

## TÍTULO

# DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPOSTOS DERIVADOS DA VANILINA COMO REATIVADORES DA ACETILCOLINESTERASE INIBIDA POR ARMAS QUÍMICAS DA CLASSE DOS COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS: PLANEJAMENTO E ANÁLISE CONFORMACIONAL

Vinícius Augusto Palmeira Bedaque<sup>1</sup> (IC), Daniel Henriques Soares Leal (PQ)<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Universidade Federal de Itajubá

**Palavras-chave:** Acetilcolinesterase. Compostos Organofosforados. Oximas. Desenvolvimento de fármacos. Química computacional

### Introdução

A acetilcolina (ACh) (Figura 1) é um neurotransmissor gerado no sistema nervoso periférico e central. Ela tem um papel importante em regular as funções cognitivas, auxiliando no sono, memória e aprendizado. A enzima acetilcolinesterase (AChE) tem a função de hidrolisar a ACh nas sinapses colinérgicas. Inibir a AChE é vantajoso quando se trata da saúde humana, pois isto acaba por prolongar a permanência da ACh na fenda sináptica por um período maior, assim impulsionando a transmissão colinérgica.

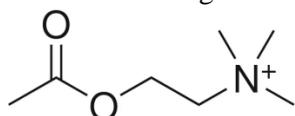


Figura 1 – Estrutura da Acetilcolina

Os compostos capazes de inibir a AChE são divididos em duas categorias, sendo elas reversíveis e irreversíveis. A utilização dos inibidores tem por objetivo tratar de enfermidades como Alzheimer, Parkinson e outras. Os inibidores irreversíveis, comumente empregados como armas químicas, pesticidas agrícolas e reguladores de crescimento das plantas acabam por levar a um processo denominado envelhecimento da acetilcolinesterase, o qual não ocorre em processos reversíveis.

O processo de envelhecimento da acetilcolinesterase acaba por levar à desalquilação da enzima, gerando fosfoésteres aniônicos, assim impedindo a capacidade hidrolítica da AChE. Para reverter esse processo de desalquilação, é necessário a aplicação de fármacos com propriedades nucleofílicas como, por exemplo, oximas catiônicas para a reativação da AChE.

Um dos poucos fármacos disponíveis que possui tais propriedades para tratamento é a pralidoxima. Devido a isso, existe o esforço para desenvolver novos fármacos capazes do tratamento. Para isso, é importante

que o mesmo seja um bom nucleófilo, sendo então mais eficiente no processo de regenerar a AChE, além de ter uma capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. Essa busca por novos substitutos da pralidoxima se deve ao fato da mesma só demonstrar resultados satisfatórios poucas horas após a exposição ao composto organofosforado, antes então de ocorrer o envelhecimento da AChE.

No presente trabalho, são apresentados os resultados do desenvolvimento de três novos compostos potencialmente reativadores da acetilcolinesterase inibida por um organofosforado com propriedades de oximas, sendo os mesmos derivados da vanilina.

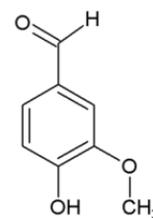


Figura 2 – Estrutura da Vanilina

### Metodologia

A – Planejamento dos compostos: com base na estrutura da vanilina e das características necessárias para conseguir reativar a AChE (grupo oxima), como na estrutura da pralidoxima, foram concebidos os compostos **VA01**, **VA02** e **VA03** (Figura W).

B – Análise Conformacional: posteriormente, as estruturas das oximas **VA01**, **VA02** e **VA03** tanto ácido conjugado como base conjugada foram construídas tridimensionalmente a partir do programa GaussView®. Após o processo de criação, realizou-se uma etapa de otimização com o método semiempírico PM3 em fase gasosa no programa Gaussian®. Com a etapa de análise das vibrações concluída, as estruturas foram submetidas a uma análise conformacional por mecânica molecular com o software Spartan'14®.

C – Docking molecular: Após a etapa de análise conformacional, as estruturas mais representativas foram selecionadas para a etapa de docking. No início da etapa de docking molecular, no entanto, houve problemas com o uso do software selecionado (AutoDock®), não tendo sido possível avançar com a pesquisa.

## Resultados e discussão

A rota sintética para obtenção dos compostos de **VA01**, **VA02** e **VA03** (Figura 3) foi planejada de forma a se obter os mesmos com facilidade, exigindo o mínimo de etapas possíveis para sua obtenção, como discutido a seguir:

A primeira etapa consiste na adição de um grupo piridínico por substituição nucleofílica aromática, utilizando-se para tal os compostos 2-, 3- e 4-bromopiridina ou 2-, 3- e 4-cloropiridina para analisar a influência da posição do grupo N-metila.

A segunda etapa é a adição de iodeto de metila, para metilação do nitrogênio piridínico por alquilação.

A terceira etapa é feita por tratamento do aldeído com hidroxilamina para formação da oxima.

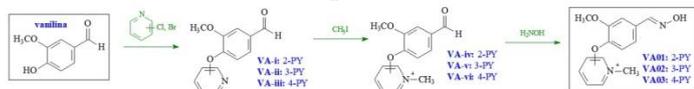


Figura 3 – Rota de Obtenção dos compostos **VA01**, **VA02** e **VA03**

Na etapa de análise conformacional ao realizar a etapa de otimização, é notável que o cálculo não apresenta vibrações negativas, demonstrando que são passíveis de existir.

Após isso é realizada a etapa de análise das conformações para os seis compostos, obtendo a tabela a seguir:

Tabela 1: Dados termodinâmicos das conformações de VA01, VA02 e VA03 ácido e base conjugada.

VA01 Ácido Conjugado				VA01 Base Conjugada			
Conf.	E. relativa (kcal/mol)	Dist. de Boltzmann	Dist. Boltzmann Cumulativa	Conf.	E. relativa (kcal/mol)	Dist. de Boltzmann	Dist. Boltzmann Cumulativa
M0001	0,000	0,835	0,835	M0001	0,000	0,906	0,906
M0002	19,497	0,127	0,962	M0002	27,865	0,062	0,968

VA02 Ácido Conjugado				VA02 Base Conjugada			
Conf.	E. relativa (kcal/mol)	Dist. de Boltzmann	Dist. Boltzmann Cumulativa	Conf.	E. relativa (kcal/mol)	Dist. de Boltzmann	Dist. Boltzmann Cumulativa
M0001	-21,589	0,787	0,787	M0001	0,000	0,542	0,542
M0002	-1,632	0,115	0,902	M0002	0,418	0,458	1,000

VA03 Ácido Conjugado				VA03 Base Conjugada			
Conf.	E. relativa (kcal/mol)	Dist. de Boltzmann	Dist. Boltzmann Cumulativa	Conf.	E. relativa (kcal/mol)	Dist. de Boltzmann	Dist. Boltzmann Cumulativa
M0001	0,000	0,774	0,774	M0001	0,000	0,497	0,994
M0002	12,761	0,226	1,000	M0002	0,000	0,497	0,994

Com base nos dados da distribuição de Boltzmann, nota-se que, em todos os grupos, as conformações M0001 e M0002 corresponderam a mais de 90% da probabilidade de responderem pelas conformações mais importantes dos compostos.

## Conclusões

Devido às limitações do software selecionado inicialmente para o docking, não foi possível concluir todos os objetivos propostos no projeto, devido a limitação para estabelecer um protocolo para a realização das simulações. Entretanto, a importância das etapas iniciais, como os processos de otimização e identificação das conformações, faz com que se evitem cálculos desnecessários.

## Agradecimento

Ao professor Daniel, pela oportunidade, confiança e por me orientar durante o decorrer dessa pesquisa. À Universidade Federal de Itajubá. Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo fomento que possibilitou a realização deste trabalho, e a concessão de bolsa durante o período de desenvolvimento dessa Iniciação Científica. Aos meus familiares e amigos que contribuíram diretamente ou indiretamente no trabalho ou com minha evolução como pessoa

## Referências

ARAUJO, CRM; SANTOS, VL. dos A; GONÇALVES A.UMA. Acetilcolinesterase – AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico., 2016.

BARREIRO, E. J. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. Química Nova, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BRAGA, L. S. et al. Quantification of molecular orbitals based on projection operators: methodological development and applications to basicity prediction of organic compounds in the gas phase. Chem. Phys. Lett., v. 726, p. 87-92, 2019.

BEZERRA, C. S. M. F. POTENCIAL TERAPÊUTICO DA VANILINA E SEUS PRINCIPAIS METABÓLITOS NA REGULAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA E ESTRESSE OXIDATIVO. 2018. Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Paraíba, 2018.

BERMAN, H. M. et al. The Protein Data Bank. Nucleic Acids Res., v. 28, p. 235-242, 2000.

BORGES, I. J., SILVA, G. R., VILLAR, J. D. G., C, A. T. Deseja Química: Histórico, classificação dos agentes de guerra e ação dos neurotóxicos. Química Nova, vol. 35, p 2086, 2012.

DASSAULT SYSTÈMES BIOVIA, Discovery Studio Visualizer, versão 17.2.0, San Diego: Dassault Systèmes, 2016.

DAUGSCH, A. e PASTORE, G. Obtenção de vanilina: oportunidade biotecnológica. Organofosforados: Uma Revisão da Literatura., 2018.

DONNICI, C. L., SANTOS, V. M. R., COSTA, J. B. N., CAIXEIRO, J. M. R. Compostos Organofosforados Pentavalentes: Histórico, Métodos Sintéticos de Preparação e Aplicações como Inseticidas e Agentes Antitumorais, 2007.

FIFER, E. K. Drugs Affecting Cholinergic Neurotransmission. In: LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A.; ROCHE, V. F.; ZITO, S. W. (Ed.). Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th. ed. Philadelphia: Lippincott, 2013. 1500p. cap. 9, p. 309-339.

FRISCH, M. J. et al. Gaussian 09, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, 2009.

GONÇALVES, A. S.; FRANÇA, T. C. C.; PASCUTTI, P. G.; VILLAR, J. D. F. Molecular Dynamics Simulations and QM/MM Studies of the Reactivation by 2-PAM of Tabun Inhibited Human Acetylcholinesterase, v. 22, p. 156, 2011.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD - Visual Molecular Dynamics. J. Molec. Graphics, v. 14, p. 33-38, 1996.

LEACH, A. Molecular modelling: principles and applications. Singapore: Longman, 1998. cap. 10, p. 543-585.

LEAL, D. H. S. MACROLACTAMAS DERIVADAS DE CARBOIDRATOS: SÍNTESE E ANÁLISE CONFORMACIONAL POR MÉTODOS QUANTO-MECÂNICOS. 2009. 404 p. 17 Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Fármacos e Medicamentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

MARTÍNEZ, F.; JOUYBAN, A.; ACREE, W. E. J.; Algunos análisis numéricos sobre la solubilidad de la vainillina en mezclas cosolventes Carbitol® + agua, 2015. p. 35.

MENG, X. Y. et al. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug Discovery. Curr. Comput. Aided Drug. Des., v. 7, n. 2, p. 146-157, 2011.

O CHO, R.; RODRIGUEZ, C. A.; ZULUAGA, A. F. Perspectives for the structure-based design of acetylcholinesterase reactivators. J. Mol. Graph. Model., v. 68, p. 176-183, 2016.

PETRONILHO, E. C., PINTO, A. C., VILLAR, J. D. F. Acetilcolinesterase: Alzheimer e Guerra Química, 2011.

RCSB. RCSB Protein Data Bank - RCSB PDB.

SILVA, D. R. Estudo Teórico do Mecanismo de Inibição da Acetilcolinesterase de *Torpedo californica* por Novos Fosforamidatos., 2009.

VINHAL, D. C., SOARES, V. H. C. Intoxicação por