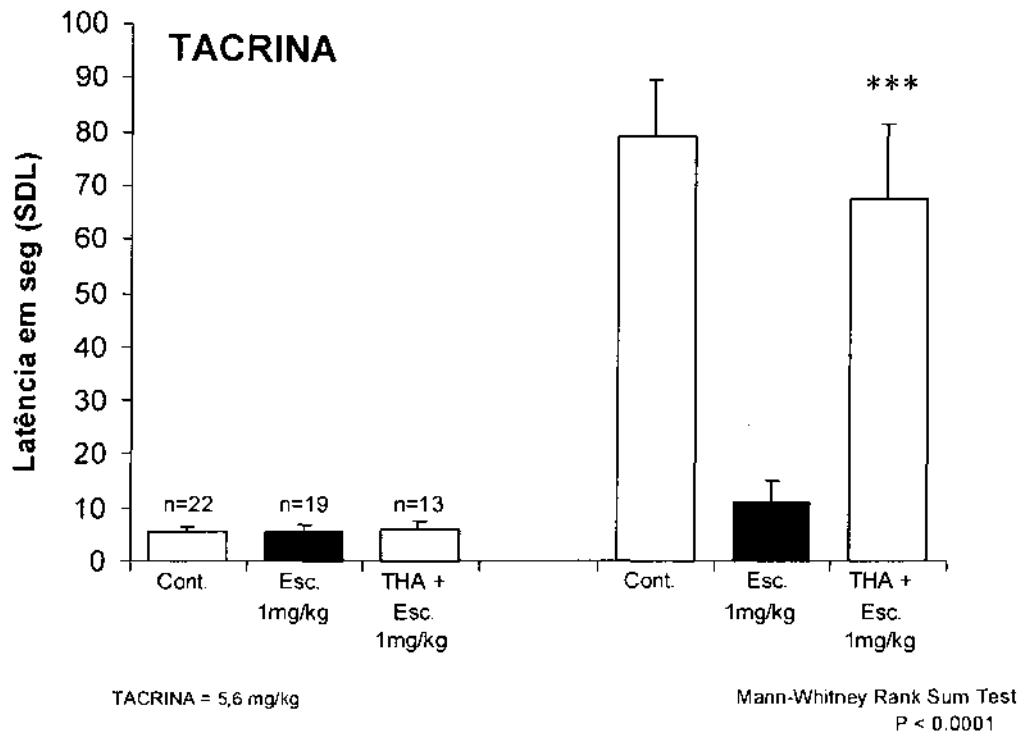


Figura 7

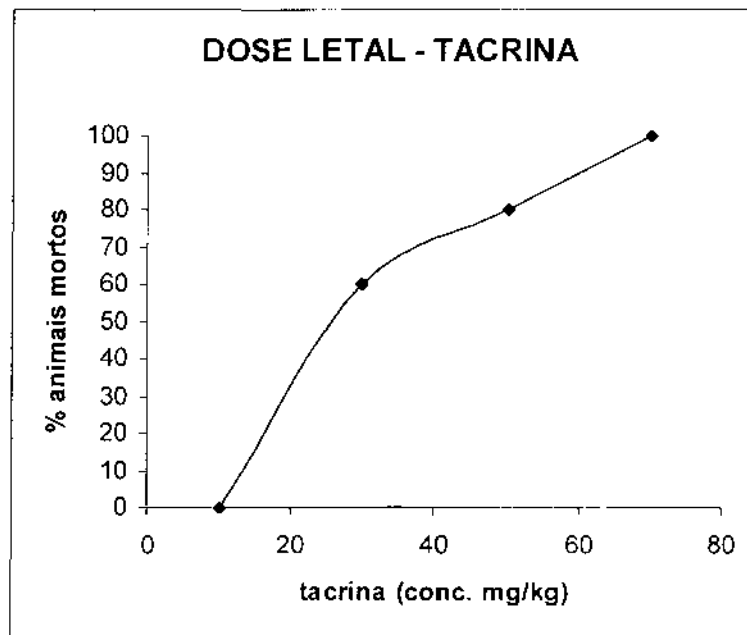


Figura 8

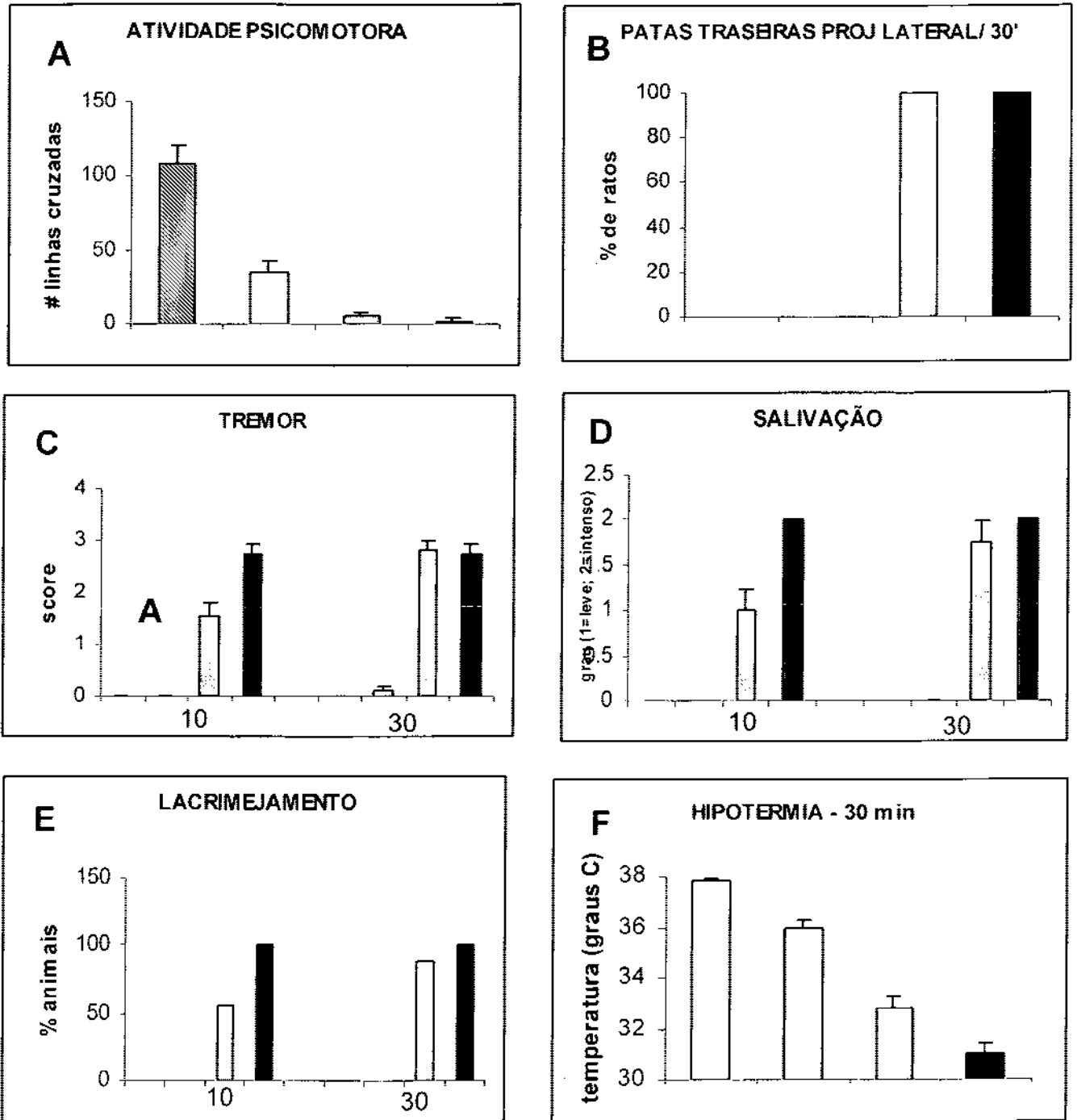


Figura 9

Resumo

NOVOS DERIVADOS PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO

5

A presente invenção proporciona composições farmacêuticas compreendendo novas moléculas capazes de atuar na inibição da acetilcolinesterase, sendo úteis no tratamento de patologias associadas transmissão colinérgica, como quadros de deficiência de memória, doenças neurodegenerativas como o Mal de Alzheimer, Miastenia Gravis ou no tratamento intoxicações motivadas por agentes químicos de ação central; são também descritos processos de produção dos referidos compostos.

10