

LDT161: Inibidor AChE/BuChE Planejado a Partir do Cardanol, Candidato ao Tratamento da Doença de Alzheimer

Laís F. N. Lemes^{1,2} (PG), Giselle A. Ramos³ (PG), Andressa S. Oliveira³ (PG), Fernanda M. R. Silva⁴ (PG), Manuela Bartolini⁵ (PG), Ondrej Soukup⁶ (PQ), Nelilma C. Romeiro⁷ (PQ), Newton G. Castro⁴ (PQ), Maria L. Bolognesi⁵ (PQ), Paul Fraser⁸ (PQ), Luiz A. S. Romeiro^{1,3*} (PQ), luizromeiro@unb.br

¹Laboratório de Desenvolvimento de Estratégias Terapêuticas, UCB-DF. ²Curso de Farmácia, UCB-DF. ³Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UNB-DF. ⁴Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ-RJ. ⁵Department of Pharmacy and Biotechnology, UNIBO-Itália. ⁶Biomedical Research Center, University Hospital Hradec Kralove–República Checa. ⁷NUPEM, UFRJ-RJ. ⁸Tanz Centre for Research in Neurodegenerative Diseases, University of Toronto–Canadá.

Palavras Chave: Cardanol, Inibidor dual AChE, LDT161

Abstract

LDT161: AChE/BuChE Inhibitor Designed from Cardanol. LDT161 is a cardanol-based AChE/BuChE inhibitor with low toxicity against HT-29 cells and capable of crossing the BBB.

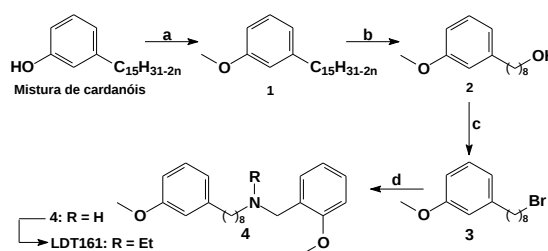
Introdução

Inibidores duais da AChE têm recebido atenção devido ao papel não catalítico exercido pelo sítio aniônico periférico (SAP) da AChE relacionado ao aumento da deposição β -amiloide (β A). Estes iAChEs estariam relacionados à melhora da hipofunção colinérgica ao mesmo tempo que diminuiriam a deposição β A. Adicionalmente, a verificação de propriedades farmacocinética e de toxicidade na fase inicial da pesquisa de fármacos tem se tornado essencial para minimizar gastos e permitir otimização desses compostos. A partir de estudos anteriores sobre inibidores AChE (iAChE) a partir do cardanol saturado,¹ identificamos o derivado LDT161 planejado como possível inibidor dual da AChE. Desta forma descrevemos neste trabalho estudos preliminares de citotoxicidade, predição cinética e atividade antiagregante.

Resultados e Discussão

LDT161 foi obtido por meio da modificação na cadeia lateral do cardanol com inserção da subunidade catiônica benzilamínica capaz de interagir com o sítio catalítico da enzima e o núcleo aromático do cardanol com o sítio aniônico periférico (SAP). Foram exploradas metodologias de alquilação do fenol (**1**), ozonólise seguida de redução ao álcool **2** e conversão ao halogeneto **3**. Este foi submetido à reação com 2-metóxi-benzilamina sob radiação micro-ondas em forno convencional fornecendo **4**, que foi convertido ao LDT161 por *N*-alquilação (Esquema 1).

No ensaio de atividade inibitória sobre *Ee*AChE e *Eq*BuChE, LDT161 apresentou respectivas IC₅₀ 6,6 μ M e 5,0 μ M (IS 0,8) e Ki de 24,4 μ M *Ee*AChE. Adicionalmente, apresentou IC₅₀ 5,65 μ M para a isoforma humana *h*AChE.



Esquema 1: (a) MeI, K₂CO₃, Me₂CO, t.a., 24 h, 78% (**1**); (b) i. O₃/O₂, CH₂Cl₂/MeOH 1:1, -70° C, 1 h; ii. NaBH₄, 80% (**2**); (c) CBr₄, ϕ_3 P, MeCN, t.a., 16h, 80% (**3**); (d) benzilamina, MeCN, TEA, MO pt 50%, 5', 90% (**4**); TEA, MeCN, EtI, t.a. 18 h, 84%.

A correlação das propriedades para predição da penetração pela BHE pelo ensaio PAMPA-BBB, identificou um promissor candidato com $16,8 \pm 1 \cdot 10^{-6}$ cm.s⁻¹. No teste de citotoxicidade sobre linhagem de células epiteliais do colon HT-29 foi evidenciada toxicidade parcial apenas em concentração 10 vezes maior que seu valor de iAChE. Quanto ao perfil de inibidor dual, investigação inicial quanto à agregação β A42 por ensaio fluorométrico baseado em tioflavina T, LDT161 não previniu significativamente a autoagregação. Estudos recentes da avaliação da atividade antiagregante frente ao peptídeo β A realizada por dicroísmo circular (DC) e visualização por microscopia de transmissão eletrônica (MET) mostraram que LDT161 foi capaz de desestabilizar as estruturas de folhas beta com a formação de fibrilas.

Conclusões

LDT161, obtido em rendimento global de 38% (5 etapas) a partir do cardanol, mostrou características inibitórias, cinéticas, citotóxicas e antiagregantes que corroboram o planejamento estrutural desta classe de compostos e o destacam como candidato ao tratamento da Doença de Alzheimer.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES pelas bolsas de LFNL, GAR e ASO, CNPq pelo apoio financeiro (#490203/2012-4), e à UCB e UnB pelo uso de facilidades de seus laboratórios.

¹De Paula Et al *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 3754.

