SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE QUINAZOLINAS E QUINAZOLINONAS FRENTE A MARCADORES DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Palavras-Chave: Alzheimer, Quinazolinas, Quinazolinonas, Acetilcolinesterase.

Autores(as):

MARINA ASSIS E SILVA, FCF – UNICAMP

Prof. Dr. RICARDO PEREIRA RODRIGUES (coorientador), FCF – UNICAMP

Profª. Drª. WANDA PEREIRA ALMEIDA (orientadora), FCF - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A Doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa progressiva que acomete principalmente idosos e se manifesta por deterioração cognitiva, perda de memória e demência [1]. A hipótese colinérgica, proposta em 1982, postula que a deficiência na neurotransmissão colinérgica, especialmente a redução nos níveis de acetilcolina, desempenha papel central na fisiopatologia da doença [2]. A enzima acetilcolinesterase (AChE), além de catalisar a degradação desse neurotransmissor, também contribui para a formação de placas amiloides, estruturas neurotóxicas associadas à progressão da DA [3].

Embora fármacos como Donepezila (Aricept®) e Rivastigmina (Exelon®) atuem como inibidores da AChE, seus efeitos terapêuticos permanecem limitados, o que reforça a necessidade de inibidores mais eficazes [4].

Nesse contexto, a combinação de estratégias sintéticas e computacionais tem se mostrado promissora na identificação de novas entidades bioativas. A escolha de derivados de quinazolina e quinazolinona se fundamenta na presença de anéis nitrogenados com potencial para formar interações específicas com o sítio ativo da AChE. Para racionalizar a seleção de candidatos, foram analisadas estruturas bioativas disponíveis nos bancos Protein Data Bank (PDB) e ChEMBL, com foco em padrões farmacofóricos relevantes e interações como ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo e cátion-π com resíduos catalíticos (Ser, His, Glu) e periféricos (Tyr, Trp) da enzima [5], incluindo também a análise de propriedades antioxidantes.

METODOLOGIA:

Foram analisadas estruturas bioativas obtidas de bancos de dados como Protein Data Bank (PDB) e ChEMBL, com foco em identificar padrões farmacofóricos e interações chave no sítio ativo da AChE. A enzima possui uma tríade catalítica (Ser, His, Glu) e uma região periférica (Tyr, Trp), que participam de interações hidrogênio, dipolo-dipolo e cátion-π com grupos funcionais das moléculas inibidoras [4] [5].

Preparo dos Ligantes

Com base nessas análises, foram selecionadas quinazolinas e quinazolinonas pela presença de anéis nitrogenados e potencial de interação com o sítio ativo da enzima. Dez estruturas promissoras tendo quinazolinas como scaffold foram propostas e fornecidas pela mestranda Camila Cavalleiro (do Laboratório de Pesquisas em Fármacos e Medicamentos, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unicamp). As estruturas químicas foram desenhadas em 2D no software Marvin Sketch e salvas no formato .mol. Em seguida, foram convertidas para conformações tridimensionais e minimizadas com o software Avogadro, utilizando o campo de força MMFF94. As estruturas otimizadas foram então salvas em formato .mol2 para posterior preparação no AutoDock Tools.

Prepararo da proteína e do ligante de referência

O modelo cristalográfico utilizado como base para os estudos de docking foi obtido a partir da combinação de dois registros do PDB: 7E3H (AChE complexada com donepezila) e 7XN1 (complexada com tacrina), sendo consolidado no arquivo 7e3h_ref_7xn1.pdb. A proteína foi preparada no software AutoDock Tools (ADT), removendo-se todos os ligantes, cofatores e moléculas de água, mantendo-se apenas a cadeia proteica. Hidrogênios do tipo polar foram adicionados, e as cargas parciais foram atribuídas utilizando o método de Kollman. O ligante de referência (donepezila), presente no complexo original, foi extraído, tratado separadamente, protonado, e teve suas cargas calculadas com o método de Gasteiger. Todos os arquivos foram salvos no formato .pdbqt para uso no AutoDock Vina.

Os estudos de docking molecular foram realizados no AutoDock Vina [6], com o objetivo de prever os modos de ligação e a afinidade dos compostos candidatos em relação ao sítio catalítico da AChE. A donepezila foi utilizada como referência comparativa.

As moléculas foram submetidas a estudos de docking molecular com o programa AutoDock Vina [6], visando prever modos de ligação e afinidade dos compostos candidatos em relação ao sítio catalítico da AChE. A donepezila foi utilizada para a validação do modelo e como referência comparativa. As melhores poses, com encaixe otimizado entre grupos farmacofóricos e resíduos da enzima, orientaram a seleção de candidatos para síntese, que será conduzida por reações de condensação entre cloroquinazolinas e aminas substituídas ou aldeídos aromáticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Dentre as moléculas propostas, nomeadas com o código CFR e numeradas de 001 a 010, três apresentaram resultados satisfatórios nos estudos de docking, estabelecendo principalmente ligações do tipo iônica e ligações de hidrogênio entre os heteroátomos da estrutura com os resíduos dos aminoácidos da região do sítio. Para a avaliação destas interações, consideraram-se as ligações iônicas, de hidrogênio e dipolo-dipolo com distâncias até 4 Ångströms (Å), e as ligações cátion-π até 5 Å.

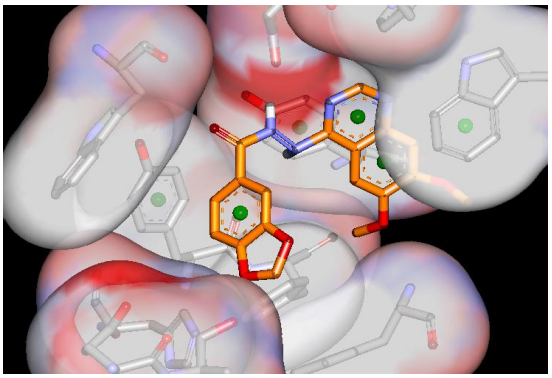

Figura 1 - CFR005 (em laranja) no sítio ativo da enzima. Em azul, átomos de nitrogênio e em vermelho, átomos de oxigênio.

A molécula que apresentou melhor resultado nos estudos de docking foi a CFR005, obtida através de reação entre 4-cloro-6,7-dimetoxiquinazolina 3,4-metilenedioxibenzidrazida. A pose selecionada apresentou interações do tipo empilhamento-π entre os anéis aromáticos da molécula e dos resíduos de aminoácidos Trp286 e Tyr341. Também foram identificadas interações de hidrogênio com os resíduos de Tyr124 e Tyr341 e interações iônicas estabelecidas entre resíduos de Phe295 e His447, na região da tríade catalítica do sítio. Apesar de não ter sido estabelecida interação com resíduos de Ácido Glutâmico (Glu), foi possível observar interação de hidrogênio com um resíduo de Asp74 adjacente ao sítio ativo.

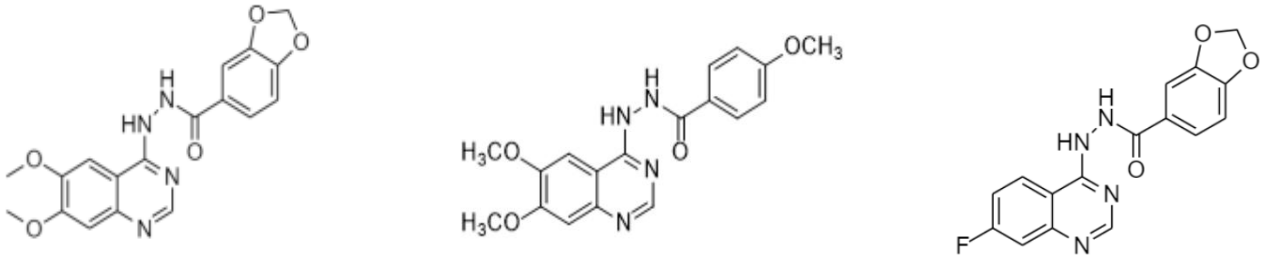

Figura 2 – Estruturas lineares das três moléculas selecionadas: CFR005 (à esquerda), CFR003 (ao meio) e CFR006 (à direita).

A molécula nomeada CFR003, obtida a partir dos reagentes 4-cloro-6,7-dimetoxiquinazolina e 4-Metoxibenzidrazida, também apresentou interações do tipo empilhamento-π com resíduos de Trp286 e Tyr341, interações de hidrogênio com resíduos de Tyr341, somadas às interações iônicas entre os átomos de oxigênio e resíduos de Phe295 e His477. De forma análoga às interações estabelecidas entre o composto CFR005 e a enzima, houve ausência de interação com Glu, mas presença de interação de hidrogênio com resíduo de Asp74.

A molécula nomeada CFR006, resultado da reação entre 4-cloro-6,7-dimetoxiquinazolina e 3,4-metilenedioxibenzidrazida apresentou interações aromáticas de empilhamento-π com resíduos de

Trp286 e Tyr337, além de interações do tipo iônica com a cadeia do resíduo de Phe295. Também foram observadas interações iônicas entre resíduos de Tyr341 e Tyr124, bem como uma ligação de hidrogênio com o resíduo de Asp74, reforçando o potencial de ligação estável ao sítio ativo da enzima.

CONCLUSÕES:

Com as análises das moléculas propostas, foi possível observar interações relevantes entre os aminoácidos que compõem o sítio ativo da enzima acetilcolinesterase, de forma semelhante àquelas estabelecidas por fármacos atualmente utilizados no tratamento da Doença de Alzheimer. Os compostos CFR005, CFR005 e CFR006 apresentaram resultados expressivos nos estudos de docking molecular, indicando seu potencial de inibição da atividade da AChE.

Dessa forma, os dados obtidos demonstram que as quinazolinas e quinazolinonas propostas constituem candidatos promissores para etapas subsequentes de desenvolvimento, incluindo testes de inibição da enzima acetilcolinesterase e de seu perfil antioxidante. O trabalho contribui para o avanço na identificação de novas moléculas com potencial terapêutico para doenças neurodegenerativas, em especial a Doença de Alzheimer.

BIBLIOGRAFIA

[1] KATZMAN, R. The Prevalence and Malignancy of Alzheimer Disease: A Major Killer. **Archives of Neurology**, v. 33, n. 4, p. 217–218, 1 abr. 1976

[2] BARTUS, R. et al. **The Cholinergic Hypothesis of Geriatric Memory Dysfunction.** Science, v. 217, n. 4558, p. 408–414, 30 jul. 1982.

[3] JANUS, C.; WESTAWAY, D. Transgenic mouse models of Alzheimer's disease. **Physiology & Behavior**, v. 73, n. 5, p. 873–886, ago. 2001.

[4] KRYGER, G.; SILMAN, I.; SUSSMAN, J. L. Structure of acetylcholinesterase complexed with E2020 (Aricept®): implications for the design of new anti-Alzheimer drugs. **Structure**, Rehovot, mar. 1999

[5] SUGIMOTO, H. et al. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Acetylcholinesterase Inhibitors: 1-Benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-oxoindan-2-yl)methyl]piperidine Hydrochloride and Related Compounds. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, n. 24, p. 4821–4829, nov. 1995.

[6] EBERHARDT, J. et al. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 61, n. 8, 19 jul. 2021