

Síntese e avaliação de derivados heterocíclicos de chalconas, via reação de aza-Michael

Palavras-Chave: chalcona, reação de Aza Michael, docking

Autores(as):

Karin Lucchesi Oliveira, FCF – UNICAMP

Prof. Dr. Ricardo Pereira Rodrigues (coorientador), FCF – UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). Wanda Pereira Almeida, FCF - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Chalconas possuem uma estrutura 1,3-difenil-2-propen-1-ona, e são configuradas como uma cetona aromática com sistema de carbonila α , β insaturado que une dois anéis aromáticos. Elas podem ser obtidas de forma sintética a partir de uma reação de condensação de Claisen-Schmidt (YERRAGUNTA et al., 2013). As chalconas e seus derivados apresentam grande interesse dentro das pesquisas na área da saúde devido a sua ampla diversidade de ações farmacológicas, justificadas pelas modificações ocasionadas em sua estrutura por meio da adição de diferentes substituintes nos anéis aromáticos (CARVALHO, 2021). Dentre essas propriedades, vale ressaltar a atividade anticolinesterásica no desenvolvimento de fármacos para o tratamento da doença de Alzheimer (DA).

A DA é uma patologia neurodegenerativa que apresenta manifestações cognitivas e neuropsiquiátricas resultando em uma deficiência progressiva, causando deficiência de memória recente e deterioração de funções cognitivas do indivíduo (SERENIKI; VITAL, 2008). Ao longo dos anos foram formuladas três hipóteses para explicar a ocorrência da patologia. Dentre elas, tem-se a hipótese colinérgica, que associa a perda funcional de neurônios colinérgicos ao déficit cognitivo e perda de memória, defendendo que a redução da acetilcolina sintetizada no cérebro é a causa primária do declínio cognitivo associado ao Alzheimer (BARTUS et al., 1982).

Sabe-se que a acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima presente no sistema nervoso central, responsável pelo término da neurotransmissão mediada por acetilcolina (ACh), e, assim, como principal alternativa terapêutica para a doença de Alzheimer (NETTO et al., 2023), tem-se os inibidores da acetilcolinesterase, tais como donepezila, galantamina e rivastigmina (CHEN; HUANG; HONG, 2022).

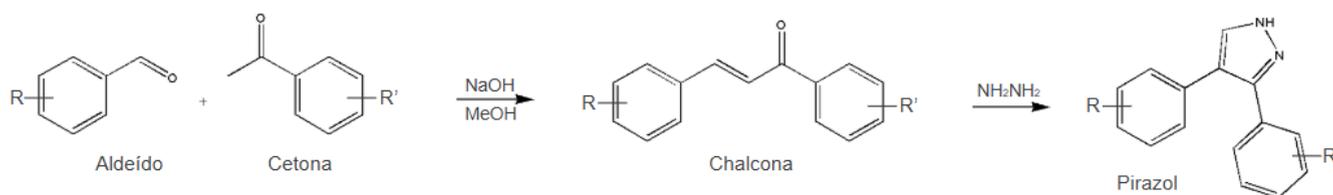
Considerando o potencial terapêutico das chalconas na inibição da acetilcolinesterase e a necessidade de identificar novas moléculas bioativas contra a DA, o docking molecular é uma ferramenta essencial não apenas para prever a afinidade de ligação dos compostos ao alvo, mas também revelar resíduos de aminoácidos críticos nas interações, tipos de ligação e ajustes

conformacionais que podem aumentar a estabilidade do complexo ligante-receptor (RISWANTO et al., 2017; SINGH et al., 2024). Fornecendo dessa forma, informações decisivas para o desenvolvimento racional de novos candidatos a fármacos voltadas ao tratamento da Doença de Alzheimer, tornando o processo mais eficiente e direcionado (TUĞRAK-SAKARYA et al., 2025).

METODOLOGIA:

1. Síntese das chalconas e adição de Aza Michael

As chalconas foram obtidas pela condensação de Claisen-Schmidt (CLAISEN, 1881) entre um aldeído aromático e uma aril-metilcetona, contendo substituintes com diferentes características eletrônicas, e, em seguida, foram submetidas à reação de adição 1,4 (reação de Michael) com diferentes nucleófilos nitrogenados (SHALABY; RIZK; FAHIM, 2023), principalmente hidrazinas com diferentes padrões de substituição (Esquema 1). Os compostos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho (IV) e por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono (RMN ^{13}C).



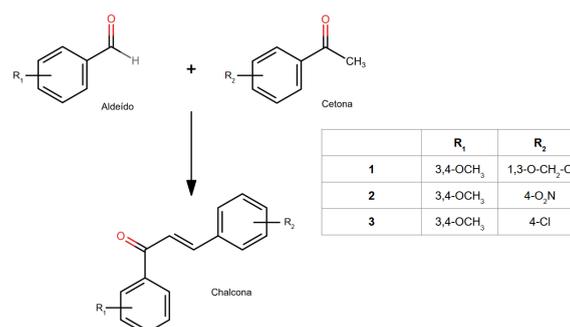
Esquema 1: Reação de condensação de Claisen-Schmidt, seguida de adição de Michael (1,4).

2. Docking Molecular

O método de docking molecular foi utilizado para prever a interação entre os compostos sintetizados e a enzima acetilcolinesterase (AChE). Inicialmente, foi realizada uma busca no *Protein Data Bank* (PDB) por complexos cristalográficos contendo a estrutura da AChE complexada com a donepezila, inibidor de interesse. Posteriormente, essa estrutura foi analisada no *Discovery Studio*, com intuito de identificar as principais interações moleculares envolvidas no reconhecimento pelo alvo biológico. Em seguida, para definir os parâmetros do docking (grid box, exhaustiveness e RMSD) utilizou-se o *AutoDock Tools* e para os cálculos utilizou-se o *AutoDock Vina*. Nesse estudo foi realizado o processo de docking, com o objetivo de prever como os ligantes escolhidos iriam interagir com a enzima de modo a identificar as melhores poses de ligação e suas respectivas afinidades.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A síntese das chalconas foi realizada com o objetivo de obter compostos potencialmente bioativos, assim, foram realizadas cinco sínteses com aldeídos com diferentes substituintes. O Esquema 2 ao lado mostra a rota sintética das três reações que resultaram na formação do produto



Esquema 2. Chalconas obtidas a partir da síntese de Claisen Schmidt.

desejado, que cristalizou ao final da reação, permitindo sua purificação e caracterização. As outras duas sínteses não resultaram na cristalização do produto, o que pode estar relacionado à alta solubilidade do aldeído utilizado no solvente da reação. Os três compostos foram caracterizados por RMN para confirmação estrutural. O espectro de RMN ^1H da Chalcona 1 (Figura 1) apresenta deslocamentos químicos e bandas características. A identificação dos hidrogênios vinílicos, aromáticos e funcionais, juntamente com as integrais e acoplamentos, fornece forte evidência da presença e posição desses grupos na estrutura, confirmando a estrutura esperada.

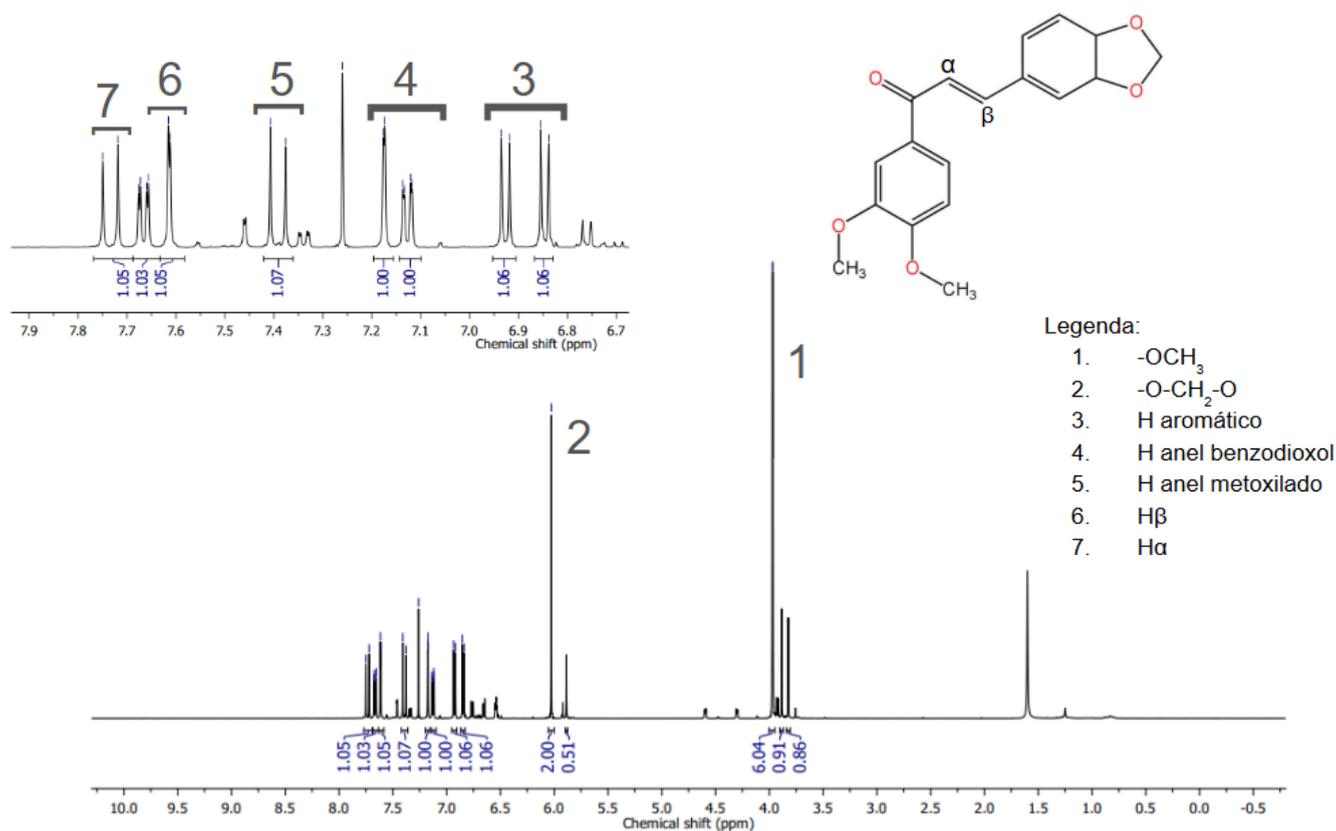


Figura 1: Espectro de RMN ^1H da Chalcona 1.

Após a análise das três chalconas iniciais, deu-se início a segunda etapa de síntese, adição de Michael de derivados nitrogenados às chalconas. Inicialmente foi feita a reação entre a chalcona 1 e a hidrazina (NH_2NH_2). O produto dessa reação foi monitorado por cromatografia em camada delgada apresentando resultado promissor. Entretanto, a caracterização estrutural por RMN encontra-se em análise até o presente momento.

Concomitante com as sínteses, iniciou-se o estudo do docking molecular. Primeiro, foi feita uma busca no PDB por complexos cristalográficos da AChE ligados à donepezila, inibidor modelo de referência. Em seguida, os sítios de ligação foram analisados no *Discovery Studio* e foram gerados mapas 3D das principais interações moleculares, em que foi possível verificar quais padrões de ligações observados na Donepezila foram mantidas nas chalconas, fornecendo informações preliminares sobre a interação desses compostos com a enzima.

Na segunda etapa do processo, utilizou-se o *AutoDock Tools* para preparação das estruturas e definição do “*grid box*”, região onde o docking foi realizado, e o *AutoDock Vina*, programa onde foram feitos os cálculos de docking. Para desenvolvimento do modelo de docking, foram realizadas 20 corridas de redocking, com o objetivo de otimizar os parâmetros utilizados (*grid box*, *exhaustiveness* e *RMSD*) para obter o melhor desempenho.

Realizou-se então o docking molecular das chalconas sintetizadas, com os resultados evidenciados na Tabela 1. A Donepezila, utilizada como controle, apresentou uma afinidade de -12,03 kcal/mol, enquanto as chalconas sintetizadas exibiram valores próximos, sugerindo que essas moléculas podem interagir com a AChE. Destaca-se que a Chalcona 02 apresentou uma afinidade de -12,13 kcal/mol, semelhante à do controle, sugerindo uma interação adequada com o alvo biológico. A Chalcona 01 também apresentou um valor expressivo (-11,85 kcal/mol), enquanto a Chalcona 03 e 04, embora com menor afinidade (-10,58 kcal/mol e -9,58 kcal/mol), ainda demonstram potencial de interação.

Tabela 1: Afinidade do Redocking e das Chalconas em cada Pose.

	REDOCKING	CHALCONA 1	CHALCONA 2	CHALCONA 3	CHALCONA 4
Pose	Afinidade	Afinidade	Afinidade	Afinidade	Afinidade
1	-12,03	-11,85	-12,13	-10,58	-9,575
2	-12,02	-11,81	-12,1	-10,56	-9,424
3	-11,8	-11,66	-12,05	-10,45	-9,329
4	-11,66	-10,82	-11,88	-10,42	-8,611
5	-11,64	-10,5	-11,54	-10,03	-8,078
6	-11,46	-10,41	-10,49	-9,668	-8,004
7	-11,41	-10,19	-10,48	-9,596	-7,876
8	-10,95	-9,296	-10,17	-9,431	-7,616
9	-10,86	-9,256	-9,97	-8,782	-7,612
10	-10,78	-8,791	-9,813	-8,722	-7,549

CONCLUSÕES:

A partir do estudo realizado neste projeto, confirmamos que o docking molecular é um poderoso apoio às etapas de síntese, sobretudo na sua otimização. Também permite comparar moléculas já conhecidas com novas estruturas em termos de poses e interações-chaves dentro do sítio enzimático, auxiliando na obtenção de sua conformação bioativa.

Comparando o redocking da donepezila com o docking de cada uma das chalconas, foi constatado que houve perda de uma interação importante. A donepezila faz interação com três aminoácidos (Trp 86, Trp 286 e Phe 295) no sítio da acetilcolinesterase os quais estão associados ao efeito terapêutico do fármaco. Já as chalconas possuem um padrão de interação com Trp 286 e Phe 295. Porém mesmo com a perda da interação com o Trp 86, foi possível analisar pelo docking que os compostos apresentam valores promissores de afinidade. Além disso, também foi possível identificar

novos resíduos de aminoácidos potencialmente relevantes para futuras interações, os quais ainda serão analisadas com maior profundidade.

Em relação às sínteses, será aplicada às chalconas a reação de Michael com hidrazinas possuindo diferentes substituintes a fim de ampliar a biblioteca de compostos. Também será analisada a possibilidade de alterar o substituinte da cetona na reação de Claisen Schmidt com intuito de retomar a interação com o aminoácido que foi perdida.

BIBLIOGRAFIA

YERRAGUNTA, Vishwanadham; KUMARASWAMY, T.; SUMAN, D.; ANUSHA, V.; PATIL, Prathima; SAMHITHA, T. A review on Chalcones and its importance. *PharmaTutor Magazine*, Surat, v. 1, p. 54-59, 2013.

CARVALHO, Danielle Soares. Estudo de chalconas e sua utilização em protetores solares. 2021. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Instituto de Química, Universidade de Brasília, 2021.

SERENIKI, Adriana; VITAL, Maria Aparecida Barbato Frazão. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, Porto Alegre, v. 30, 2008.

CHEN, Zhi-Ru; HUANG, Jia-Bao; YANG, Shu-Long; HONG, Fen-Fang. Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*, Basel, v. 27, p. 1816, 2022.

BARTUS, R. T.; DEAN, R. L. 3rd; BEER, B.; LIPPA, A. S. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, Washington, v. 217, p. 408–414, 1982.

NETTO, Felício de Freitas; SANTOS, Amanda Aparecida; GESSER, Gilvania Talita; PERRETO, Leonardo; PIRONATTO, Miguel Lopes de Moraes; ANDREASSA, Pollyana Selestrino; BATISTA, Tarik Yussef. A neuroinflamação da Doença de Alzheimer e sua correlação anatômica. *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, v. 6, n. 1, p. 1678–1694, jan. 2023.

RISWANTO, Florentinus Dika Octa; HARIONO, Maywan; YULIANI, Sri Hartati; ISTYASTONO, Enade Perdana. Computer-aided design of chalcone derivatives as lead compounds targeting acetylcholinesterase. *Indonesian Journal of Pharmacy*, [S.l.], v. 28, p. 100–111, 2017.

SINGH, Abhay; KUMAR, Arvind; MISHRA, Shashank Kumar; SHARMA, Vipin. Computational Design of Chalcone Derivatives as Potent Inhibitors of Acetylcholinesterase. *ACS Omega*, [S.l.], v. 9, p. 13769–13782, 2024.

TUĞRAK-SAKARYA, Mehtap; GUL, Halise Inci; SERT, Yusuf; AKINCIOĞLU, Hulya; GULÇIN, İlhami; GUL, Mustafa. Molecular docking studies and biological activities of chalcones targeting acetylcholinesterase and carbonic anhydrase isoenzymes. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi – KSU Journal of Agriculture and Nature*, Kahramanmaraş, v. 28, p. 335–350, 2025.

CLAISEN, Ludwig. Condensationen von Ketonen mit Aldehyden. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, [S.l.], v. 14, p. 2460–2463, 1881.

SHALABY, Mona A.; RIZK, Sameh A.; FAHIM, Asmaa M. Synthesis, reactions and application of chalcones: a systematic review. *Organic & Biomolecular Chemistry*, [S.l.], v. 21, p. 5317–5346, 2023.