

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

(21) **PI0703658-2 A2**



* B R P I 0 7 0 3 6 5 8 A 2 *

(22) Data de Depósito: 03/10/2007

(43) Data da Publicação: 08/06/2010
(RPI 2057)

(51) *Int.Cl.:*

C07D 211/42

A61K 31/452

A61P 25/28

(54) Título: **DERIVADOS N-BENZIL-(-3-O-ACETIL)PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS, E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO**

(73) Titular(es): Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL - MG, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

(72) Inventor(es): Cláudio Viegas Junior, Marcia Paranho Veloso, Mônica Santos Rocha, Newton G. Castro, Vanderlan da Silva Bolzani

(57) Resumo: A presente invenção proporciona derivados piperidínicos, em especial a derivados 3-O-acetil-piperidinil-N-benzil-substituídos de fórmula geral (I) e/ou (II). Em especial, tais compostos apresentam atividade inibidora de acetilcolinesterase no sistema nervoso central em ensaios farmacológicos, podendo ser úteis no tratamento de doenças como a Doença de Alzheimer. Também são revelados: um processo para a preparação destes compostos; e composições farmacêuticas contendo os mesmos.

Relatório Descritivo

DERIVADOS N-BENZIL-(-3-O-ACETIL)-PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS, E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO

5

Campo da Invenção

A presente invenção se refere a derivados piperidínicos, em especial a derivados 3-O-acetil-piperidinil-N-benzil-subsitufidos. Em especial, tais compostos apresentaram atividade inibidora de acetilcolinesterase e antiinflamatória no sistema nervoso central em ensaios farmacológicos, podendo ser úteis no tratamento de doenças como a Doença de Alzheimer. A presente invenção também se refere a um processo para a preparação destes compostos e a composições farmacêuticas contendo os mesmos.

Ainda, todos os compostos da presente invenção foram obtidos através de rotas sintéticas onde todos os reagentes são obtidos comercialmente.

Antecedentes da Invenção

A doença de Alzheimer (DA) foi descrita pela primeira vez em 1907, por Alois Alzheimer, numa época em que pessoas com mais de 65 anos representavam apenas 3% da população norte-americana. Com o aumento da expectativa média de vida, esta patologia ganhou importância, principalmente nos países mais desenvolvidos uma vez que se trata de um processo neurodegenerativo grave, progressivo e, até o momento, sem cura. Atualmente, é responsável por sérios prejuízos sócio-econômicos, sendo considerada a maior causa de demência entre pessoas acima de 65 anos, chegando atingir cerca de 50-60% da população de idosos.

O Brasil é um dos países em desenvolvimento no qual o envelhecimento da população está ocorrendo com maior velocidade. Nos últimos 50 anos houve um aumento expressivo da população com 60 anos ou mais. Em 1950 essa população era de aproximadamente 2 milhões, e correspondia a 4,1% da população total. No ano 2000 esta população aumentou para 13 milhões e passou a corresponder a 7,8% da população total. Nos próximos 50 anos

estima-se que a população idosa será de 58 milhões, o que corresponderá a 23,6% da população total.

Essas mudanças são extremamente preocupantes, devido às precárias condições econômicas e sociais dos idosos no Brasil e devido ao fato de que os problemas relacionados à saúde da infância ainda não foram adequadamente resolvidos. Nos países desenvolvidos, ocorreu a transição epidemiológica, caracterizada pela substituição das doenças infecciosas pelas crônico-degenerativas, pelo deslocamento da maior carga de morbimortalidade dos grupos mais jovens para os mais idosos e pelo predomínio da morbidade sobre a mortalidade. No Brasil, onde persistem problemas já resolvidos em outros países, existe a "superposição epidemiológica" em que ambos os problemas convivem.

Dentre as condições crônico-degenerativas, a demência é uma das mais importantes causas de morbi-mortalidade. O envelhecimento da população brasileira torna-a vulnerável às demências, justificando que se avaliem os estudos sobre epidemiologia, particularmente da DA e da DCV (Doença cérebro vascular), suas causas mais freqüentes, para apontar as linhas de pesquisa que devem ser implementadas.

A fisiologia da DA está relacionada à redução dos níveis de acetilcolina (ACh) no processo sináptico e na diminuição da neurotransmissão colinérgica cortical e, em menor extensão, envolve também outros neurotransmissores como noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato e substância P.

Estudos recentes demonstraram que a DA também pode estar associada à redução do número de receptores nicotínicos e muscarínicos (M_2) de acetilcolina, muitos dos quais localizados nas terminações colinérgicas pré-sinápticas, havendo preservação dos receptores muscarínicos (M_1 e M_2) pós-sinápticos. Uma das primeiras observações bioquímicas associadas ao déficit colinérgico apontou para uma estreita relação com alteração no processamento do precursor de proteína β -amilóide (APP), que se deposita extracelularmente causando morte neuronal.

A hipótese colinérgica é a teoria bioquímica mais aceita mundialmente para a intervenção colicomimética na DA. Sua fundamentação está na capacidade de fármacos potencializadores da função colinérgica central

induzirem melhora do perfil cognitivo e, também, de alguns efeitos comportamentais oriundas da doença.

Dentre os vários mecanismos de aumentar a transmissão colinérgica, a inibição da enzima AChE (enzima responsável pela clivagem metabólica da ACh) é, atualmente, o método mais eficiente para melhorar a deficiência colinérgica pelo aumento dos níveis de ACh, o tempo de vida-média no SNC e levar a uma melhora sintomática. Outra alternativa, muito explorada recentemente, é o desenvolvimento de agonistas diretos de receptores muscarínicos pós-sinápticos M_1 , cuja estimulação tem mostrado aumento do processo cognitivo em animais.

Atualmente existem somente 5 fármacos aprovados e disponíveis comercialmente para o tratamento da DA: tacrina (1), donepezil (2), rivastigmina (3), galantamina (4) e memantine (5, Figura 1).

A busca por novas entidades químicas (NEQs) capazes de interferir no avanço da DA tem encontrado na química de produtos naturais uma importante contribuição, tanto de moléculas ativas, como de novos esqueletos que têm servido de modelos para o planejamento sintético de novas entidades químicas (NEQs) ativas. A maioria destas NEQs atua inibindo a atividade da enzima AChE, responsável pela hidrólise de acetilcolina (ACh) em colina e acetato. Somente a memantine (5), recentemente aprovada atua como antagonista de receptores de NMDA (N-metil-D-aspartato) bloqueando a transmissão de glutamato.

A fisostigmina (6, Figura 1) é um carbamato pirrolidil-indólico isolado das sementes de *Physostigma venenosum* e foi o primeiro inibidor reversível de acetilcolinesterase descrito, mas por sua alta toxicidade não é recomendada para uso contínuo. Apesar disso, a fisostigmina serviu de protótipo para o planejamento da rivastigmina, que por sua vez tem sido utilizada como modelo para a síntese de inúmeros carbamatos inibidores de AChE.

Cassia spectabilis é uma planta arbórea, pertencente à família *Fabaceae*, conhecida popularmente como São-João, cassia-do-nordeste, canafistula-do-besouro e pau-de-ovelha, possuindo como sinônimas botânicas *Senna spectabilis*, ou *Cassia excelsa* Schrad. É uma planta decídua (perde suas folhas numa estação específica do ano), heliófita (necessita de

luminosidade solar para seu desenvolvimento), seletiva xerófita (vive em ambiente seco e apresenta adaptações estruturais e funcionais que minimizam a perda de água por evaporação, próprio de regiões áridas ou com longo período de estiagem), pioneira, característica do nordeste semi-árido (caatinga), mas também é comum no cerrado do estado de São Paulo. Ocorre preferencialmente em solos mais profundos, bem drenados e de razoável fertilidade.

Seus extratos demonstraram atividade citotóxica seletiva e foi selecionada para estudo fitoquímico, visando o isolamento de alcalóides piperidínicos e outros metabólitos bioativos. O estudo químico das folhas, flores e frutos de *C. spectabilis* resultou no isolamento de inúmeros alcalóides piperidínicos (compostos **7-18**, **Figura 2**)¹. A (-)-espectralina (**7**), já havia sido identificada nas folhas, mas foi muito mais abundante nas flores, tendo sido obtida com rendimento de 4% a partir do extrato EtOH. Ensaios *in vivo* evidenciaram atividade analgésica periférica e moderada atividade antiinflamatória de **7**², além de importante efeito tóxico em doses elevadas.

Outro metabólito isolado das flores e dos frutos desta planta, 3-O-acetil-espectralina (**9**), também demonstrou atividade analgésica periférica e central, sem os efeitos tóxicos observados em **7**. O reconhecimento de uma “subunidade acetilcolina” internalizada no núcleo acetil-piperidinol de **9** (**Figura 2**) sustentou a hipótese de que esta substância poderia atuar também como inibidor de AChE. Utilizando a relação bioisostérica existente entre as funções carbonato e éster, foi planejada a preparação dos cloridratos da 3-O-acetil-espectralina (**19**) e do carbonato 3-O-Boc-espectralina (**20**), além de outros três derivados. A avaliação preliminar *in vitro* demonstrou que as substâncias **19** e **20**, foram capazes de inibir completamente a AChE, utilizando-se como padrão a galantamina, um fármaco comercial. Estudos mais recentes demonstraram que **19** e **20** também são capazes de reverter amnésia induzida em camundongos e ratos por escopolamina, sem os efeitos tóxicos apresentados pela tacrina (**1**)³. Atualmente, estes dois candidatos a fármacos anticolinesterásicos estão em fase pré-clínica de avaliação.

Num estudo mais recente utilizando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas com o extrato das flores, frações de extrato e

metabólitos de *C. spectabilis* descobriram a ocorrência de co-metabólitos homólogos, distintos no tamanho da cadeia carbônica lateral de 10 e 12 unidades metilênicas. Estes resultados revelaram que na realidade a (-)-espectralina (**7**) co-elui com seu homólogo inferior, a (-)-cassina (**11**), do qual é
5 dificilmente separável, constituindo uma mistura em proporção aproximada 30 (**7**):70 (**11**)⁴. Uma vez que todos os experimentos envolveram esta mistura de homólogos cassina/espectralina, por simplificação trataremos de chamar cassina a esta mistura, salientando que trata-se de uma mistura onde a (-)-cassina é o constituinte majoritário.

10 A cassina, matéria-prima abundante nas flores de *C. spectabilis* e precursor na semissíntese de **19** e **20**, apresentou atividade antiinflamatória moderada, inibindo 33% do edema induzido em pata de ratos.

Em trabalho anterior dos inventores da presente invenção, já havia sido preparada uma série de derivados da cassina visando obter-se informações
15 sobre relação estrutura-atividade (REA), toxicidade e identificação de grupos funcionais passíveis de serem modificados sem perda da atividade analgésica. Deste estudo concluiu-se que o acetato **9** foi o derivado mais promissor, apresentando atividade analgésica um pouco inferior do que a cassina, mas sem apresentar os efeitos tóxicos observados em ensaios de toxicidade aguda
20 e subaguda. Desta forma identificou-se o grupo hidroxila na posição C-3 da cassina/espectralina como grupo toxicofórico⁵.

Estes resultados, aliados ao fato de tratarem-se de IChEs com um novo padrão molecular, qualificaram os compostos **19** e **20** como novos protótipos para estudos pré-clínicos. Entretanto, além da presença de uma
25 subunidade acetilcolina internalizada no núcleo piperidínico, que possivelmente seja o grupo farmacofórico responsável pelo reconhecimento pela AChE, pouco se sabe sobre as possíveis influências de outras funções presentes na estrutura.

As posições -OH do núcleo piperidinol e C=O da cadeia lateral podem
30 ser alvos interessantes para a preparação de séries congêneres de carbamatos e aril-hidrazonas, respectivamente. Estas séries poderão levar a novos carbamatos piperidínicos, anticolinesterásicos e, no caso das piperidinil-arilidrazonas, constituirão um novo padrão estrutural de compostos com

atividade dupla, anticolinesterásica e antiinflamatória, representando uma importante inovação no desenho molecular de agentes anticolinesterásicos.

O documento WO 2006/039767 relata o uso da espécie *Senna spectabilis* como fonte de derivados piperidínicos. Entretanto, os derivados descritos neste documento possuem diferentes estruturas moleculares em relação aos da presente invenção. Não há outro documento referente ao uso de *Senna spectabilis*.

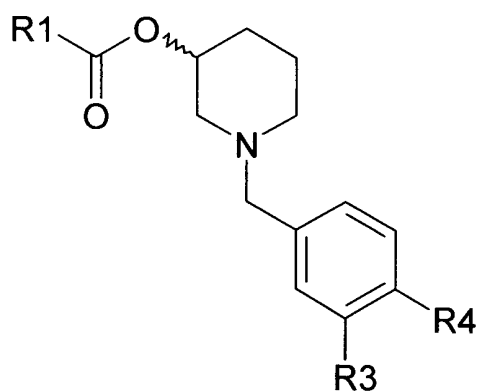
O documento US 2004/0197429 relata o uso direto de substâncias extraídas de extratos vegetais de espécies da ordem Fabales, Asterales, Apocinales, Arales, dentre outras, com atividade anti-inflamatória e analgésica simultaneamente. Entretanto, os inventores desta invenção não propuseram nenhuma modificação química no composto de partida extraído da planta. Não há nenhum documento relacionado à modificação química de um composto de partida extraído de uma espécie da Família Fabaceae com atividade inibidora de acetilcolinesterase e antiinflamatória no sistema nervoso central simultaneamente.

A diversidade de atividade biológica observada para os alcalóides piperidínicos de *C. spectabilis* e de seus derivados semi-sintéticos despertou o interesse pelo estudo de REA analgésica e antiinflamatória para derivados da cassina, visando a obtenção de agentes analgésicos e antiinflamatórios mais potentes e com um padrão estrutural inovador. Além disso, a necessidade de descoberta e obtenção de novos agentes terapêuticos menos tóxicos levou-nos ao planejamento de compostos estruturalmente mais simples que os derivados da cassina, concebidos por hibridação e simplificação moleculares a partir das estruturas de **19** e do donepezil (**2**, Figura 3), representando um novo padrão molecular de inibidores de acetilcolinesterase.

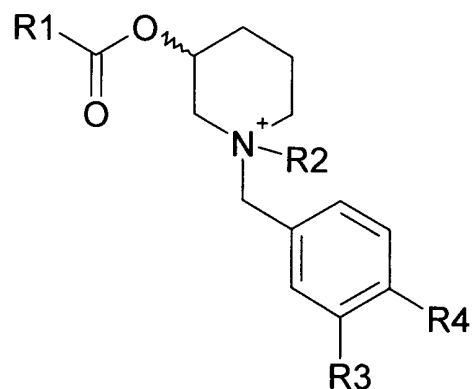
Objetivos da Invenção

Os objetivos da presente invenção visam a preparação e avaliação farmacológica de uma série da estrutura **23** planejada por simplificação molecular de **19** e **20** e hibridação molecular com a subunidade benzil-piperidínica de **2** (Figura 3)

Os derivados da presente invenção possuem fórmula geral (I) e/ou (II):



(I)



(II)

onde:

R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo
5 alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

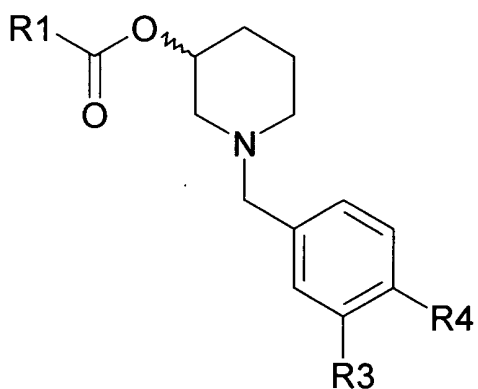
R2 é escolhido do grupo que compreende H, CH₃, C₂H₅;

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende
H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H,
SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

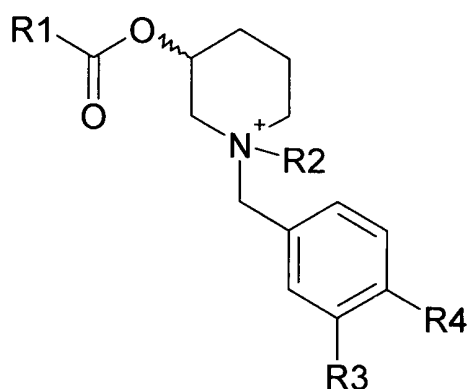
10 e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmacêuticamente
aceitáveis.

É um adicional objeto da presente invenção uma composição
farmacêutica compreendendo:

a) um composto de fórmula geral (I) e/ou (II):



(I)



(II)

onde:

R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo
15 alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

R2 é escolhido do grupo que compreende H, CH₃, C₂H₅;

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C₁-C₄)₂, O(C₁-C₄), C₁-C₄; NH₂, SO₃H, SO₂(C₁-C₅), NH(C₁-C₅);

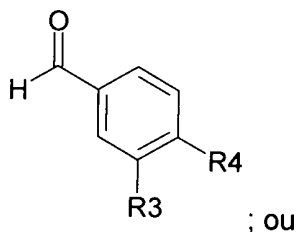
5 e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmacologicamente aceitáveis; e

b) um veículo farmacologicamente aceitável.

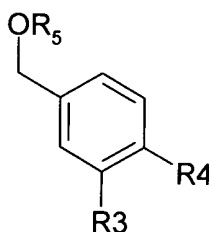
É um adicional objeto do presente pedido um processo de preparação dos compostos de fórmula geral (I) compreendendo as etapas de:

10 a) reagir 2-hidroxipiperidina com anidridos de fórmula (R₁O)₂O, haletos de ácidos carboxílicos, haletos de carbamato e/ou carbamatos.

b.1) realizar uma aminação reductiva com aldeídos de fórmula



b.2) realizar um acoplamento com mesilatos e/ou tosilatos de fórmula



15 É um adicional objeto da presente invenção um processo de preparação dos compostos de fórmula geral (II) compreendendo as etapas de:

a) Adicionar a um composto de fórmula geral (I) HCl anidro ou CH₃I em acetona;

20 Estes e outros objetos da presente invenção serão melhor compreendidos e valorizados a partir da descrição detalhada da invenção e das reivindicações anexas.

Descrição das Figuras

25 A Figura 1 mostra fármacos comerciais para tratamento da DA e fisostigmina.

A Figura 2 mostra alcalóides naturais e semi-sintéticos obtidos de *Cassia spectabilis* e *S. multijuga*.

A Figura 3 mostra o planejamento da série **23** por simplificação e hibridação molecular dos alcalóides **19-20** e do donepezil (**2**).

5 A Figura 4 mostra abordagem sintética para a preparação das séries **23** e **28** a partir da 3-hidroxi-piperidina (**24**).

A Figura 5 mostra o resultado do ensaio de inibição da acetilcolinesterase cerebral, evidenciando a atividade restante da enzima após a administração dos compostos.

10

Descrição Detalhada da Invenção

Os exemplos aqui mostrados têm o objetivo apenas de exemplificar uma das possíveis realizações da invenção, sem, contudo limitá-la, de forma que realizações similares estão dentro do escopo da invenção.

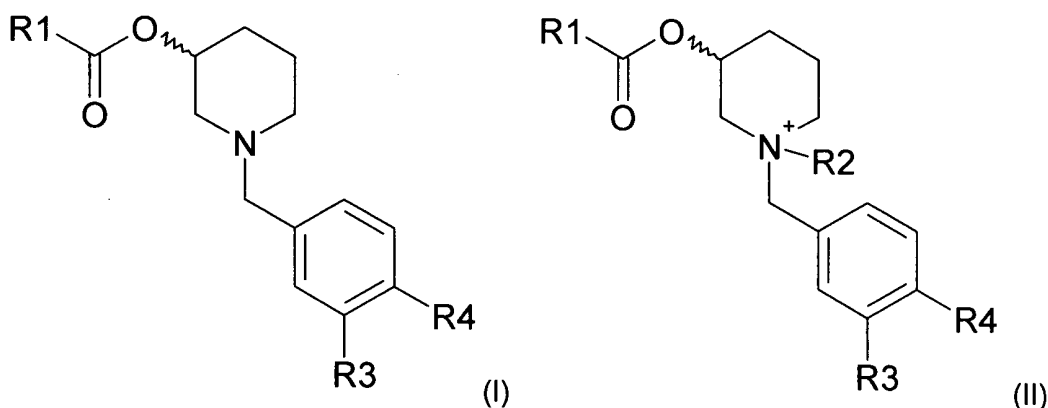
15 Para efeitos desta invenção, por “composições farmacêuticas” entende-se toda e qualquer composição que contenha um princípio ativo, com fins profiláticos, paliativos e/ou curativos, atuando de forma a manter e/ou restaurar a homeostase, podendo ser administrada de forma tópica, parenteral, enteral e/ou intratecal. Por “princípio ativo” entende-se todos ou quaisquer compostos
20 de fórmula geral (I) e/ou (II), ou seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmaceuticamente aceitáveis.

A expressão “farmaceuticamente aceitável” é empregada aqui para se referir a compostos, materiais, composições, e/ou forma de dosagem que são, dentro do âmbito da medicina, apropriados para uso em contato com os tecidos
25 de humanos e animais sem toxicidade excessiva, irritação, resposta alérgica, ou outro problema ou complicação, proporcional com uma relação razoável de benefício/risco.

Como utilizado aqui, “sais farmaceuticamente aceitáveis”, referem-se a derivados dos compostos descritos nos quais os compostos de origem é
30 modificado fazendo-se ácidos ou bases de sal dos mesmos. Exemplos de sais farmaceuticamente aceitáveis incluem, mais não se limitam, a sais minerais ou orgânicos de resíduos básicos como as aminas, sais orgânicos ou alcalinos de resíduos ácidos como os ácidos carboxílicos, e seus semelhantes.

Os sais farmaceuticamente aceitáveis incluem os convencionais sais não-toxicos ou sais quaternários de amônio do composto original formado, por exemplo, de um ácido orgânico ou inorgânico não-toxico. Por exemplo, como os sais convencionais não-toxicos incluem aqueles derivados de ácidos inorgânicos como hidrocloreídrico, hidrobromico, sulfúrico, sulfâmico, fosfórico, nítrico e seus semelhantes; e os sais preparados de ácidos orgânicos como acético, propiônico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutâmico, benzóico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxi-benzóico, fumárico, tolueno sulfônico, metano sulfônico, etano di-sulfônico, oxálico, isetiônico, e seus semelhantes.

Os derivados da presente invenção possuem fórmula geral (I) e/ou (II):



onde:

$R1$ é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcóxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

$R2$ é escolhido do grupo que compreende H, CH_3 , C_2H_5 ;

$R3$ e $R4$ são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF_3 , NO_2 , $N(C1-C4)_2$, $O(C1-C4)$, C1-C4; NH_2 , SO_3H , $SO_2(C1-C5)$, $NH(C1-C5)$;

e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmaceuticamente aceitáveis.

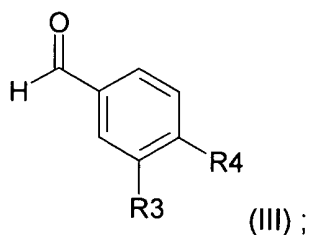
Os compostos de fórmula geral (I) de que a presente invenção trata podem ser sintetizados através de um processo compreendendo as etapas de:

a) reagir 2-hidroxipiperidina com anidridos de fórmula $(R1O)_2O$, haletos de ácidos carboxílicos, haletos de carbamoila e/ou carbamatos;

onde:

R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

b.1) realizar uma aminação reductiva com aldeídos de fórmula

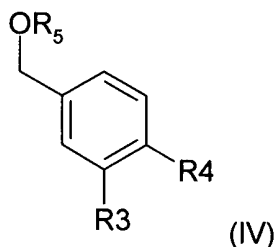


onde:

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

ou

b.2) realizar um acoplamento com mesilatos e/ou tosilatos de fórmula

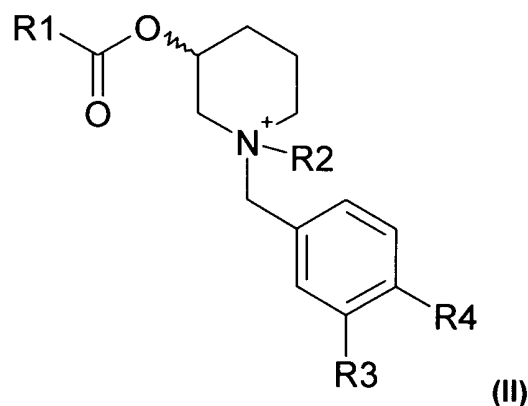


onde:

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

R5 é Ts ou Ms

É um adicional objeto da presente invenção um processo de preparação dos compostos de fórmula geral (II)



onde:

R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

5 R2 é escolhido do grupo que compreende H, CH₃, C₂H₅;

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

10 e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmacologicamente aceitáveis.

compreendendo a etapa de adicionar a um composto de fórmula geral (I) HCl anidro ou CH₃I em acetona;

Exemplo 1. Síntese dos compostos de fórmula geral (I) e (II).

15 Os compostos da presente invenção foram preparados a partir da 2-hidroxi-piperidina (**24**), que foi funcionalizada na posição C-3 por reação com um anidrido adequado, em especial os anidridos Ac₂O e Boc₂O, gerando os intermediários acetato ou carbonato (**25**).

20 Numa etapa subsequente, os derivados (**25**) foram convertidos nos compostos de fórmula geral (I) por duas maneiras distintas:

- através da reação de aminação redutiva com aldeídos adequadamente funcionalizados em cada caso, utilizando-se NaBH₃CN ou NaBH₄ como agentes redutores, após a formação do intermediário imínio correspondente; ou
 - através dos álcoois benzílicos correspondentes, após convertidos nos respectivos mesílatos (**27**) e posterior acoplamento com os intermediários piperidínicos funcionalizados na posição C-3.
- 25

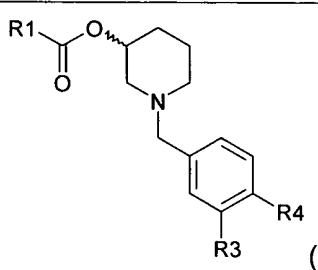
Os compostos de fórmula geral (I) foram convertidos nos compostos de fórmula geral (II) por:

- reação com HCl anidro; ou
- reação com CH₃I em acetona

5 A abordagem sintética está resumidamente delineada na Figura 4.

A Tabela I abaixo resume as estruturas dos compostos sintetizados. Os compostos híbridos foram obtidos em rendimentos totais de 8 a 54% a partir do substrato de partida **24**.

Tabela I – Estrutura dos compostos de fórmula geral (I).

 (I)			
Composto	R1	R3	R4
CVPD 97F1 – 3a	CH ₃	H	H
CVPD 123F2 – 3b	CH ₃	H	NO ₂
CVPD 129F1 – 3c	CH ₃	H	NH ₂
PNIC 01 – 3d	CH ₃	OH	OCH ₃
PNIC 03 – 3e	CH ₃	OH	OH
PNIC 05 – 3f	CH ₃	H	F
PNIC 06 – 3g	CH ₃	H	Cl
PNIC 09 – 3h	CH ₃	H	OH
PNIC 10 – 3i	CH ₃	H	Br
PNIC 11 – 3j	CH ₃	H	N(CH ₃) ₂
PNIC 12 – 3l	CH ₃	OCH ₃	OCH ₃
PNIC 13 – 3m	CH ₃	OCH ₃	OH
PNIC 14 – 3n	CH ₃	H	OCH ₃

10

Exemplo 2. Avaliação farmacológica da inibição de acetilcolinesterase cerebral

A atividade anticolinesterásica foi determinada em tecido cerebral de acordo com o método espectrofotométrico descrito por Ellman. Em resumo, os cérebros de ratos *naive* ou tratados (experimentos *ex-vivo*) foram
 15 homogeneizados em tampão fosfato 0,1 M pH 7,4 contendo Triton X-100 0,05% com o auxílio de um aparelho Potter e depois por sonicação. A substância a ser testada foi adicionada em diferentes concentrações, além do reagente de Ellman (DTNB 0,25 mM) e do substrato (acetiltiocolina 0,5 mM),

em um volume final de 200 μ l. Os ensaios foram realizados em triplicatas em placas de 96 poços, fazendo-se a leitura em espectrofotômetro de microplacas (Spectramax 250, Molecular Devices). A leitura foi feita no comprimento de onda de 412 nm, a intervalos de aproximadamente 10 segundos, por cerca de 5 minutos. A velocidade máxima ($V_{\text{máx}}$) em $\Delta\text{DO}/\text{min}$ foi determinada por regressão linear, usando 5-10 pontos. Da $V_{\text{máx}}$ foi subtraída a hidrólise espontânea (não enzimática) e/ou outras contribuições indesejadas. A concentração inibitória média (CI_{50}) foi determinada por regressão não linear da $V_{\text{máx}}$ em função da concentração da substância-alvo. Os resultados estão resumidos na Tabela II abaixo, e também na Figura 6.

Tabela II – Atividade de colinesterase cerebral (% controle)

Substância (100 μ M)	N (a)	Média %	DP % (b)	EPM % (c)
LASSBio-767	3	15,37	1,22	0,71
CVPD97F1 – 3a	6	86,29	3,65	1,49
CVPD123F2 – 3b	5	84,99	3,14	1,40
CVPD129F1 – 3c	5	97,00	4,01	1,79
PNIC 01 – 3d	3	79,54	7,93	4,58
PNIC 03 – 3e	3	81,27	8,01	4,63
PNIC 05 – 3f	3	37,99	5,37	3,10
PNIC 06 – 3g	3	88,23	6,32	3,65
PNIC 09 – 3h	3	72,12	3,15	1,82
PNIC 10 – 3i	3	79,49	1,95	1,12
PNIC 11 – 3j	3	67,77	4,12	2,38
PNIC 12 – 3l	3	77,21	2,47	1,43
PNIC 13 – 3m	3	91,64	10,05	5,80
PNIC 14 – 3n	3	78,47	4,88	2,82

(a) – número de ensaios realizados; (b) desvio padrão; (c) erro padrão médio

A avaliação farmacológica de 13 dos novos compostos evidenciou que somente o composto **3f (PNIC05)** foi capaz de inibir significativamente a atividade enzimática da AChE. Este resultado pode indicar que a cadeia lateral hidrofóbica dos protótipos **19** e **2** podem ser auxiliares farmacofóricos importantes, e que a variação da natureza e do volume dos substituintes na subunidade *N*-benzílico da série **23** não contribuiu significativamente para variações no perfil de atividade das substâncias analisadas.

O composto mais ativo **3f (PNIC05)** foi capaz de inibir cerca de 63% da atividade colinesterásica, o que pode estar relacionado com uma contribuição

estereoelétrica, eletrônica ou hidrofóbica do átomo de Flúor na posição 4 do anel aromático.

Os compostos da presente invenção podem ser administrados em forma de dosagem oral, como tabletes, cápsulas (cada qual inclui a liberação sustentada ou formulações com tempo de liberação controlado) pílulas, pós, 5 granulados, elixires, tinturas, suspensões, xaropes, e emulsões. Eles podem também ser administrados em formas injetáveis intravenosas (infusões), intraperitoneais, subcutâneas, ou intramusculares, e ainda em dispositivos adesivos para absorção transcutânea, todas utilizando dosagens conhecidas para aqueles com habilidade ordinária que praticam a arte farmacêutica. Eles 10 podem ser administrados sozinhos, mas geralmente serão administrados com um veículo farmacêutico selecionado na base de rota de administração escolhida e da prática farmacêutica padrão.

O regime de dosagens para os compostos da presente invenção irão, 15 naturalmente, variar dependendo de fatores já conhecidos, como as características farmacodinâmicas de um agente particular e modalidade e rota de administração, as espécies, idade, sexo, saúde, condição médica, e peso do receptor, a natureza e extensão dos sintomas; o tipo de tratamento simultâneo; a frequência do tratamento; a rota de administração, a função hepática e renal 20 do paciente, e o efeito desejado.

Referências citadas:

1. *Tetrahedron* **1995**, 51, 5929; *J. Nat. Prod.* **1995**, 58, 1683; *J. Braz. Chem. Soc.* **1996**, 7, 157; *An. Acad. Bras. Ci.* **1999**, 71, 181; *J. Nat. Prod.* **2004**, 25 67, 908; Viegas Jr., C.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2003
2. *Planta Medica* **2003**, 69, 795; Viegas Jr., C.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2003
3. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 4184; *WO 2006/039767*
4. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, 6B, 1431-1438 30
5. Viegas Jr., C.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2003; Viegas Jr. C.; Moreira, M. S. A.; Barreiro, E. J.; Bolzani, V. S.; Resumos da 25ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2002;

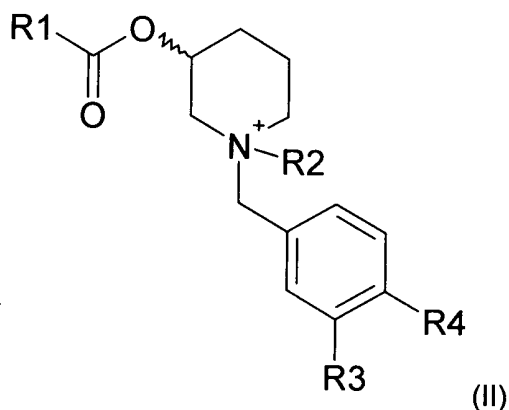
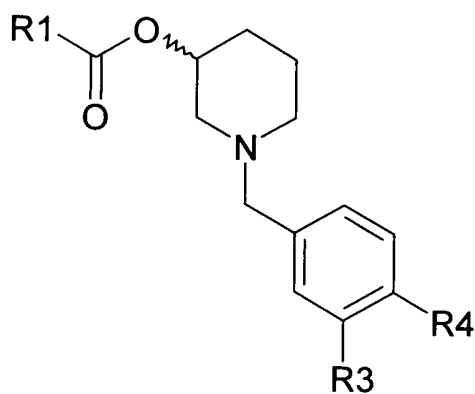
Viegas Jr. C.; Bolzani, V. S.; Barreiro, E. J.; Miranda, A. L. P.; Resumos da 26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2003.

Reivindicações

DERIVADOS N-BENZIL-(-3-O-ACETIL)PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS, E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO

5

1. Derivados piperidínicos **caracterizados** por possuírem a fórmula geral (I) e/ou (II):



onde:

10 R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcóxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

R2 é escolhido do grupo que compreende H, CH₃, C₂H₅;

15 R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmacêuticamente aceitáveis.

20

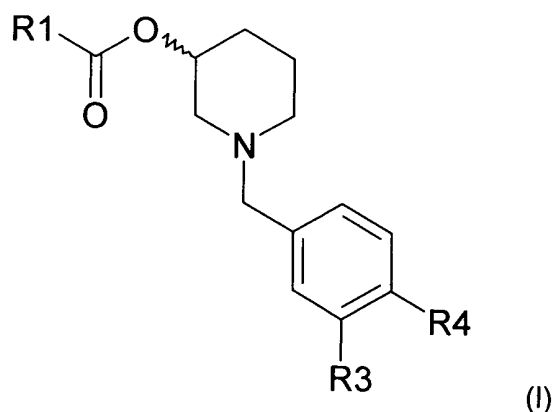
2. Derivados, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de:

R1 ser CH₃;

R3 ser H, OH ou OCH₃; e

R4 ser H, NO₂, NH₂, OCH₃, OH, F, Cl, Br, N(CH₃)₂.

3. Processo de produção de derivados piperidínicos de fórmula geral (I):



onde:

R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

5 R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF3, NO2, N(C1-C4)2, O(C1-C4), C1-C4; NH2, SO3H, SO2(C1-C5), NH(C1-C5);

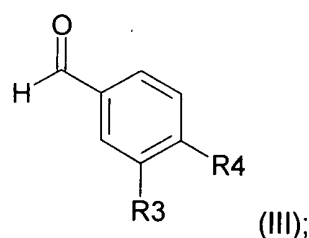
e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmacologicamente aceitáveis;

caracterizado por compreender as etapas de:

10 a) reagir 2-hidroxipiperidina com anidridos de fórmula (R1O)₂O, haletos de ácidos carboxílicos, haletos de carbamoila ou carbamatos;

onde: R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

b.1) realizar uma aminação reductiva com aldeídos de fórmula

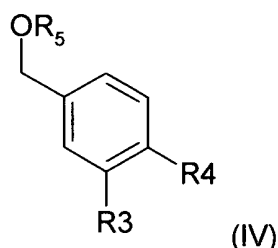


15

onde R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF3, NO2, N(C1-C4)2, O(C1-C4), C1-C4; NH2, SO3H, SO2(C1-C5), NH(C1-C5); ou

20

b.2) realizar um acoplamento com mesilatos ou tosilatos de fórmula

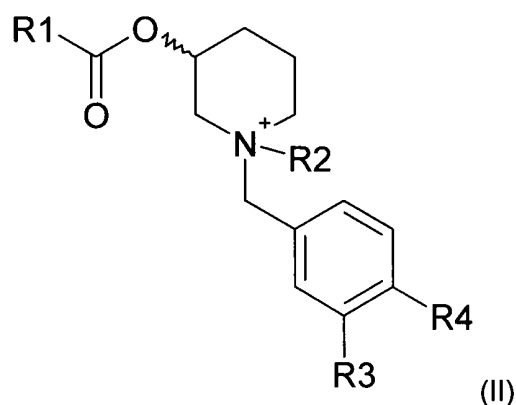


onde:

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

R5 é Ts ou Ms.

4. Processo de produção de derivados piperidínicos de fórmula geral (II):



onde:

R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

R2 é escolhido do grupo que compreende H, CH₃, C₂H₅;

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

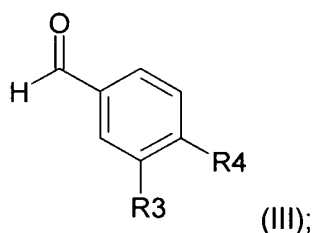
e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmacologicamente aceitáveis;

caracterizado por compreender as etapas de:

a) reagir 2-hidroxipiperidina com anidridos de fórmula (R₁O)₂O, haletos de ácidos carboxílicos, haletos de carbamoila ou carbamatos;

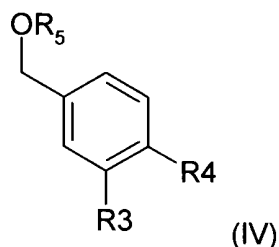
onde: R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

b.1) realizar uma aminação redutiva com aldeídos de fórmula



onde R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂,
 5 SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5); ou

b.2) realizar um acoplamento com mesilatos ou tosilatos de fórmula



onde:

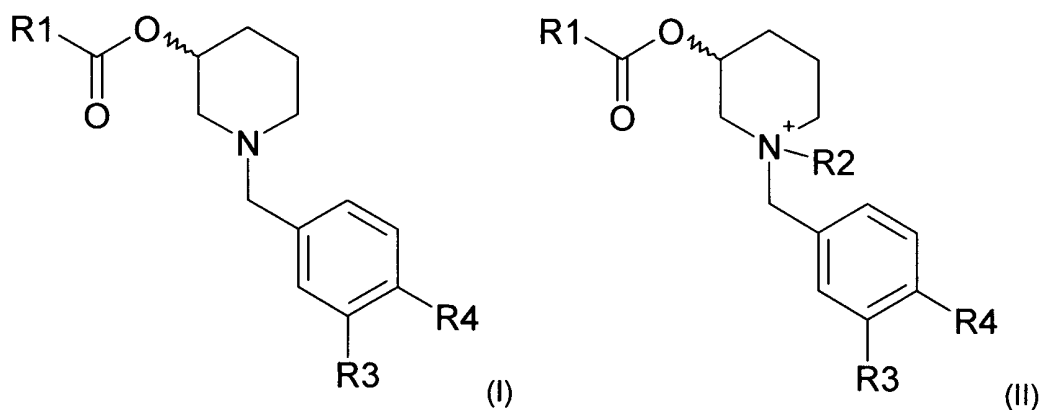
10 R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende
 H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H,
 SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

R5 é Ts ou Ms.

c) adicionar ao composto de b.1) e/ou b.2) HCl anidro e/ou CH₃I em
 15 acetona.

5. Composição farmacêutica **caracterizada** por compreender:

a) Derivados piperidínicos de fórmula geral (I) e/ou (II):



onde:

R1 é escolhido do grupo que compreende H, grupo alquila C1-C5, grupo alcoxialquila C1-C5, carbamoila C1-C5;

5 R2 é escolhido do grupo que compreende H, CH₃, C₂H₅;

R3 e R4 são, independentemente, escolhidos do grupo que compreende H, OH, F, Cl, BR, CF₃, NO₂, N(C1-C4)₂, O(C1-C4), C1-C4; NH₂, SO₃H, SO₂(C1-C5), NH(C1-C5);

10 e seus sais, solvatos, hidratos e/ou isômeros farmacêuticamente aceitáveis;

b) um veículo farmacêuticamente aceitável.

Figuras

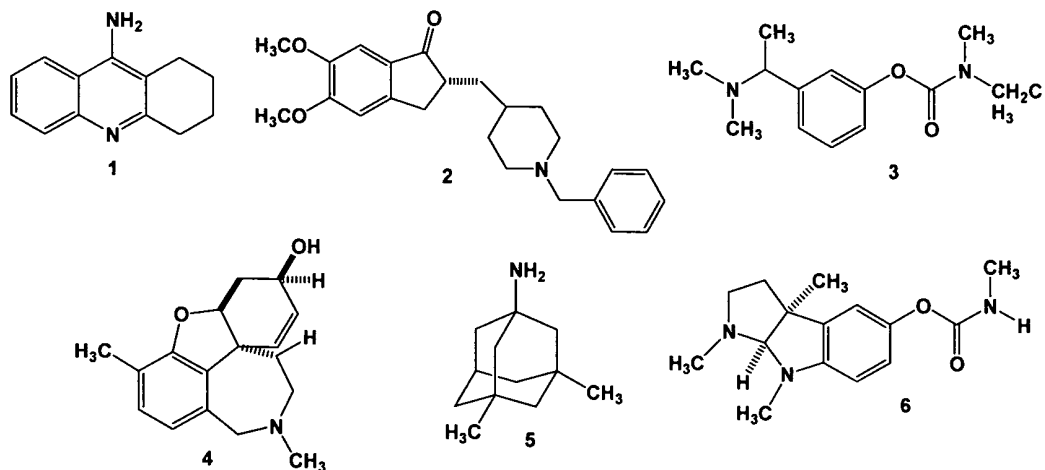


Figura 1

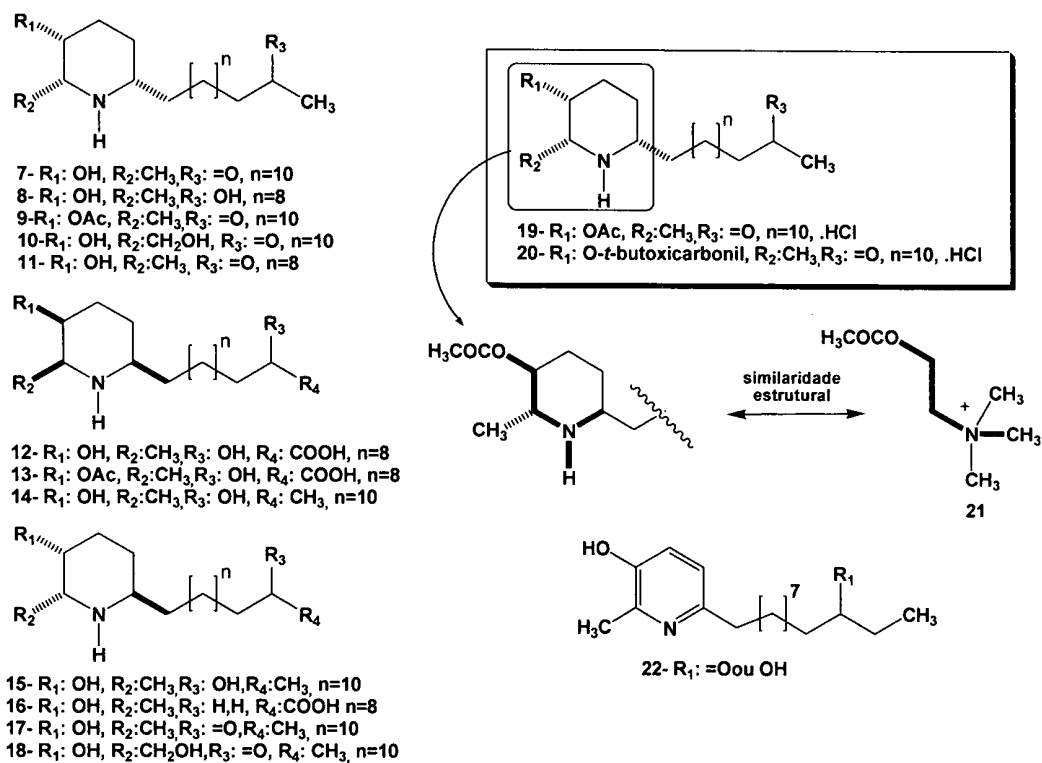


Figura 2

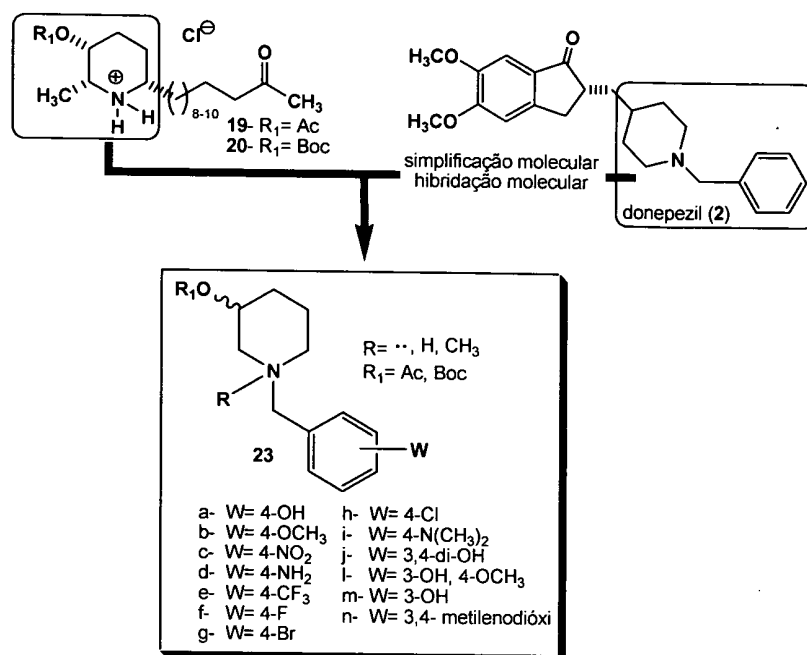


Figura 3

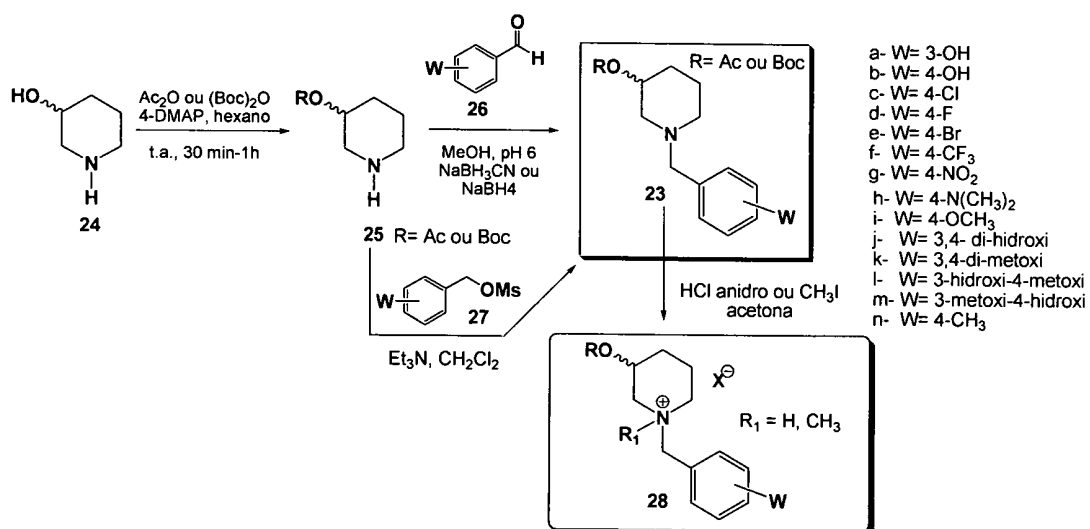


Figura 4

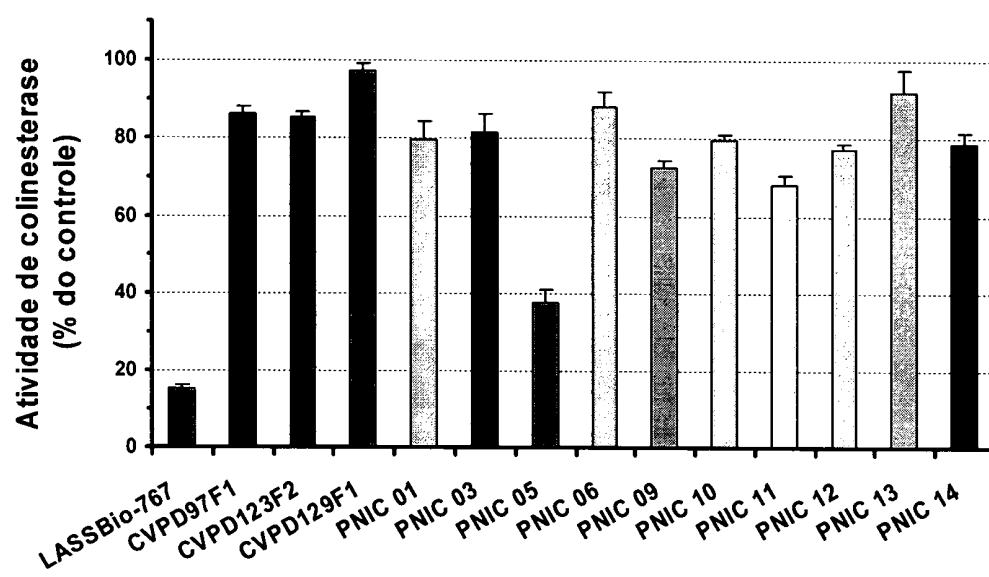


Figura 5

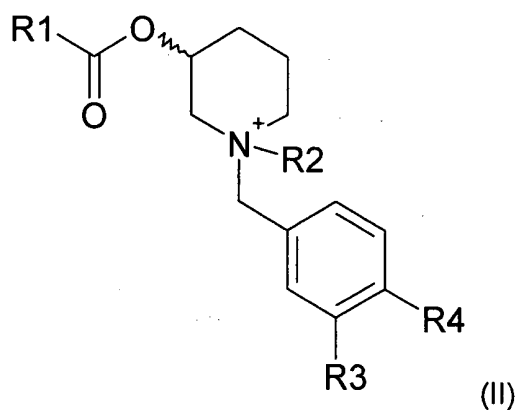
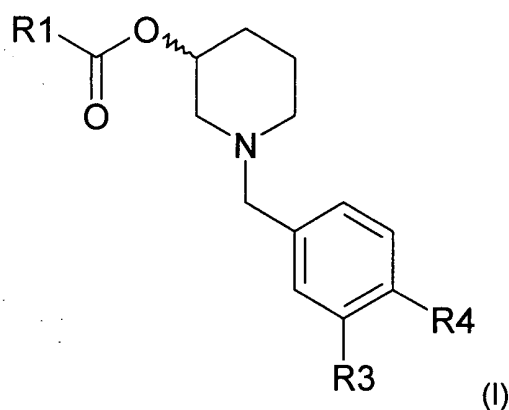
Resumo

DERIVADOS N-BENZIL-(-3-O-ACETIL)PIPERIDÍNICOS, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS, E PROCESSOS PARA SUA PREPARAÇÃO

5

A presente invenção proporciona derivados piperidínicos, em especial a derivados 3-O-acetil-piperidinil-N-benzil-subsituídos de fórmula geral (I) e/ou (II). Em especial, tais compostos apresentam atividade inibidora de acetilcolinesterase no sistema nervoso central em ensaios farmacológicos, podendo ser úteis no tratamento de doenças como a Doença de Alzheimer. Também são revelados: um processo para a preparação destes compostos; e composições farmacêuticas contendo os mesmos.

10



15