República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria, Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

BR102024011724A2

(21) BR 102024011724-7 A2

(22) Data do Depósito: 11/06/2024

(43) Data da Publicação Nacional: 16/12/2025

(54) Título: COMBINAÇÕES DE 8-HIDROXIQUINOLINAS-2,5,7-SUBSTITUÍDAS COM FÁRMACO PARA TRATAMENTO DE INFECÇÃO DO SISTEMA NERVOSO

(51) Int. Cl.: A61K 31/47; A61K 31/4196; A61P 31/10.

(52) CPC: A61K 31/47; A61K 31/4196; A61P 31/10.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL.

(72) Inventor(es): SAULO FERNANDES DE ANDRADE; THAIS HELENA MACIEL FERNANDES; MARILENE HENNING VAINSTEIN; LÍVIA KMETZSCH ROSA E SILVA; JOÃO GABRIEL FANTINEL EBERHARDT; JULIA CATARINA VIEIRA REUWSAAT; ANA PAULA PERIN.

(57) Resumo: COMBINAÇÕES DE 8-HIDROXIQUINOLINAS-2,5,7- SUBSTITUÍDAS COM FÁRMACO PARA TRATAMENTO DE INFECÇÃO DO SISTEMA NERVOSO. A presente invenção refere-se ao uso de derivados de 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas, em combinação com outros agentes antifúngicos no tratamento de infecções fúngicas, incluindo - mas não se limitando - a infecções causadas por fungos do tipo Cryptococcus spp., bem como composições farmacêuticas sinérgicas contendo os compostos em combinação com outros agentes antifúngicos, como o Fluconazol (especialmente, mas não exclusivamente). Esta invenção situa-se no campo da Química Farmacêutica e Medicinal e da Microbiologia Aplicada, no âmbito da identificação de novos compostos e combinações de antifúngicos sintéticos.

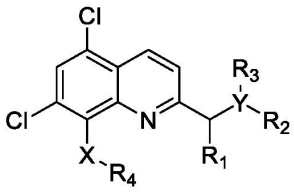


Figura 2

Relatório Descritivo de Patente de Invenção

COMBINAÇÕES DE 8-HIDROXIQUINOLINAS-2,5,7-SUBSTITUÍDAS COM FÁRMACO PARA TRATAMENTO DE INFECÇÃO DO SISTEMA NERVOSO

Campo da Invenção

[0001] A inovação contida no documento presente refere-se ao uso de derivados sintéticos de 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas em combinação com fármacos antifúngicos especialmente o fluconazol, formulações farmacêuticas contendo as referidas moléculas e ao uso das referidas composições para tratamento de infecções do sistema nervoso central, especialmente a criptococose, conforme observado em testes *in vitro.* As 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas obtidas sinteticamente possuem baixo peso molecular e o somatório de nitrogênios e oxigênios na estrutura igual ou menor a 5, características favoráveis as propriedades terapêuticas e farmacocinética desses compostos como potencial para penetração no SNC. Esta invenção enquadra-se na área de Química Farmacêutica e Medicinal e de Microbiologia Aplicada, especialmente na identificação de compostos antimicrobianos sintéticos.

Antecedentes da Invenção

[0002] A resistência antimicrobiana (AMR) é um fenômeno inerente à evolução dos microrganismos, devido a sua alta adaptabilidade, sendo um resultado de mutações e da transmissão de genes de resistência (CHERNOV, V. M. et al. Omics of antimicrobials and antimicrobial resistance. v. 14, n. 5, p. 455–468, 2019; WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO strategic priorities on antimicrobial resistance: preserving antimicrobials for today and tomorrow. World Health Organization, p. 1–12, 2021). Ainda que se trate de um fenômeno natural, os microrganismos vêm sofrendo um

aumento constante na pressão evolutiva resultante do uso indiscriminado de agentes antimicrobianos na clínica humana, veterinária e na agricultura. Associados, esses fatores resultam em um descontrole sanitário global de microrganismos, tendo como principal consequência infecções mais difíceis de serem tratadas, e por sua vez, mais custosas. Além disso, a contaminação ambiental resultante da falta de saneamento básico e da falta de políticas públicas para o manejo de resíduos industriais, agrícolas e hospitalares agravam ainda mais esta situação, devido ao consumo de alimentos, água e ar contaminados por micróbios multirresistentes, se fazendo necessária uma intervenção que combata simultaneamente as diferentes fontes geradoras de resistência microbiana (MCEWEN, S. A.; COLLIGNON, P. J. Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. Microbiology Spectrum, v. 6, n. 2, 2018; SAMREEN et al. Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health. Journal of Global Antimicrobial Resistance, v. 27, p. 101–111, 2021; WHO. No time to Wait: Securing the future from drug-resistant infections. 2019).

[0003] Os mecanismos de resistência, por serem uma resposta das espécies fúngicas à exposição excessiva a esses medicamentos (seja no tratamento clínico de humanos e animais, ou no uso de pesticidas) buscam anular os efeitos dos medicamentos antifúngicos, seja através do bombeamento do medicamento para fora da célula fúngica (no caso dos azólicos) ou da super expressão do alvo inibido pelo medicamento. Os mecanismos de resistência podem ser intrínsecos, quando uma determinada espécie não responde naturalmente a um tipo específico de tratamento, ou extrínsecos, quando a resistência emerge e é transmitida por genes de resistência (FISHER, M. C. et al. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. Science, v. 360, n. 6390, p. 739–742, 2018). Para tratar infecções graves causadas por fungos resistentes, tem sido adotada a estratégia de combinações sinérgicas de terapias disponíveis que devem serem sempre escolhidas com base em

investigação científica. A combinação aleatória de medicamentos pode agravar o problema da AMR, tornando essa investigação mais crucial.

[0004] Apenas em 2015, a OMS evidencia a crise de saúde pública global decorrente do aumento da AMR e publica o primeiro plano de ação global relacionado a resistência antimicrobiana, que estabelece alguns objetivos para conter o aumento da AMR, sendo eles: compreensão e monitoramento dos fatores envolvidos na AMR, melhoramento nas políticas de saneamento básico e higiene; a otimização do uso de antimicrobianos disponíveis e o investimento em novas terapias, diagnósticos, vacinas e demais intervenções em infecções microbianas (WHO. Antimicrobial resistance. Global report on surveillance. World Health Organization, v. 61, n. 3, p. 12–28, 2014).

[0005] Apesar de as infecções fúngicas fazerem parte do painel de doenças negligenciadas da OMS, elas apenas começaram a ser vistas como uma ameaça a saúde pública após o aumento nos casos de micoses invasivas em pacientes imunocomprometidos decorrente da pandemia de HIV nos anos 80 (ZAVALA, S.; BADDLEY, J. W. Cryptococcosis. Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine, v. 41, n. 1, p. 69–79, 2020). Em 2022, a OMS publicou o primeiro esforço global de priorização sistemática de patógenos fúngicos, onde as espécies fúngicas são divididas em categorias de prioridade crítica, alta e média, bem como propõe ações e estratégias para monitoramento da AMR fúngicas. Dentre as ações propostas, pode-se contar com o aumento de verba para pesquisa e desenvolvimento e inovação relacionadas a infecções fúngicas, uma vez que as infecções fúngicas recebem menos de 1,5% dos recursos disponíveis para doenças infecciosas (WHO releases first-ever list of health-threatening fungi - World, ReliefWeb 2022).

[0006] O arsenal terapêutico para o combate de infecções fúngicas, conta apenas com quatro classes de medicamentos: azólicos, equinocandinas, poliênicos e a flucitosina. Ademais, o diagnóstico preciso

dessas infecções é frequentemente desafiador, tornando a prescrição subjetiva caso não seja possível realizar a cultura do microrganismo em questão. Ainda que prescritos corretamente, os logos tempos de tratamento necessários para eliminar infecções fúngicas resultam na não adesão do paciente ao tratamento, fator que também contribui para o aumento da AMR, juntamente com os casos de automedicação, uma vez que no Brasil, os medicamentos antifúngicos tratam-se de medicamentos de venda livre (FISHER, M. C. et al. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. Science, v. 360, n. 6390, p. 739–742, 2018). Diante do exposto, o desenvolvimento de novas terapias antifúngicas se faz urgente para combater o aumento da AMR, bem como conter as espécies fúngicas categorizadas pela OMS como patógenos de prioridade crítica, como é o caso do *Cryptococcus. Neoformans,* um fungo saprófito abundante, que tem aumentado sua virulência com o passar do tempo (MAY, R. C. et al. Cryptococcus: from environmental saprophyte to global pathogen. Nature Reviews Microbiology 2015 14:2, v. 14, n. 2, p. 106–117, 2015).

[0007] Os fungos da espécie *Cryptococcus* são leveduriformes bastante características, pois além da proteção celular exercida pela parede fúngica, essa parede conta com uma camada de melanina integrada, que protege a célula fúngica de stress oxidativo. Além disso, as células de *Cryptococcus* possuem a habilidade de formar células de maior tamanho (células titânicas), de modo a evitar a fagocitose pelo hospedeiro, e também contam com o envelopamento da célula fúngica em uma capsula de polissacarídeos. Associados, esses fatores morfológicos contribuem para o aumento da virulência desse microrganismo e para prevalência destas infecções em pacientes imunossuprimidos e até mesmo um aumento dos casos em pacientes imunocompetentes (ALSPAUGH, J. A. Virulence mechanisms and Cryptococcus neoformans pathogenesis. Fungal Genetics and Biology, v. 78, p. 55–58, 2015).

[0008] As infecções de *Cryptococcus* em humanos tem início no trato respiratório, infectando posteriormente os pulmões, também podendo afetar o sistema nervoso central, causando Criptococose meningocócica, a forma grave da doença. Os principais sintomas dessas infecções variam de acordo com o tipo de infecção e da condição imune do paciente, podendo tratar-se de infecções assintomáticas a problemas na oxigenação para o caso das infecções pulmonares e dores de cabeça e edema cerebral para o caso da forma meningocócica. O diagnóstico se dá através da cultura de fluídos pulmonares ou cerebrospinal e a estimativa de novos casos ao ano é de aproximadamente 223 mil novos casos ao ano de criptococose meningocócica, dentre os quais 181 mil resultam em casos letais da doença (IYER, K. R. et al. Treatment strategies for cryptococcal infection: challenges, advances and future outlook, Nature Reviews Microbiology v. 19, p. 454–466, 2021).

[0009] Por se tratarem de fungos intrinsecamente resistente a classe das equinocandinas, e também devido a possibilidade de acometimento do SNC, o tratamento dessas infecções é um grande desafio. Um dos protocolos que pode ser utilizado para o tratamento da meningite criptocócica consiste em uma alta dose única de Anfotericina B lipossomal (que apresenta toxicidade reduzida nessa formulação) no dia 1, mais 14 dias de tratamento com flucitosina e fluconazol (JARVIS, J. N. et al. Single-Dose Liposomal Amphotericin B Treatment for Cryptococcal Meningitis. New England Journal of Medicine, v. 386, n. 12, p. 1109–1120, 2022). Este protocolo demonstra eficiência similar ao recomendado pela OMS em termos de mortalidade e com menor incidência de efeitos adversos. Porém mesmo com este protocolo otimizado foi registrado após 10 semanas cerca de 25% de mortalidade dos pacientes. Isso demonstra que a descoberta de novas terapias para o tratamento destas infecções é urgente. Nesta perspectiva, busca-se por compostos que possam ser administrados por via oral, de modo a aumentar a adesão dos pacientes ao tratamento, bem como o

acesso dessas terapias em países em desenvolvimento uma vez que a Anfotericina B lipossomal apresenta alto custo. Além disso, é imprescindível que esses compostos se mostrem capazes de transpassar a barreira hematoencefálica e apresentar biodisponibilidade no CNS (IYER, K. R. et al. Treatment strategies for cryptococcal infection: challenges, advances and future outlook, Nature Reviews Microbiology v. 19, p. 454–466, 2021). Uma classe de compostos que pode combinar estas características é a dos compostos derivados de 8-hidroxyquinolina (8HQ).

[0010] A classe das 8-hydroxiquinolinas (8HQ) tem sido revisitada pela comunidade científica, tendo como seu principal representante o Clioquinol (CQ), um potente antimicrobiano de baixo custo utilizado na década de 30. Esse medicamento teve seu uso oral descontinuado devido à efeitos adversos neuropáticos devido, possivelmente, a fatores como seu uso em altas doses e/ou características genéticas, entre outras hipóteses (CAHOON, L. The curious case of clioquinol. Nature medicine, v. 15, n. 4, p. 356–359, 2009). Décadas depois, a empresa Prana Biotechnology retoma os estudos com o CQ, reposicionando esse medicamento para o tratamento da doença de Alzheimer, considerando a capacidade do CQ em transpassar a BHE e do potencial quelante das 8HQ. Após realizar um estudo em ratos com DA e deposição de placas β-amilóides no cérebro e observar um decréscimo de 67% da deposição dessas placas após a administração de 12 semanas de CQ, a Prana Biotechnology desenvolveu um piloto de estudo clínico de Fase II, utilizando o CQ como composto atenuante de metal proteína e monitorando os níveis de vitamina B12 e folato dos pacientes, de modo a evitar os efeitos colaterais neurológicos. Os pacientes tratados com CQ tiveram uma redução de 24% nas concentrações de placas β-amilóides, enquanto no grupo controle, observou-se um aumento de 37% (ADLARD, P. A. et al. Rapid Restoration of Cognition in Alzheimer’s Transgenic Mice with 8-Hydroxy Quinoline Analogs Is Associated with Decreased Interstitial Aβ. Neuron, v. 59, n. 1, p. 43–55, 2008; LEI, P. et al. Clioquinol rescues

Parkinsonism and dementia phenotypes of the tau knockout mouse. Neurobiology of disease, v. 81, p. 168–175, 2015). Estes resultados motivaram o escalonamento do CQ para a continuidade dos estudos, entretanto um subproduto de custosa purificação observado no escalonamento levou a Prana Biotechnology a desenvolver um derivado de segunda geração da CQ: o **PBT2**, que já se mostrou mais potente e seguro que o **CQ** em um estudo clínico de Fase II e boa permeabilidade da BHE (LANNFELT, L. et al. Safety, efficacy, and biomarker findings of PBT2 in targeting Aβ as a modifying therapy for Alzheimer's disease: a phase IIa, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. The Lancet Neurology, v. 7, n. 9, p. 779–786, 2008; SUMMERS, K. L. et al. PBT2 acts through a different mechanism of action than other 8-hydroxyquinolines: an X-ray fluorescence imaging study. Metallomics, v. 12, p. 1979, 2020).

[0011] Estudos recentes do nosso grupo de pesquisa, reforçam o potencial da classe das 8HQ como potenciais agentes antifúngicos para diferentes espécies, como *Candida* spp, dermatófitos e fusarium (JOAQUIM, A. R. et al. Rapid tools to gain insights into the interaction dynamics of new 8-hydroxyquinolines with few fungal lines. Chemical biology & drug design, v. 93, n. 6, p. 1186–1196, 2019; JOAQUIM, A. R. et al. New 8-hydroxyquinoline derivatives highlight the potential of this class for treatment of fungal infections. New Journal of Chemistry, v. 45, n. 38, p. 18158–18170, 2021; PIPPI, B. et al. New insights into the mechanism of antifungal action of 8-hydroxyquinolines. Saudi Pharmaceutical Journal, v. 27, n. 1, p. 41–48, 2019; PIPPI, B. et al. Antifungal activity and toxicological parameters of 8-hydroxyquinoline-5-sulfonamides using alternative animal models. 2020; DA SILVA, N. M. et al. 8-Hydroxyquinoline 1,2,3-triazole derivatives with promising and selective antifungal activity. Medical Mycology, v. 59, n. 5, p. 431–440, 2021). Em termos de atividade antimicrobiana, já se pode encontrar registro de compostos derivados de 8HQ que apresentam atividade antiprotozoária e antibacteriana, também inseridas na invenção

BR102017014674-0. Os estudos já publicados relacionados a esse núcleo sugerem que a seletividade e o mecanismo de ação para diferentes micróbios tendem a ser moduladas de acordo com a natureza da substituição do núcleo 8HQ.

[0012] As patentes envolvendo o composto **PBT2** são majoritariamente relacionadas com seu uso no tratamento de doenças neurodegenerativas, sendo a primeira patente série publicada em 2002 (AU2002950217), e posteriormente registrada em mais de 10 países até 2007. O registro mais recente desta família de patentes ocorreu em 2015 (US20150335635), ainda para o tratamento de doenças neurodegenerativas. Recentemente em 2019, o uso do **PBT2** como ionóforo de Zn (II) foi registrado para o tratamento de infecções bacterianas multirresistentes (HARBISON-PRICE, N. et al. Multiple Bactericidal Mechanisms of the Zinc Ionophore PBT2. mSphere, v. 5, n. 2, 2020).

[0013] Outras citações do composto **PBT2** foram detectadas nas patentes WO2004007461A1 e US20240058288. A invenção descrita na patente WO2004007461A1 inclui o composto **PBT2,** dentre outras 8HQ, com relação ao uso humano e veterinário, para o tratamento de doenças neurodegenerativas, especialmente a doença de Alzheimer. Já as reivindicações descritas na patente US20240058288, cita-se o composto **PBT2** como um possível quelante de íons, compondo coquetéis contendo dois ou mais compostos de diferentes ou da mesma classe como sugestão de protocolo no tratamento da doença de Parkinson. Como observado, nenhuma dessas patentes abordam o uso do **PBT2** em combinações com outros fármacos antifúngicos, sequer para o tratamento de infecções fúngicas, como proposto na presente invenção.

[0014] Nesta perspectiva, considerando a segurança do composto **PBT2** já verificada pelo estudo clínico de Fase II e do potencial antifúngico das 8HQ, que vem sendo verificado pelo nosso grupo de pesquisa em diferentes estudos, bem como considerando a urgência da descoberta de novas

terapias antifúngicas para o tratamento de infecções fúngicas sinalizadas como prioridade crítica pela OMS, a presente invenção consiste no reposicionamento do PBT2 e derivados análogos a essa molécula em combinação com agentes antifúngicos, com destaque para o fluconazol, para o tratamento de infecções do SNC, em especial, por *Cryptococcus* spp.

Sumário da Invenção

[0015] Propõe-se o uso de fármacos antifúngicos em combinação com análogos de 8HQ substituídas nas posições 2, 5 e 7 do anel quinolínico, obtidos por variação dos substituintes nessa posição de modo a compreender a relação estrutura-atividade (REA) para potencializar a atividade das melhores combinações. Tais estudos resultaram em compostos com atividade anti-Criptocócica na faixa baixa de µg/mL ou µM.

[0016] Apesar do conhecido potencial antimicrobiano das 8HQ, o uso do **PBT2** para tratamento de infecções fúngicas relacionadas ao sistema nervoso central é inovador e inédito. Além disso, o reposicionamento do PBT2 no tratamento de infecções por *Cryptococcus* spp., se mostra bastante vantajoso, por se tratar de um composto que já se mostrou seguro em estudos clínicos de Fase II. Além disso, o **PBT2** e seus derivados mostram-se uma excelente alternativa tratamento para esse tipo de infecção considerando o aumento da resistência desses fungos as terapias existentes e a alta taxa de mortalidade atrelada a estas infecções. Ademais, para a forma meningocócica da doença este fármaco também se mostra um excelente candidato, uma vez que ele já se mostrou eficiente em transpassar a barreira hematoencefálica. Também, um caráter altamente inovador dessa invenção foi a demonstração de que o PBT2 e seu derivado foram altamente eficientes na redução das doses necessárias de fluconazol necessárias para eliminação do *C. neoformans* e *C. gatti* apresentando caráter altamente sinérgico e relevante já que o fluconazol é um fármaco de primeira escolha

para o tratamento da criptococose e a descoberta de moléculas que potencializem sua ação são altamente desejáveis.

Descrição das Figuras

[0017] **Figura 1 –** Exemplos de fórmulas estruturais dos compostos testados na invenção em questão para determinação de SAR e escolha de melhores derivados para combinações com agentes antifúngicos.

[0018] **Figura 2 –** Fórmula estrutural geral dos compostos 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas visando combinações efetivas contra agentes antifúngicos.

Descrição Detalhada da Invenção

[0019] A presente invenção compreende o uso do composto **PBT2** e seus análogos derivados de modificações na posição 2 do anel quinolínico em combinação com agentes antifúngicos, composições farmacêuticas contendo tais compostos e excipientes farmaceuticamente aceitáveis destas moléculas na terapia antifúngica especialmente relacionadas ao Sistema Nervoso Central. Estes compostos e as combinações apresentaram atividade antifúngica como observado em testes *in vitro* contra linhagens de células de *Cryptococcus*, apresentando potencial para desenvolvimento de novos tratamentos.

[0020] Com relação a obtenção e caracterização do **PBT2** e seus derivados, eles foram obtidos por adaptação de uma rota sintética previamente descrita na literatura e desta maneira a descrição da síntese dos compostos nos exemplos visa comprovar a obtenção dos compostos mas não é objeto de reinvindicação, sendo reinvidicada o uso farmacológico em combinação. A elucidação estrutural se deu através de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^{1}H e ^{13}C (400 MHz), utilizando clorofórmio deuterado ($CDCl_3$) como solvente e os deslocamentos químicos (σ) descritos em ppm com relação ao tetrametilsilano (TMS).

[0021] Os análogos **PBT2** e seus análogos para uso em combinação são representados pela fórmula estrutural geral (**Figura 2**) e os sais farmaceuticamente aceitáveis, solvatos e ou hidratos, em que contenham:

[0022] R_1 = hidrogênio, hidroxila, arila, heteroarila, cicloalquila, heterociclo, alquila ou alquileno;

[0023] X = oxigênio, enxofre, nitrogênio, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, -CH=CH-, alquileno, alquenileno, -C(=O)O-, -OC(=O)-, $-C(=O)NR^x-$ e/ou $-R^xNC(=O)-$, no qual R^x é independentemente hidrogênio, alquila, alquenila, arila, heteroarila, heterociclo, cicloalquila, hidroxila, -alquilaC(=O)- ou -C(=O)-alquila-;

[0024] Y = oxigênio, enxofre, nitrogênio, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, -CH=CH-, alquileno, alquenileno, -C(=O)O-, -OC(=O)-, $-C(=O)NR^x-$ e/ou $-R^xNC(=O)-$, no qual R^x é independentemente hidrogênio, alquila, alquenila, arila, heteroarila, heterociclo, cicloalquila, hidroxila, -alquilaC(=O)- ou -C(=O)-alquila-;

[0025] R_2, R_3, R_4 = hidrogênio, arila, heteroarila, cicloalquila, heterociclo, alquila, alquileno, heteroarila, heterociclo;

[0026] Por "Sais farmaceuticamente aceitáveis" entende-se compostos iônicos resultantes da modificação de uma substância não iônica original para produzir os correspondentes sais ácidos ou básicos, além da conjugação com aminoácidos. Estes sais incluem combinações de ácidos orgânicos ou minerais com resíduos básicos, como aminas, bem como a união de bases orgânicas ou alcalinas com resíduos ácidos, como ácidos carboxílicos. Além disso, os sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser derivados de ácidos inorgânicos, como cloridratos, bromidratos, iodidratos, sulfuratos, sulfamatos, fosforatos e nitratos, ou de ácidos orgânicos, como acetatos, 2-acetoxibenzoatos, ascorbatos, benzenosulfonatos, benzoatos, citratos, etanossulfonatos, etano dissulfonatos, formatos, fumaratos, gentisinatos, glicaronatos, gliconatos, glutamatos, glicolatos, hidroximaleatos, isotionatos, isonicotinatos, lactatos, maleatos, maiatos,

mesilatos, oxalatos, pamoatos, pantotenatos, fenilacetatos, propionatos, salicilatos, sulfanilatos, toluenosulfonatos, estearatos, succinatos, tartaratos e bitartaratos, incluindo também sais de amônio quaternário.

[0027] "Solvato" denota um complexo de composição variável formado por um soluto e um solvente. Estes solventes incluem, entre outros, água, metanol, etanol ou ácido acético, sem que interfiram na atividade biológica do soluto.

[0028] "Hidrato" refere-se a complexos nos quais a molécula de solvente é água.

[0029] "Alquila" descreve um hidrocarboneto com uma cadeia carbônica linear, ramificada ou cíclica, compreendendo grupos como metila, etila, 1-propila, 2-propila, 1-butila, 2-metil-1-propila (isobutila, -CH2CH(CH3)2), 2-butila (sec-butila, -CH(CH3)CH2CH3), 2-metil-2-propila (terc-butila, -C(CH3)3), 1-pentila, 2-pentila, 3-pentila, 2-metil-2-butila, 3-metil-2-butila, 3-metil-1-butila, 2-metil-1-butila, 1-hexila, 2-hexila, 3-hexila, 2-metil-2-pentila, 3-metil-2-pentila, 4-metil-2-pentila, 3-metil-3-pentila, 2-metil-3-pentila, 2,3-dimetil-2-butila ou 3,3-dimetil-2-butila. Alquila também pode ser um substituinte derivado de um hidrocarboneto divalente, como alquileno. Além disso, o alquila pode ser parcialmente insaturado, fornecendo alquenila ou alquinila.

[0030] "Alquileno" refere-se a um substituinte derivado de um hidrocarboneto saturado de 1-18 átomos de carbono, com uma cadeia carbônica linear, ramificada ou cíclica. O alquileno possui dois centros radicalares monovalentes resultantes da remoção de dois átomos de hidrogênio do mesmo átomo de carbono ou de átomos de carbono diferentes de um alcano parente. Alquileno típico inclui, entre outros, o metileno (-CH2-), 1,2-etileno (-CH2CH2-), 1,3-propileno (-CH2CH2CH2-) e 1,4-butileno (-CH2CH2CH2CH2-).

[0031] "Alquenileno" refere-se a um substituinte derivado de um hidrocarboneto insaturado de 1-18 átomos de carbono, com uma cadeia

carbônica linear, ramificada ou cíclica. O alquenileno possui dois centros radicalares monovalentes resultantes da remoção de dois átomos de hidrogênio do mesmo átomo de carbono ou de átomos de carbono diferentes de um alqueno parente. Um exemplo típico de alquenileno, entre outros, é o 1,2-etenileno (-CH=CH-).

[0032] O alquila, alquileno e alquenileno podem conter grupos intercalantes, tais como óxi (-O-), tio (-S-), imino (-N(H)-), metileno dióxi (-OCH2O-), metileno óxi (-OCH_2-), carbonila (-C(=O)-), carbóxi (-C(=O)O-), carbonildióxi (-OC(=O)O-), carboxilato (-OC(=O)-), imino (-C=NH-), sulfinila (SO) ou sulfonila (SO_2).

[0033] "Grupos Intercalantes" refere-se à inserção de um ou mais grupos entre átomos de carbono adjacentes ou entre um átomo de carbono de um grupo alquila e o átomo de carbono ao qual o alquila está ligado. Essa inserção resulta em uma substância estável na qual a valência de qualquer átomo não é excedida.

[0034] "Arila" denota um grupo carbocíclico aromático insaturado contendo de 6 a 20 átomos de carbono, formando um anel simples (como o fenila) ou anéis múltiplos fundidos, nos quais pelo menos um anel é aromático (como naftila, diidrofenantrenila, fluorenila ou antrila). O arila pode ser um substituinte divalente, nesse caso, chamado de arileno.

[0035] "Carbociclo" refere-se a um anel saturado, insaturado ou aromático contendo de 3 a 8 átomos de carbono quando monocíclico, de 7 a 12 átomos de carbono quando bicíclico e até cerca de 30 átomos de carbono quando policíclico. Exemplos de carbociclos incluem ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila, 1-ciclopent-1-enila, 1-ciclopent-2-enila, 1-ciclopent-3-enila, ciclohexila, 1-ciclohex-1-enila, 1-ciclohex-2-enila, 1-ciclohex-3-enila, fenila, espirila e naftila.

[0036] "Cicloalquila" refere-se a um grupo alquila cíclico contendo de 3 a 20 átomos de carbono. Pode ser um anel cíclico simples, como ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila e ciclooctila (não limitantes), ou anéis múltiplos

fundidos, como adamantanila (não limitante). O cicloalquila pode ser parcialmente insaturado, tornando-se um cicloalquenila. Além disso, o cicloalquila pode ser um substituinte divalente, resultando em um cicloalquileno.

[0037] O cicloalquila pode ser opcionalmente parcialmente insaturado, proporcionando assim um cicloalquenila. Além disso, o cicloalquila pode opcionalmente funcionar como um substituinte divalente, resultando em um cicloalquileno.

[0038] "Heteroarila" é definido como um sistema de um, dois ou três anéis aromáticos mono, bi ou policíclicos, contendo pelo menos um átomo de nitrogênio, oxigênio ou enxofre em um dos anéis aromáticos. O heteroarila pode opcionalmente ser um substituinte divalente, chamado de heteroarileno. Heteroarila engloba 2H-pirrolila, 3H-indolila, 4H-quinolizinila, 4nHcarbazolila, acridinila, benzo[b]tienila, benzotiazolila, β-carbolinila, carbazolila, cromenila, cinaolinila, dibenzo[b,d]furanila, furazanila, furila, imidazolila, imidizolila, indazolila, indolisinila, indolila, isobenzofuranila, isoindolila, isoquinolila, isotiazolila, isoxazolila, naftiridinila, oxazolila, fenantridinila, fenantrolinila, fenarsazinila, fenazinila, fenotiazinila, fenoxatiinila, fenoxazinila, ftalazinila, pteridinila, purinila, piranila, pirazinila, pirazolila, piridazinila, piridila, pirimidinila, pirrolila, quinazolinila, quinolila, quinoxalinila, tiadiazolila, tiantrenila, tiazolila, tienila, triazolila, tetrazolila e xantenila.

[0039] "Heterociclo" refere-se a um sistema anelar parcialmente insaturado ou saturado que contém pelo menos um átomo de oxigênio, nitrogênio ou enxofre. Os heterociclos podem ser monocíclicos, bicíclicos ou policíclicos, podendo também conter um grupo oxo (=O) ligado ao anel. Alguns exemplos de heterociclos incluem 1,3-diidrobenzofuranila, 1,3-dioxolanila, 1,4-dioxanila, 1,4-ditianila, 2H-piranila, 2-pirazolinila, 4H-piranila, cromanilila, imidazolidinila, imidazolinila, indolinila, isocromanila, isoindolinila, morfolinila, piperazinila, piperidinila, piperidila, pirazolidinila, pirazolinila,

pirrolidinila, pirrolinila, quinuclidinila e tiomorfolinila. Heterociclo e heteroarila incluem, entre outros, o pirrolila, imidazolila, pirazolila, piridinila, pirazinila, pirimidinila, piridazinila, indolizinila, isoindolila, indolila, indazolila, purinila, quinolizinila, isoquinolinila, quinolinila, ftalazinila, naftilpiridinila, quinoxalinila, quinazolinila, pteridinila, carbazolila, carbolinila, fenantridinila, acridinila, fenantrolinila, isotiazolila, fenazinila, isoxazolila, fenoxazinila, fenotiazinila, imidazolidinila, imidazolinila, piperidinila, piperazinila, indolinila, morfolinila e piperidinila, entre outros.

[0040] "Substituído" indica que um ou mais hidrogênios em um átomo foram substituídos por um grupo adequado, resultando em uma substância estável onde nenhum átomo excede sua valência. Alquila, alquileno, alquenileno, arila, cicloalquila, heteroarila e heterociclo podem ser substituídos por um ou mais alquila, alquenila, alcóxi, halo, haloalquila, hidróxi, hidroxialquila, arila, heteroarila, heterociclo, cicloalquila, alcanoila, alcoxicarbonila, amino, imino, alquilamino, acilamino, nitro, trifluormetila, trifluormetoxi, carbóxi, carboxialquila, ceto, tioxo, alquiltio, alquilsufinila, alquilsulfonila, ciano, acetamido, acetóxi, acetila, benzamido, benzenossulfinila, benzenossulfonamido, benzenossulfonila, benzenossulfonilamino, benzoila, benzoilamino, benzoilóxi, benzil, benzilóxi, benzila, benzilóxi, benziloxicarbonila, benziltio, carbamoila, carbamato, isocianato, sulfamoila, sulfinamoila, sulfino, sulfa, sulfoamino, tiossulfo, NRxRY e/ou COORx, onde cada Rx e RY são independentemente H, alquila, alquenila, arila, heteroarila, heterociclo, cicloalquila ou hidróxi. Quando o substituinte é um grupo oxo (=O) ou tioxo (=S), dois hidrogênios são substituídos.

[0041] "Alcóxi" refere-se a um grupo alquiloxi, como o metóxi, etóxi, n-propóxi, iso-propóxi, n-butóxi, tert-butóxi, sec-butóxi, n-pentóxi, n-hexóxi e 1,2-dimetilbutóxi, não limitando-se a estes, que também podem ser substituídos.

[0042] "Amino" refere-se a -NH2 e seus derivados substituídos.

[0043] "Alquilamino" refere-se a -NR2, onde pelo menos um R é um grupo alquila e o segundo R pode ser alquila ou hidrogênio.

[0044] "Acilamino" refere-se a N(R)C(=O)R, onde R é independentemente hidrogênio, alquila ou arila.

[0045] "Halo" refere-se a flúor, cloro, bromo.

[0046] Noutro contexto, as formulações farmacêuticas desta invenção são identificadas por conterem o composto **PBT2** ou seus análogos, combinados com fármacos antifúngicos, especialmente, o fluconazol e com excipientes farmacologicamente aceitáveis. Estas formulações podem apresentar-se sob formas líquidas, sólidas ou semissólidas. A administração destas formulações pode ocorrer através das vias intramuscular, intravenosa, subcutânea, tópica, oral, inalatória ou por meio de dispositivos implantáveis ou injetáveis.

[0047] As formas líquidas podem manifestar-se como soluções, xaropes, elixires, suspensões, emulsões, tinturas ou enemas. Como excipientes, solubilizantes e tensoativos, como glicerina, propilenoglicol e sacarose, podem ser empregados.

[0048] Por outro lado, as formas semissólidas podem assumir a forma de géis, pomadas, cremes, emulsões ou pastas. Exemplos de excipientes para formulações farmacêuticas semissólidas incluem metilcelulose, hidroxipropilcelulose, hidroxietilcelulose, carboximetilcelulose, polímeros derivados do ácido acrílico e metacrílico, polietilenoglicóis, vaselina sólida, parafina sólida, lanolina, óleos vegetais, óleo mineral, álcool cetílico, álcool esterílico, álcool cetoestearílico, monoestearato de glicerila, cera de ésteres cetílicos, cera autoemulsificante não iônica e aniônica, laurilsulfato de sódio, EDTA dissódico, solução conservante de parabenos, água destilada, cetilestearilsulfato de sódio, glicerina, oleato de decila e cloreto de benzalcônio.

[0049] Por fim, as formas sólidas podem apresentar-se na forma de cápsulas, comprimidos, drágeas ou pastilhas. A estes, podem ser

adicionados aglutinantes, desintegrantes, diluentes, lubrificantes e tensoativos, como celulose, lactose, amido, manitol, estearato de magnésio, talco, dióxido de silício coloidal, óxido de magnésio e caulim, como exemplos de excipientes para as preparações sólidas.

[0050] A obtenção dos derivados de 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas pode ser feita conforme os exemplos a seguir, sendo estes não limitantes ou exclusivos para a obtenção de tais derivados.

[0051] Exemplo 1. Síntese e caracterização dos compostos de 1 a 8

a) Síntese do 5,7-dicloro-8-hidroxiquinolina-2-carbaldeído intermediário

A uma solução de 5,7-dicloro-8-hidroxi-2-metilquinolina (100 mg, 0,44 mmols) em dioxano (5 mL) adicionou-se água (0.2 mL) e dióxido de selênio (63 mg, 0.57 mmols). A mistura foi mantida em refluxo durante a noite. A mistura reacional foi então filtrada em Celite®, lavada com diclorometano e concentrada em pressão reduzida. O bruto reacional foi purificado em coluna de cromatografia em silica gel, eluída em uma mistura de hexano/EtOAc (8:2), resultando em um solido amarelo brilhante em um rendimento de 52%. RMN de ^{1}H (400 MHz, CDCl3) δ (ppm): 10,25 (s, 1H), 8,68 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 8,37 (bs, 1H), 8,16 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,75 (s, 1H). RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl3): 191,8, 151,1, 148,2, 138,1, 135,4, 131,1, 126,9, 121,2, 118,7, 116,8.

b) Procedimento geral para a obtenção dos derivados 5,7-dicloro-8-hidroxiquinolina-2-amino substituídos

Em um tubo selado a 60 °C, adicionou-se 1,2-dichloroetano seco (2 mL), ácido acético glacial (35 µL, 0.62 mmols), a amina respectiva (0.62 mmols), o 5,7-dicloro-8-hidroxiquinolina-2-carbaldeído (100 mg, 0.41 mmol) e trietilamina (28 µL, 0.26 mmol). Após 2,5 h adicionou-se triacetoxiborohidreto de sódio (131 mg, 0.62 mmol) e manteve-se a mistura reacional durante a noite. Ao completar a reação, a mistura é diluída em 20mL de diclorometano, lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (15 mL x 2) e com

salmoura (15 mL x 1). As frações orgânicas foram secas com Na_2SO_4 anidro e concentradas a pressão reduzida.

c) 5,7-Dicloro-2-[(dimetilamino)metilquinolin-8-ol (1)

Eluida em diclorometano/metanol (9:1). Solido castanho, 23% de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, CDCl3): 8,42 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,64 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,54 (s, 1H), 3,80 (s, 2H), 2,34 (s, 6H). RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl3): 159,0, 147,9, 138,1, 133,9, 127,8, 124,1, 122,3, 120,4, 115,5, 65,5, 45,7.

d) 5,7-dicloro-2-(morfolinometil)quinolin-8-ol (2)

Eluida em diclorometano. Sólido marrom claro, 54 % de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, CDCl3): 8,44 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,73 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,55 (s, 1H), 3,88 (s, 2H), 3,76 (t, 4H, J = 4,6 Hz), 2,57 (t, 4H, J = 4,8Hz). RMN de ^{13}C (400 MHz, CDCl3): 147,6, 138,0, 134,0, 127,9, 124,1, 122,4, 120,6, 115,5, 66,8, 64,6, 53,8.

e) 5,7-dicloro-2-((4-metilpiperazin-1-il)metil)quinolin-8-ol (3)

Eluida em diclorometano/metanol (95:5), Sólido marrom 23% de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, CDCl3): 8,42 (bdd, 1H, J = 8,8 Hz, 2,4 Hz), 7,69 (bdd, 1H, J = 8,6 Hz, 2,2 Hz), 7,55 (bd, 1H, J = 2,4 Hz), 3,86 (s, 2H), 2,61-2,54 (m, 8H), 2,34 (s, 3H). ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl3): 158,9, 147,6, 138,0, 133,9, 127,8, 124,1, 122,5, 120,5, 115,4, 64,2, 54,9, 53,1, 45,8.

f) 5,7-dicloro-2-((dibutilamino)metil)quinolin-8-ol (4)

Eluida em diclorometano/metanol (99:1), óleo marrom, 21% de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, CDCl3): 8,39 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,75 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,51 (s, 1H), 3,88 (s, 2H), 2,49 (t, 4H, J = 7,4 Hz) 1,51-1,43 (m, 4H), 1,33-1,25 (m, 4H), 0,87 (t, 6H, J = 7,4 Hz), ^{13}C NMR (400 MHz, CDCl3): 161,3, 147,5, 137,8, 133,5, 127,5, 123,9, 122,5, 120,6, 115,1, 60,5, 54,3, 29,2, 20,6, 14,1.

g) 5,7-dicloro-2-(hidroximetil)quinolin-8-ol (5)

Eluido em hexano/acetato (1:1), Sólido preto, 16% de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, MeOD): 8,29 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,59-7,57 (m, 2H), 5,58 (bs,

1H), 4,68 (s, 2H), ^{13}C NMR (400 MHz, MeOD): 162,2, 149,1, 138,2, 133,7, 127,6, 124,3, 121,0, 119,6, 115,9, 64,5,

Procedimento geral para obtenção dos compostos 5,7-dichloro-8-hidroxiquinolina-2-iminomethyl substituídos

A uma solução do aldeído precursor (100 mg, 0,406 mmol) em etanol (3 mL) adicionou-se 5 gotas de ácido acético glacial e a respectiva benzhidrazida ou tiozemicarbazida (1,05 eq). A reação foi mantida sob refluxo por 4 h, resultando em um precipitado, que por fim, foi filtrado em funil de büchner e lavado com água destilada gelada.

h) (E)-N'-((5,7-dicloro-8-hidroxiquinolin-2-il)metileno)benzhidrazida (6)

Sólido amarelo, 70% de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO): 12,40 (bs, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,54 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 8,28 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 7,96 (d, 2h, J = 7,6 Hz), 7,83 (s, 1H), 7,65-7,54 (m, 3H). RMN de ^{13}C (400 MHz, DMSO): 164,2, 153,8, 149,7, 147,2, 139,2, 134,0, 133,5, 132,6, 129,1, 128,7, 128,4, 125,2, 119,6, 116,9.

i) (E)-2-((5,7-dicloro-8-hidroxiquinolin-2-il)metileno)hydrazina-1-carbothioamida (7)

Sólido esverdeado, 34% de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO): 12,0 (s, 1H), 8,61 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,52 (bs, 1H), 8,41-8,38 (m, 2H), 8,29 (s, 1H), 7,78 (s, 1H). RMN de ^{13}C (400 MHz, DMSO): 179,1, 154,0, 149,5, 141,4, 139,2, 133,2, 128,5, 125,0, 120,3, 119,6, 116,8.

j) Síntese do composto (E)-5,7-dicloro-2-((2-(4-feniltiazol-2-il)hidrazinilideno)metil) quinolin-8-ol (8)

A uma solução do composto **PH460** (40mg, 0,126mmol) em isopropanol (2mL) adicionou-se 2-bromoacetofenona. A reação foi mantida em refluxo por 4h, resultando em um precipitado, posteriormente filtrado em funil de büchner.

Sólido amarelo, 86% de rendimento. RMN de ^{1}H (400 MHz, DMSO): 8,50 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,30 (s, 1H), 8,15 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,88-7,85 (m, 2H), 7,77 (s, 1H), 7,44-7,40 (m, 3H), 7,33-7,29 (m, 1H). RMN de ^{13}C (400 MHz,

DMSO): 168,0, 153,7, 151,1, 149,4, 140,7, 139,1, 134,9, 133,8, 129,2, 128,3, 128,2, 126,0, 124,8, 119,7, 119,0, 116,8, 105,2.

[0052] Exemplo 2. Avaliação da atividade frente a Cryptococcus spp dos compostos 1 a 8

Os compostos de 1 a 8 foram submetidas a avaliação da atividade anti-*Cryptococcus* spp., utilizando-se os protocolos do EUCAST para microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (ARENDRUP, M. C. et al. EUCAST technical note on the EUCAST definitive document EDef 7.2: method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts EDef 7.2 (EUCAST-AFST). Clinical Microbiology and Infection, v. 18, p. E246-E247, 2012). Utilizou-se as cepas H99 e R265, para a determinação da CIM dos compostos na micoteca do Laboratório de fungos de Importância Médica e Biotecnológica do Centro de Biotecnologia – UFRGS. O inóculo fúngico foi preparado através da resuspensão de células, cultivadas em placa de cultura por 48 h a 30 ° C em YEPD (2% de glicose [p/v], 2% de peptona [p/v], 1% de extrato de levedura [p/v] e 1 ,5% ágar [p/v]). A suspensão foi ajustada à concentração de 5 x 10^5 células/mL. Os compostos sintetizados foram solubilizados em DMSO até uma solução de 8 mg/mL e diluídos em meio RMPI 2X (Gibco). Utilizou-se para os ensaios microplaca de 96 poços de fundo redondo e anfotericina B (Sigma Aldrich, A4888) como controle positivo para todos os ensaios. Após prosseguir com o protocolo CIM, as placas foram lidas a 530 nm em SpectraMax e incubadas a 30 °C por 48 h. Inspeção visual e leitura fotométrica a 530 nm foram feitas após o tempo de incubação. A CIM foi calculada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento de 90% e 50% para Anfotericina B e para os compostos, respectivamente. Todas as experiências foram realizadas em triplicata para cada cepa e replicata técnica para confirmar os valores de CIM obtidos.

[0053] **Tabela 1:** CIM para os compostos de 1 a 8.

Composto	CIM (µg/mL)	
	H99	R265
1	8	8
2	8	8
3	16	16
4	16	16
5	4	4
6	>32	>32
7	>32	>32
8	>128	>128

[0054] **Exemplo 3. Testes de combinação**

Para testar as combinações dos diferentes compostos, a metodologia de checkerboard foi utilizada, objetivando-se determinar a inibição do crescimento celular fúngico na presença de diferentes combinações dos agentes antifúngicos. Nessa metodologia, a CIM de cada composto é testada individualmente e em combinação, gerando 77 combinações diferentes. O protocolo do EUCAST descrito acima também foi utilizado para realização do checkerboard, conforme previamente descrito (BELLIO, P.; FAGNANI, L.; NAZZICONE, L. New and simplified method for drug combination studies by checkerboard assay Specifications Table. MethodsX, v. 8, p. 101543, 2021). Nesse ensaio, são preparadas soluções estoques dos compostos 4x e 8x mais concentradas do que a primeira concentração desejada, e duas diluições seriadas independentes são preparadas nas microplacas. Posteriormente, a suspensão celular dos microrganismos preparadas em água bidestilada estéril é dispensada nos poços, resultando no volume final de 200 µL. A absorbância é determinada a partir da OD_{530nm}, após 48 horas de crescimento a 35 °C. Os resultados foram expressos como CIM em µg/mL e o índice FIC (FICI: Concentração Inibitória Mínima

Fracionada) foi calculado conforme descrito acima. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas biológicas. s efeitos resultantes da combinação dos agentes antifúngicos são determinados observando-se os valores de CIM dos compostos isolados ou em combinação, através da determinação do Índice da Concentração Inibitória, calculado utilizando-se a equação (1)

Equação (1)

$$FICI = \left(\frac{CIM\ do\ composto\ A\ em\ combinação}{CIM\ do\ composto\ A}\right) + \left(\frac{CIM\ do\ composto\ B\ em\ combinação}{CIM\ do\ composto\ B}\right)$$

[0055] Valores de FICI menores ou iguais a 0,5 são interpretados como sinergismo, valores maiores que 4,0 como antagonismo e valores entre 1,0 e 4,0 como indiferentes. Os valores de FICI considerados limítrofe, maiores que 0,5 e menores que 1,0, são interpretados como aditismo (ODDS, F. C. et al. Synergy, antagonism, and what the chequerboard puts between them. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, v. 52, p. 1, 2003).

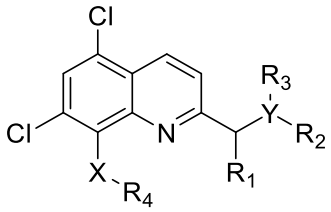
[0056] A **Tabela 2** apresenta os resultados da combinação dos derivados de **1** e **2** com fluconazol (representante da classe dos azólicos) para *C. neoformans* e *C. gattii*. Os valores de CIM para os compostos isolados e em combinação são expressos em µg/mL. O valor de FICI demonstra sinergismo para fluconazol e **1** tanto para *C. neoformans* quanto para *C. gattii*. Os valores de CIM individuais para fluconazol, **1** e **2** em *C. neoformans* foram 4 µg/mL, 8 µg/mL e 8 µg/mL, respectivamente. Os valores de CIM individuais para fluconazol, **1** e **2** em C. *gattii* foram 8 µg/mL, 8 µg/mL e 8 µg/mL, respectivamente. Para C. *neoformans*, há sinergismo quando utilizado 2 µg/mL de fluconazol e 0,06 µg/mL, 0,03 µg/mL ou 0,015 µg/mL de **1**; como também quando utilizado 1 µg/mL de fluconazol e 2 µg/mL ou 1 µg/mL de **1**. Para C. gattii, há sinergismo quando utilizado 4 µg/mL de fluconazol e 0,06 µg/mL, 0,03 µg/mL ou 0,015 µg/mL de **1**. Para a combinação de fluconazol e **2**, independente das concentrações testadas, há o efeito aditivo da combinação dos compostos em C. *neoformans* e C. *gattii*.

[0057] **Tabela 2:** Combinação dos compostos de **1** e **2** com fluconazol

Microrganismo	Antimicrobiano	CIM (µg/mL)	FICI	Efeito
***C. neoformans* H99**	Fluconazol	4	-	-
***C. neoformans* H99**	1	8	-	-
***C. neoformans* H99**	2	8	-	-
***C. neoformans* H99**	FLZ+2	2+4	1	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+2	2+2	0,75	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+2	2+1	0,62	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+2	1+4	0,75	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+2	0,5+4	0,62	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+4	1	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+2	0,75	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+1	0,62	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+0,5	0,56	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+0,25	0,53	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+0,125	0,51	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+0,06	0,50	**Sinergismo**
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+0,03	0,50	**Sinergismo**
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	2+0,015	0,50	**Sinergismo**
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	1+4	0,75	Aditivo
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	1+2	0,50	**Sinergismo**
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	1+1	0,37	**Sinergismo**
***C. neoformans* H99**	FLZ+1	0,5+4	0,62	Aditivo
***C. gattii* R265**	Fluconazol	8	-	-
***C. gattii* R265**	1	8	-	-
***C. gattii* R265**	2	8	-	-
***C. gattii* R265**	FLZ+2	4+4	1	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+2	4+2	0,75	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+2	4+1	0,62	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+2	4+0,5	0,56	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+2	2+4	0,75	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+2	1+4	0,62	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+2	0,5+4	0,56	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+1	4+0,5	0,56	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+1	4+0,25	0,53	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+1	4+0,125	0,51	Aditivo
***C. gattii* R265**	FLZ+1	4+0,06	0,50	**Sinergismo**
***C. gattii* R265**	FLZ+1	4+0,03	0,50	**Sinergismo**
***C. gattii* R265**	FLZ+1	4+0,015	0,50	**Sinergismo**
***C. gattii* R265**	FLZ+1	1+4	0,62	Aditivo

REIVINDICAÇÕES

1. Derivados de 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas para uso em combinações antifúngicas, especialmente com o fluconazol, **caracterizado por** conter a fórmula estrutural abaixo e seus sais farmaceuticamente aceitáveis, solvatos e/ou hidratos:



nos quais R_1 = hidrogênio, arila, heteroarila, cicloalquila, heterociclo, alquila ou alquileno;

nos quais X = oxigênio, enxofre, nitrogênio, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, -CH=CH-, alquileno, alquenileno, -C(=O)O-, -OC(=O)-, $-C(=O)NR^x-$ e/ou $-R^xNC(=O)-$, no qual R^x é independentemente hidrogênio, alquila, alquenila, arila, heteroarila, heterociclo, cicloalquila, hidroxila, -alquilaC(=O)- ou -C(=O)-alquila-;

nos quais Y = oxigênio, enxofre, nitrogênio, $-CH_2O-$, $-OCH_2-$, -CH=CH-, alquileno, alquenileno, -C(=O)O-, -OC(=O)-, -C(=O)NRx- e/ou $-R^xNC(=O)-$, no qual R^x é independentemente hidrogênio, alquila, alquenila, arila, heteroarila, heterociclo, cicloalquila, hidroxila, -alquilaC(=O)- ou -C(=O)-alquila-;

nos quais R_2, R_3, R_4 = hidrogênio, arila, heteroarila, cicloalquila, heterociclo, alquila ou alquileno.

2. Composição farmacêutica, de acordo com a reinvindicação 1, **caracterizado por** conter 8-hidroxiquinolina substituída na posição 2 (descritas na reivindicação 1), um agente antifúngico, especialmente o fluconazol, e ao menos um excipiente farmaceuticamente aceitável.

3. Composição farmacêutica, de acordo com as reivindicações 1 e 2, **caracterizado por** apresentação nas formas líquida, sólida ou semissólida.

4. Uso das 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas, de acordo com as reivindicações 1 a 3, **caracterizado por** ser utilizado no preparo de medicamentos antifúngicos em combinação sinérgica com outros antifúngicos, especialmente, o Fluconazol (mas não limitado a este agente), especialmente no tratamento de infecções por *Cryptococcus spp*.

5. Composição farmacêutica, de acordo com as reivindicações 1 a 4, **caracterizado por** o primeiro antifúngico e o segundo antifúngico serem administrados separadamente, simultaneamente ou sequencialmente.

6. Uso das composições farmacêuticas, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado por** ser para preparar um medicamento para ser utilizado de forma intramuscular, intravenosa, subcutânea, tópica, retal, intravaginal, oftálmica, nasal, oral, inalatória ou por dispositivos que possam ser implantados ou injetados.

FIGURAS

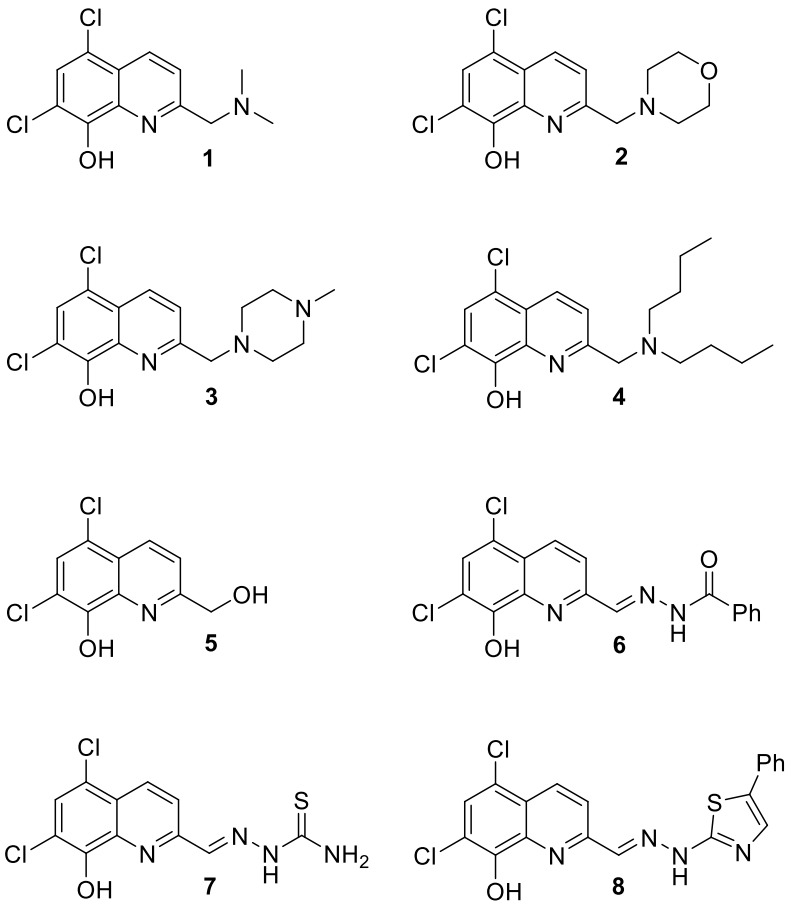


Figura 1

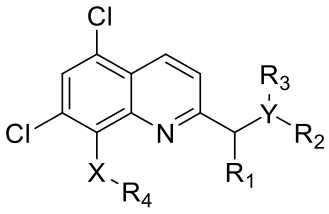


Figura 2

RESUMO

COMBINAÇÕES DE 8-HIDROXIQUINOLINAS-2,5,7-SUBSTITUÍDAS COM FÁRMACO PARA TRATAMENTO DE INFECÇÃO DO SISTEMA NERVOSO

A presente invenção refere-se ao uso de derivados de 8-hidroxiquinolinas-2,5,7-substituídas, em combinação com outros agentes antifúngicos no tratamento de infecções fúngicas, incluindo - mas não se limitando - a infecções causadas por fungos do tipo *Cryptococcus spp.*, bem como composições farmacêuticas sinérgicas contendo os compostos em combinação com outros agentes antifúngicos, como o Fluconazol (especialmente, mas não exclusivamente). Esta invenção situa-se no campo da Química Farmacêutica e Medicinal e da Microbiologia Aplicada, no âmbito da identificação de novos compostos e combinações de antifúngicos sintéticos.