



* B R 1 0 2 0 2 1 0 1 3 8 4 2 A 2 *

República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102021013842-4 A2

(22) Data do Depósito: 14/07/2021

(43) Data da Publicação Nacional:
24/01/2023

(54) **Título:** COMPOSTO INIBIDOR DE BETA-SECRETASE 1 PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

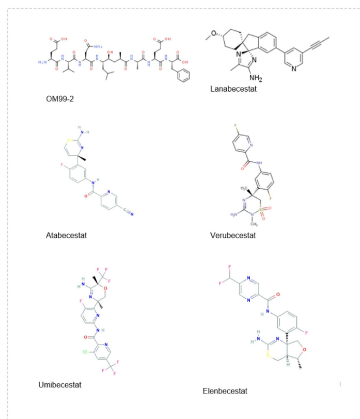
(51) **Int. Cl.:** C07C 251/14; A61K 31/15; A61P 25/28.

(52) **CPC:** C07C 251/14; A61K 31/15; A61P 25/28.

(71) **Depositante(es):** CASA DE NOSSA SENHORA DA PAZ ACAO SOCIAL FRANCISCANA; JULIANA MOZER SCIANI.

(72) **Inventor(es):** JULIANA MOZER SCIANI; KARINE CRISTIE QUAGLIO BANAGOURO; PAOLA DE BLASIO; THABATTA GIULIANI MONCLUS ROMANEK.

(57) **Resumo:** COMPOSTO INIBIDOR DE BETA-SECRETASE 1 PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER. A presente invenção se refere a um composto derivado da psamaplina A com atividade inibidora da enzima beta-secretase 1, e seu uso no tratamento da Doença de Alzheimer. A psamaplina A teve a sua estrutura otimizada, de forma a melhorar o seu posicionamento no sítio ativo da enzima e aumentar a energia de ligação com aminoácidos essenciais para a atividade, o que caracteriza a inibição enzimática. A otimização também considerou a obtenção de parâmetros físico-químicos apropriados para um medicamento, no que diz respeito à farmacocinética e toxicidade. Desta forma, esse novo composto inibe uma enzima chave para o desenvolvimento da Doença de Alzheimer, sendo uma alternativa a essa doença sem cura até o momento.



COMPOSTO INIBIDOR DE BETA-SECRETASE 1 PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Campo da invenção

[001] A presente invenção se refere a um composto derivado da psamaplina A que tem ação inibidora da enzima beta-secretase 1, aplicável no tratamento da Doença de Alzheimer.

Fundamentos da invenção

[002] A busca por novas moléculas para o tratamento da Doença de Alzheimer tem sido cada vez mais frequente na pesquisa científica, seja na academia ou na indústria, uma vez que se trata de uma doença sem cura até o momento. É uma doença que acomete mais de 35 milhões de pessoas no mundo, segundo dados da Organização Mundial da Saúde, publicado em 2020.

[003] Os principais medicamentos utilizados no tratamento da Doença de Alzheimer são: Tacrina, Donepezila, Risperidona, Rivastigmina, Galantamina e Memantina, mas não representa uma cura, mas sim aumento da sobrevida do paciente (DE FALCO et al., *Quim. Nova*, v. 39, p. 63-80, 2016).

[004] A Doença de Alzheimer tem início na clivagem endoproteolítica de uma glicoproteína transmembrana mutada, a APP ou proteína precursora de β -amiloide, pelas enzimas beta-secretase e γ -secretase, produzindo os peptídeos beta-amiloides 40 e 42, respectivamente (WAKABAYASHI e STROOPER. *Physiology*, v. 23, p. 194–204, 2008).

[005] O peptídeo beta-amiloide 42, produzido pela beta-secretase, tem se demonstrado mais tóxico, e por ser mais hidrofóbico e fibrilogênico, é depositado mais facilmente no cérebro (MURPHY e LEVINE, *J Alzheimers Dis.*, v.19, p. 311-323, 2010).

[006] Quando depositados no cérebro, os peptídeos amiloides causam perda neuronal significativa em regiões específicas do cérebro (e conseqüentemente perda de contato

sináptico), além de inflamação crônica e dano oxidativo, sendo, portanto, importante para a progressão da doença (HARDY e SELKOE, *Science*, v. 297, p. 353–356, 2002).

[007] Por esse motivo, a beta-secretase 1 tem sido um alvo terapêutico altamente estudado para o tratamento da Doença de Alzheimer, bem como a busca de inibidores para essa enzima.

[008] O primeiro inibidor estudado para beta-secretase 1 foi o OM99-2. Outros compostos estão em estudos clínicos, como o Verubecestat, Atabecestat, Lanabecestat, Umibecestat, Elenbecestst (figura 1) e CTS-21166 (estrutura não disponível). Embora alguns estudos clínicos tenham sido descontinuados por falta de eficácia, outros ainda estão em avaliação, como o Verubecestat, que foi a primeira molécula inibidora de beta-secretase a entrar em estudo clínico.

[009] Recentemente foi aprovado pelo FDA o aducanumabe, um anticorpo monoclonal que inibe a formação e facilita remoção de peptídeos amiloides, o primeiro medicamento para o tratamento direto da doença, porém ainda em caráter experimental. Além disso, esse medicamento é de alto custo, inacessível à maior parte da população.

[0010] Na tentativa de obter novas estruturas moleculares, produtos naturais são cada vez mais estudados. A psamaplina A é um composto isolado de uma esponja marinha e possui inúmeras atividades biológicas associadas. A mais estudada é a atividade antitumoral, para vários tipos de câncer, e por essa razão a psamaplina A tem sido utilizada como protótipo para desenho de análogos sintéticos (JING et al., *Mar. Drugs*, v. 17, p. 384, 2019).

[0011] A psamaplina A é uma molécula que já possui uma rota de síntese bem estabelecida, assim como para seus análogos (HONG et al. *Eur. J. Med. Chem.*, v. 96, p. 218–230, 2015).

[0012] Derivados de psamaplina foram descritos no pedido de patente EP1964835, depositado em 28 de fevereiro de 2007 intitulado “Novel derivatives of psammaphlin A, a method for their synthesis and their use for the prevention or treatment of cancer”, e se

refere à otimização e desenho de compostos derivados da Psamaplina A, e seu uso para prevenção e tratamento de tumores.

[0013] Derivados de psamaplina também foram desenhados e protegidos pelo pedido de patente KR1020140141904 intitulado “Novel psamaplin a derivative having anticancer activity and pharmaceutical composition containing same”, porém com foco na atividade antitumoral.

[0014] O pedido de patente KR1020190053090, depositado em 25 de outubro de 2018, intitulado “Selenopsamaplin a and derivative thereof, manufacturing method thereof, and composition for preventing and treating cancer containing same as active components” se refere a inserção de átomos de selênio na estrutura da psamaplina A para melhor efetividade no tratamento de câncer.

[0015] Os análogos mais próximos ao composto da presente invenção estão mostrados na Figura 2, bem como a estrutura da psamaplina A.

[0016] No entanto, nenhum documento do estado da técnica descreve ou muito menos sugere um composto similar ao descrito na presente invenção e sua aplicação à Doença de Alzheimer.

[0017] Diversas técnicas têm sido utilizadas para obtenção rápida de novos compostos com potencial farmacêutico, e nesse contexto as abordagens computacionais, ou *in silico*, têm ganhado espaço. Estima-se que o custo de desenvolvimento de novos fármacos tenha redução de 50% com o uso de métodos de desenho de fármacos assistido por computador (Computer-Aided Drug Design - CADD) (XIANG et al. Comb Chem High Throughput Screen., v.15, n.4, p.328-337, 2012).

[0018] O método de ancoragem molecular é um deles, e permite uma análise rápida e de baixo custo para avaliar a ligação de um composto a um alvo molecular selecionado. Além disso, novas moléculas podem ser desenhadas de forma a se acoplar de maneira mais eficiente às proteínas-alvo selecionadas.

[0019] As técnicas computacionais têm demonstrado com alta acurácia, sensibilidade e especificidade, apontando para o sucesso na obtenção e otimização de novos

compostos derivados de animais marinhos para o tratamento de diversas patologias (CHEN et al., Mar. Drugs, v.18, n.11, p.545, 2020).

[0020] O pedido de patente IN201721001121 intitulado “In-silico design of the [9-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-thiatricyclo[9.4.0.03, 8] pentadeca-1(11),3(8),4,6,12,14-hexaen-6-yl] methanediamine molecule as a inhibitor for the riboswitch of zika virus” mostra essa abordagem e a obtenção de uma nova molécula inibidora de Riboswitches de vírus Zika utilizando ancoragem molecular como avaliação.

[0021] O pedido de patente brasileiro PI0705578-1, depositado em 20 de dezembro de 2007, intitulado “Compostos macrocíclicos triaza como agentes anti-retrovirais” se refere ao desenho de novos compostos potencialmente sintetizáveis para o tratamento da AIDS (anti-HIV), utilizando técnicas computacionais de ancoragem molecular.

[0022] Como uma alternativa medicamentosa ao tratamento da Doença de Alzheimer, para solucionar os problemas acima mencionados, a presente invenção consiste na obtenção de uma nova molécula com atividade inibidora de beta-secretase 1, com aplicação na Doença de Alzheimer.

[0023] Na presente invenção, o método de ancoragem molecular (*docking*) foi aplicado para avaliação da atividade do novo composto, que foi otimizado a partir da psamaplina A, para a melhoria da atividade inibidora da enzima beta-secretase 1, perfil farmacocinético apropriado para medicamento e baixa toxicidade.

Breve descrição dos desenhos

[0024] A estrutura e operação da presente invenção, juntamente com vantagens adicionais da mesma, podem ser mais bem entendidas mediante referência aos desenhos em anexo e a seguinte descrição:

A Figura 1 apresenta os compostos inibidores de beta-secretases do estado da técnica, atualmente em estudo clínico;

A Figura 2 mostra a estrutura da psamaplina A e análogos descritos no estado da técnica;

A Figura 3 revela o composto da presente invenção;

A Figura 4 apresenta os valores de ligação entre os aminoácidos da beta-secretase 1 e o composto otimizado da presente invenção;

A Figura 5 mostra o perfil de ligação do composto da presente invenção acoplada à beta-secretase 1.

Descrição da invenção

[0025] A presente invenção é mostrada nos desenhos e na seguinte discussão detalhada, como uma concretização preferida com o entendimento de que a presente concretização deve ser considerada uma exemplificação dos princípios da invenção e não pretende limitar a presente invenção ao que foi ilustrado e descrito aqui.

[0026] A presente invenção se refere a um composto derivado da psamaplina A que tem ação inibidora da enzima beta-secretase 1, que se espera ser útil no tratamento da Doença de Alzheimer, tal como revelado pela presente invenção mostrada na Figura 3.

[0027] O composto revelado na Figura 3 tem a fórmula estrutural apresentada, em que R corresponde aos substituintes metila, cetona ou anel benzênico.

[0028] O composto apresentado na Figura 3, otimizado a partir da psamaplina A, permite a inibição de uma enzima importante para a progressão da Doença de Alzheimer, a beta-secretase 1, o que demonstra seletividade, uma vez que a enzima não está relacionada com outras doenças.

[0029] Em comparação à psamaplina A, o composto otimizado teve um melhor posicionamento no sítio catalítico da enzima beta-secretase 1, com ligação estável, garantindo uma melhor inibição. Uma molécula tal como revelada pela presente invenção permite uma inibição de uma enzima importante para o desenvolvimento da Doença de Alzheimer

[0030] O composto também possui propriedades de ser absorvido pelo trato gastrointestinal, o que permite a administração da molécula por via oral, e penetra a barreira hematoencefálica, essencial para uma aplicação no sistema nervoso central,

que é o caso da Doença de Alzheimer. Além disso não é um substrato de P-gp, não alterando, portanto, mecanismos de resistência da célula à medicamentos, e inibe somente 2 enzimas hepáticas, o que indica a baixa interação com outras moléculas.

[0031] O composto apresentou baixo potencial de causar toxicidade, o que possibilita uma nova alternativa para o tratamento da Doença.

[0032] Por ser um derivado de um produto natural já disponível sinteticamente, é totalmente passível de síntese química, que representa baixo custo em relação ao anticorpo monoclonal hoje disponível para o tratamento da Doença de Alzheimer.

[0033] Inicialmente, a psamaplina A foi desenhada em modelo 3D utilizando o software OpenBabel 2.4.0, amplamente utilizado para a obtenção de moléculas em arquivo no formato mol.2, necessária para os experimentos subsequentes. Foi considerado pH 7.0, sem deleção ou adição de hidrogênios.

[0034] A proteína-alvo, beta-secretase 1, foi avaliada pelo Protein Data Bank (PDB), e foi selecionada aquela que continha alta resolução e a presença inibidor conhecido, a de código 2VKM.

[0035] O inibidor acoplado a 2VKM, o GRL-8234 (N-((1S,2R)-1-benzyl-2-hydroxy-3-[(3-methoxybenzyl)amino]propyl)-5-[methyl(methylsulfonyl)amino]-N'-[(1R)-1phenylethyl]benzene-1,3-dicarboxamide), foi utilizado como modelo para a condução do presente experimento, e os aminoácidos considerados para interação entre ligante e proteína foram selecionados: Thr72, Thr232, Asn233, Gln73.

[0036] No PSB, a proteína selecionada (2VKM) teve a água removida e a foi feito download da estrutura no formato .pdb.

[0037] Após o preparo do ligante (psamaplina A) e da proteína, foi então feita a ancoragem molecular, conduzida pelo servidor SwissDock, desenvolvido pelo grupo de Modelagem Molecular do Swiss Institute of Bioinformatics, na Suíça (GROSDIDIER et al., Nucleic Acids Res., v. 39, web Server issue W270-7, 2011). O posicionamento do ligante na enzima foi avaliado e considerado somente se era ligado em pelo menos um dos 4 aminoácidos selecionados (Thr72, Thr232, Asn233, Gln73). A energia de ligação

calculada pelo software foi considerada somente com o ligante nesse posicionamento correto.

[0038] O arquivo de ligação foi obtido e analisado pelo software UCSF Chimera v1.14, criado pelo Resource for Biocomputing, Visualization, and Informatics (RBVI), na Universidade da Califórnia (EUA), em que o posicionamento da molécula foi confirmado. Além disso, foi calculada a distância entre ligante e a proteína-alvo. Desta forma, foi verificado que a psamaplina A era capaz de interagir com o sítio ativo da enzima beta-secretase 1.

[0039] A molécula então foi analisada por meio do servidor SwissADME, em que parâmetros físico-químicos foram analisados, de forma a atender os seguintes critérios: massa molecular menor que 500 g/mol, logP entre 2 e 5, menos que 2 aceptores de hidrogênio, menos que 5 doadores de hidrogênio, TPSA entre 40 e 100 Å², absorvível pelo trato gastrointestinal, permeante da barreira hematoencefálica e com baixo potencial de inibir enzimas hepáticas.

[0040] Considerando que a psamaplina A não atendia a esses critérios, a molécula foi modificada, considerando a remoção de grupos funcionais, bem como a adição de estruturas. Conforme foram desenhadas, as moléculas foram analisadas novamente pelo SwissADME, até que esses critérios fossem atendidos.

[0041] Os análogos com propriedades farmacocinéticas apropriadas foram testados novamente na ancoragem molecular pelo SwissDock, utilizando a mesma proteína 2VKM do PDB, considerando os mesmos critérios de ligação (aminoácidos Thr72, Thr232, Asn233, Gln73). Com isso, um dos análogos foi selecionado, aquele com melhor energia de ligação à beta-secretase 1, com curta distância para os aminoácidos e posicionada no sítio ativo da enzima, caracterizando uma inibição enzimática.

[0042] A partir dessa molécula otimizada, pequenas variações na estrutura foram previstas, de modo que ficassem mantidas as características farmacocinéticas e de ligação à beta-secretase 1, e assim foram previstos os substituintes metil, cetona ou anel benzênico na posição R da estrutura da figura 3.

[0043] Apesar da previsão dos substituintes, é previsto que todas as combinações dos elementos que desempenham a mesma função substancialmente da mesma forma para alcançar os mesmos resultados estão dentro do escopo da invenção. Substituições de elementos de uma modalidade descrita para outra são também totalmente pretendidas e contempladas.

[0044] O composto otimizado teve posicionamento no sítio catalítico da enzima beta-secretase 1 e ligou-se nos aminoácidos considerados, com alta força de ligação nas posições Thr232, Thr72, Gln73 e Asn233, garantindo uma melhor inibição (Figura 4). No caso da ligação em Thr232 e Asn233, mais de um átomo da molécula se ligou ao aminoácido, o que garante a estabilidade da ligação à proteína.

[0045] A figura 5 mostra o posicionamento do composto otimizado na beta-secretase 1, evidenciando o encaixe da molécula no sítio catalítico da enzima, o que impede a ligação ao seu substrato, impedindo a atividade da enzima, que é importante para o desenvolvimento da Doença de Alzheimer.

[0046] Como esse análogo foi desenhado levando em conta propriedades farmacocinéticas para garantir a drogabilidade, o composto otimizado, e que apresentou inibição da beta-secretase 1, já estava em concordância com tais parâmetros, que foram: massa molecular entre 300 e 400 g/mol, número de aceptores e doadores de hidrogênio entre 2 e 4, TPSA entre 50 e 90 Å², LogP entre 2 e 4, alta absorção gastrointestinal, permeante á barreira hematoencefálica, não substrato de P-gp e inibidor de até 2 enzimas hepáticas, não havendo, portanto, violação das regras de Lipinski.

[0047] Sendo o composto absorvido pelo trato gastrointestinal é possível ser administrado por via oral, e a permeação da barreira hematoencefálica permite o uso do composto para doenças que tem como alvo o sistema nervoso central, que é o caso da Doença de Alzheimer.

[0048] O composto otimizado foi avaliado pelo software PreADMET, e foi verificado que não causa carcinogenicidade em ratos. A predição de toxicidade pelo software ProTox-II revelou LD50 de 950 mg/kg em ensaio de predição de toxicidade oral, o que possibilita uma nova alternativa para o tratamento da Doença.

[0049] Toda essa análise indica que a molécula revelada na presente invenção pode ser utilizada como um inibidor de beta-secretase 1 para pesquisa científica na área de biologia celular, farmacologia, bioquímica, entre outros, além de poder ser desenvolvido como medicamento para o tratamento da Doença de Alzheimer.

[0050] Sabendo que essa molécula é derivada de um produto que já se encontra disponível comercialmente, a nova molécula da presente invenção é potencialmente sintetizável.

REIVINDICAÇÕES

1. Composto, caracterizado pelo fato de ser como definido na fórmula estrutural revelada na figura 3.
2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que R é metil, cetona ou anel benzênico.
3. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser inibidor da enzima beta-secretase 1.
4. Composto, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de possuir propriedades farmacocinéticas e toxicológicas passíveis de ser um medicamento.
5. Uso do composto, conforme definido pelas reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que pode ser utilizado para o tratamento da Doença de Alzheimer.

DESENHOS

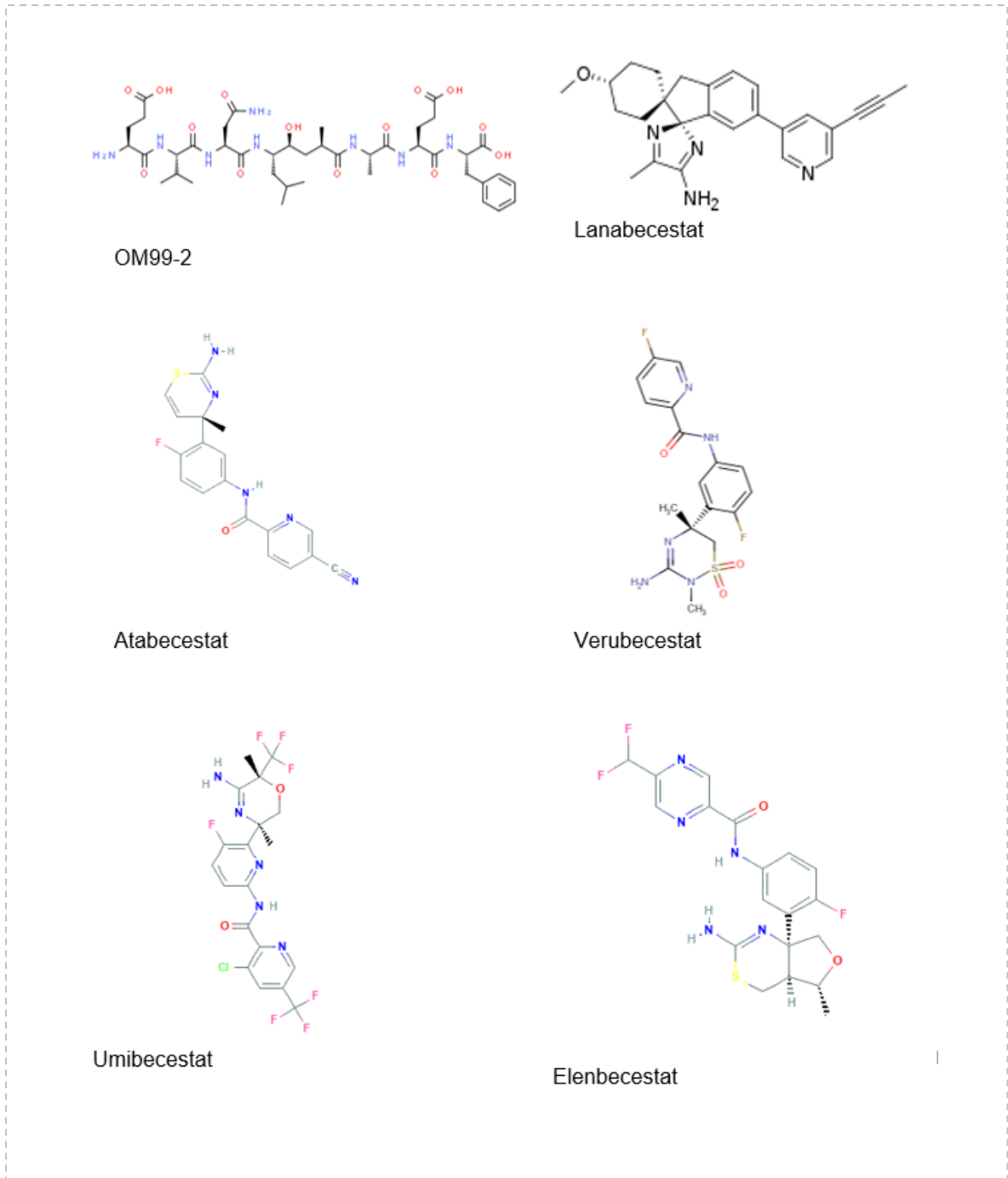


Figura 1

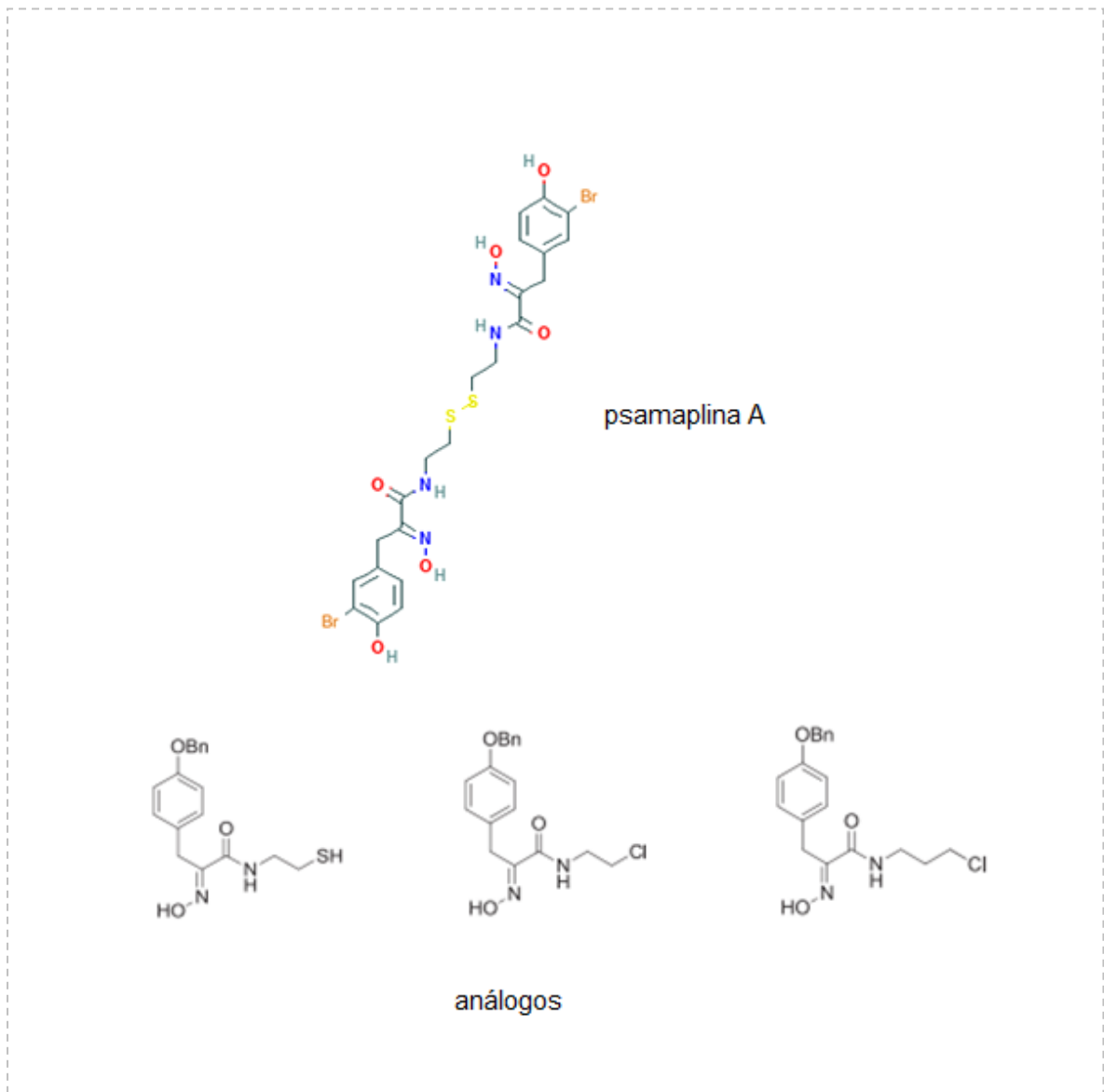


Figura 2

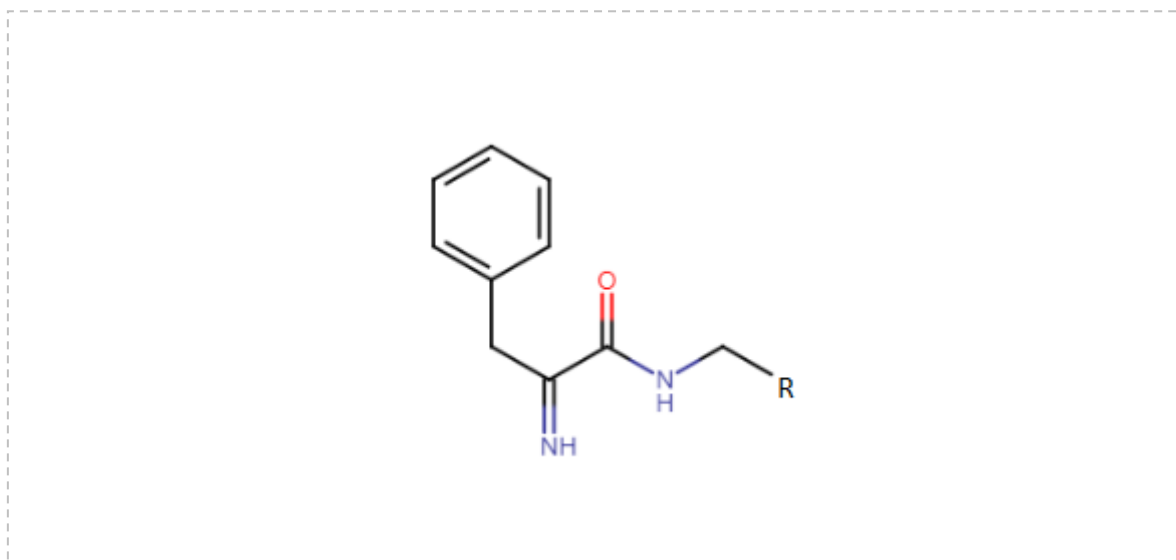


Figura 3

Aminoácido	Energia de ligação (kcal.mol)	Encaixe total (kcal/mol)	Distância da ligação (Å)
Thr 232	-6,86	-1606.21	1,917
	-6,63	-1596,30	2,433
Thr72	-7,03	-1607.29	2,068
Gln73	-6,59	-1594,58	2,369
Asn233	-6,63	-1596,30	2,434
	-6,71	-1601,19	2,352

Figura 4

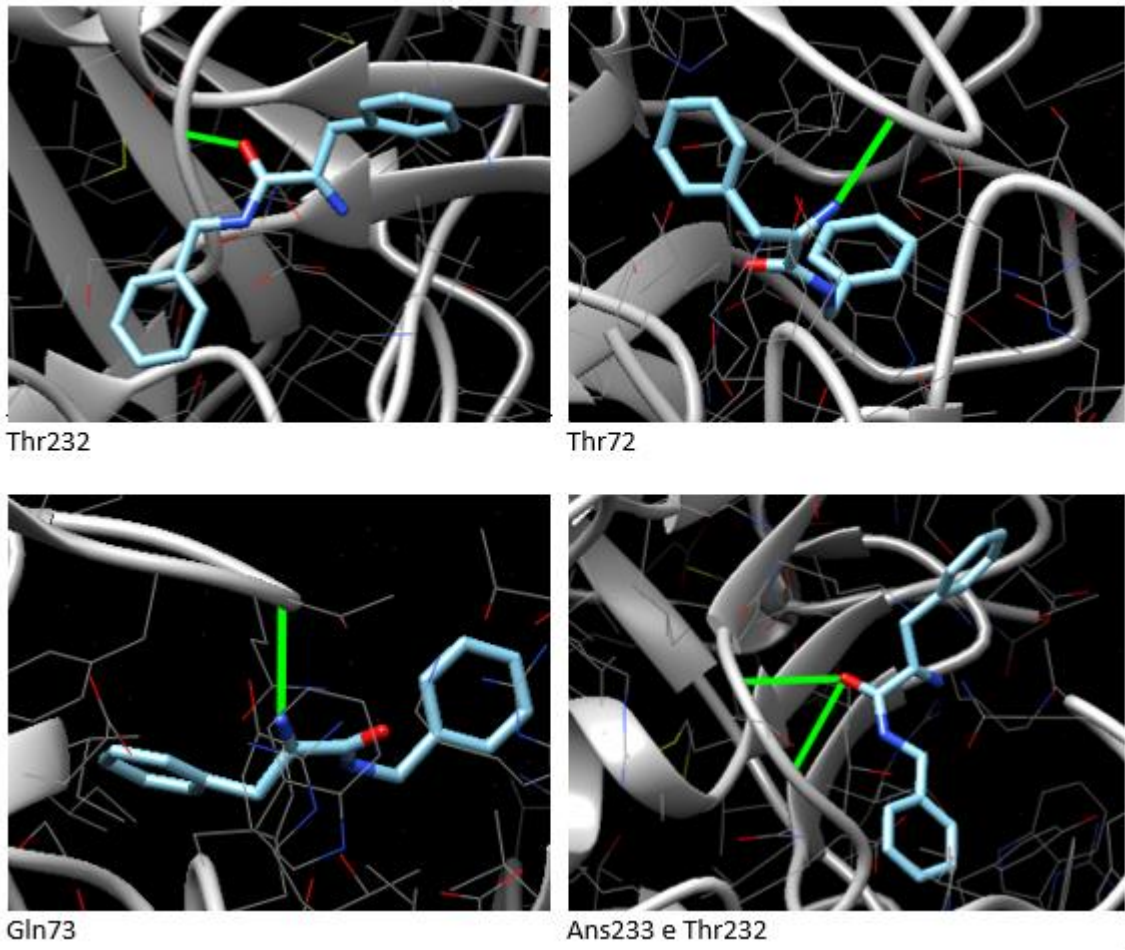


Figura 5

RESUMO**COMPOSTO INIBIDOR DE BETA-SECRETASE 1 PARA O TRATAMENTO DA
DOENÇA DE ALZHEIMER**

A presente invenção se refere a um composto derivado da psamaplina A com atividade inibidora da enzima beta-secretase 1, e seu uso no tratamento da Doença de Alzheimer. A psamaplina A teve a sua estrutura otimizada, de forma a melhorar o seu posicionamento no sítio ativo da enzima e aumentar a energia de ligação com aminoácidos essenciais para a atividade, o que caracteriza a inibição enzimática. A otimização também considerou a obtenção de parâmetros físico-químicos apropriados para um medicamento, no que diz respeito à farmacocinética e toxicidade. Desta forma, esse novo composto inibe uma enzima chave para o desenvolvimento da Doença de Alzheimer, sendo uma alternativa a essa doença sem cura até o momento.