

PROPOSTA DE PESQUISA

BOLSISTA PIBIC

i) Título: Síntese de derivados de quinazolinonas e piridopirimidonas como potenciais inibidores da enzima metionina-tRNA sintetase (MetRS).

ii) Nome do orientador: Profa. Dra. Silvana A. Rocco

iii) Instituição Sede: Laboratório Nacional de Biociências – Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

iv) Descrição do projeto:

O desenvolvimento de agentes farmacológicos com função específica tem papel importante em vários aspectos da pesquisa em química, química medicinal, biologia, bioquímica e química farmacêutica, bem como no estabelecimento de novas estratégias terapêuticas.¹ Essa é uma necessidade atual e constante, considerando, por exemplo, o decréscimo gradual no número de novos agentes microbianos aprovados anualmente pelo FDA, a necessidade do desenvolvimento de agentes biológicos que atuem por mecanismos de ação diferentes aos dos fármacos já em uso e, principalmente, devido às altas taxas de resistência aos antimicrobianos (AMR).² Desse modo, em razão desse declínio no desenvolvimento de novos antibióticos, juntamente com o surgimento de bactérias multirresistentes (MDR)³, ou seja, bactérias resistentes a mais de três classes de antibióticos, entende-se que o estudo para a obtenção de novos compostos que exibam atividade antimicrobiana torna-se fundamental.

Nesse cenário, destaca-se a importância do estudo das aminoacil-tRNA sintetases (aaRS), enzimas essenciais na síntese proteica, que catalisam a esterificação dos tRNAs com seus aminoácidos correspondentes.⁴ As aaRS podem se apresentar de duas formas, uma vez que, tanto o processo de reconhecimento de uma aaRS com relação ao tRNA, quanto a etapa consecutiva, chamada de aminoacilação, podem variar. Assim, aaRS de classe I, mais presentes em bactérias gram-positivas, são monoméricas e aminoacilam no 2'-OH de um nucleotídeo de adenosina terminal no tRNA, já as de classe II, mais presentes em bactérias gram-negativas, são diméricas e aminoacilam no 3'-OH de uma adenosina terminal no tRNA.⁴ Dentre essa classe de enzimas, encontra-se a metionina-tRNA sintetase (MetRS), que participa de etapas de iniciação e alongação na síntese proteica. Entretanto, enquanto a MetRS do tipo 1 tem se mostrado suscetível aos inibidores já conhecidos, há pouco conhecimento de inibidores que sejam ativos sobre a MetRS do tipo 2 (MetRS2). Porém, a MetRS2 é encontrada majoritariamente em bactérias gram-negativas, que estão associadas a uma série de patologias e, portanto, entende-se a necessidade de viabilizar a síntese de compostos que atuem inibindo a MetRS2.

1(a) Connolly, D. J.; Cusack, D.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10153. **(b)** Polshettiwar, V.; Varma, R.S. *Curr. Opin. Drug Discov. Dev.* **2007**, *10*, 723. **(c)** Rewcastle, G. W.; Denny, W. A.; Showalter, H. D. H. *Curr. Org. Chem.* **2000**, *4*, 679. **(d)** Li, D.-D.; Hou, Y.-P.; Wang, W.; Zhu, H.-L. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 871. **(e)** Khan, I.; Ahmed, W.; Saeed, A.; *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *90*, 124. **(f)** Ravez, S.; Schifano-Faux, N.; Barczyk, A.; et. al. *Med. Chem.* **2015**, *5*, 2. **(g)** Mhaske, S. B.; Narshinha P. Argade, N. P. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9787.

2 Guimaraes, D. O.; Momesso, L. S.; Pupo, M. T. *Química Nova*, **2010**, v. 33, n.3, 667-679.

3 De Oliveira, D.; Forde, B. M.; Kidd, T. J.; Harris, P.; Scherembri, M.A.; Beatson, S. A.; Paterson, D. L.; Walker, M. J. *Clin. Microbiol. Rev.*, **2020**, 33(3).

4 Nelson, D L.; Cox, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger*. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, **2014**. 1120 p. (ISBN 978-85-8271-073-9).

Dessa forma, desenvolveu-se desenhos das estruturas químicas de possíveis inibidores da MetRS2, que são derivados de quinazolinonas e de piridopirimidonas, classes de moléculas orgânicas heterocíclicas aromáticas de intensa atividade biológica. As quinazolinonas são reconhecidas por sua importância biológica, uma vez que já foram, anteriormente, associadas à inúmeras atividades farmacológicas, incluindo atividades analgésica, anti-inflamatória, anti-histamínica anticonvulsivante, anti-hipertensiva, anticancerígena, sedativa-hipnótica, antimicrobiana, antitubercular e antiviral, por exemplo.⁵ Similarmente, as piridopirimidonas também apresentam inúmeras aplicações biomédicas, como já reportado anteriormente, e são capazes de fornecer ligantes para vários receptores no organismo.⁶ Também são conhecidas por suas propriedades anti-hipertensivas, antileucêmicas e contra o câncer de mama, além de possuírem atividade inibitória de quinases, por exemplo.^{6,7}

Assim, o bolsista PIBIC sintetizará derivados de quinazolinonas e piridopirimidonas, utilizando metodologias organossintéticas já estabelecidas anteriormente no laboratório, além de trabalhar em propostas para novas metodologias e rotas sintéticas.

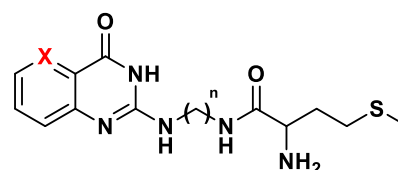
v) Descrição dos objetivos:

- Estabelecer rotas de síntese de derivados de pirido[3,2-d]pirimidin-4-onas e quinazolin-4-onas conjugados com aminoácidos pertencentes, quanto a cadeia de ramificação (R), do grupo R apolares - alifáticos (L-metionina, L-leucenina, L-isoleucenina e L-norleucina), conectados por linkers alquildiaminas com $n = 2, 3$ e 4 carbonos (**Estrutura representativa, 1**);

- Caracterizar todos os compostos utilizando técnicas básicas de laboratório, como infravermelho (IV) e determinação de ponto de fusão, assim como técnicas

avancadas de ressonância magnética nuclear RMN em 1D (1H e ^{13}C) e 2D [gCOSY (correlações $^1H-^1H$), gHSQC e gHMBC (correlações $^1H-^{13}C$)];

Estrutura química representada para o aminoácido L-metionina:



Estrutura representativa, 1

X = C ou N
n = 2, 3 ou 4

vi) Plano de trabalho, incluindo metodologia e cronograma de resultados previstos.

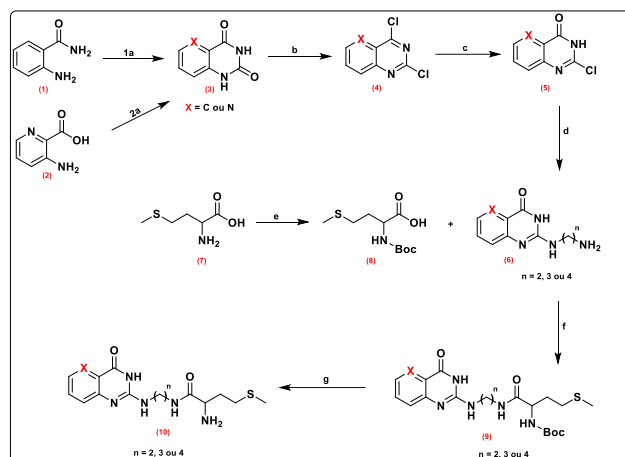
Metodologia sintética geral:

São propostas as etapas sintéticas no **Esquema 1** para a obtenção de novos derivados de pirido[3,2-d]pirimidin-4-onas e de quinazolin-4-onas substituídos na posição C-2, partindo do ácido 3-amino-2-piridino carboxílico ou do composto 2-aminobenzamida (antranilamida) [**Esquema 1 – (1), (2)**].

⁵ Alagarsamy, V.; Chitra, K.; Saravanan, G.; Solomon, V. R.; Sulthana, M. T.; Narendhar, B. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, 151, 628 – 685.

⁶ Jubete, G.; De la Bellacasa, R. P.; Estrada-Tejedor, R.; Teixidó, J.; Borrell, J. I. *Molecules*, **2019**, 24, 4161.

⁷ Segoula, Z.; et al. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 8422-8440.



Esquema 1. Esquema geral para as sínteses dos compostos de interesse⁷. Para fins de ilustração, o aminoácido L-metionina foi utilizado neste esquema. **Reagentes e Condições:** **1a.** KOCN, AcOH, H₂O, 35°C; **2a.** Ureia, 150°C.; **b.** = POCl₃, DIPEA, refluxo; **c.** = NaOH 2%, 30°C.; **d.** linker (n = 2, 3 ou 4), etanol, refluxo, 12h; **e.** (Boc)₂O, THF : H₂O, NaHCO₃, T.A., 48h; **f.** Boc-metionina, EDC, HOBT, DMF, NMM, T. A., 48 h; **g.** HCl (4M Dioxano), T.A., 5h.

Conforme metodologia geral apresentada no **Esquema 1**, o primeiro passo envolve a ciclização do ácido 3-amino-2-piridino carboxílico e da antranilamida, para formação da piridopirimidona ou quinazolinona (**3**). O segundo passo envolve a cloração do intermediário (**3**), em uma reação característica, utilizando POCl₃ e DIPEA, formando o intermediário (**4**). Esses derivados clorados são intermediários sintéticos importantes para as reações de substituições nucleofílicas aromáticas nas posições pretendidas. Depois, na etapa seguinte, a hidroxila do NaOH atua como um nucleófilo, atacando o carbono mais eletrofílico da molécula (posição 4), convertendo (**4**) em (**5**). Em seguida, há a reação de acoplamento com o linker (n = 2: etano-1,2-diamina; n = 3: propano-1,3-diamina; n = 4: butano-1,4-diamina), em que uma das aminas do linker atua como nucleófilo, liberando Cl⁻ e formando o composto (**6**). Então, o aminoácido a ser inserido na molécula (L-metionina, L-isoleucina, L-leucina ou L-norleucina) deve passar por uma reação de proteção do grupo amina, convertendo (**7**) em (**8**). Depois, há a junção entre o aminoácido protegido e o composto (**6**), realizada por intermédio dos reagentes de acoplamento, em que a amina da molécula (**6**) atua como o nucleófilo da reação, formando (**9**). Por fim, para a remoção do grupo de proteção Boc do aminoácido, utiliza-se HCl como o ácido, em temperatura ambiente, convertendo para o composto final (**10**).⁷

Cronograma de execução:

1. Síntese e Caracterização das moléculas
2. Refinamento e otimização das moléculas
3. Relatório científico

Atividade	Meses					
	2	4	6	8	10	12
1						
2						
3						

vii) Justificativa:

O presente projeto é multidisciplinar e interessante do ponto de vista do desenvolvimento de novos alvos farmacológicos e terapêuticos, assim como pela possibilidade de estudos da ação de derivados de quinazolinonas e piridopirimidonas em modelos experimentais de doenças em que a enzima metionina-tRNA sintetase esteja envolvida.