



V SIMPÓSIO DE SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL
E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE BIOMOLÉCULAS NA AMAZÔNIA

Livro de Resumos

ORGANIZAÇÃO

Prof. Dr. Jeronimo Lameira (ICB/UFPA)

Laboratório de Planejamento e
Desenvolvimento de Fármacos
(LPDF/UFPA)

www.sscabba.ufpa.br



Coordenador do Evento

Jerônimo Lameira Silva
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal do Pará

Comissão Organizadora

Jerônimo Lameira Silva - ICB/UFPA
Cláudio Nahum Alves – ICEN/UFPA
Davi do Socorro Brasil – ICEN/UFPA
Rosivaldo dos Santos Borges – ICS/UFPA
Agnaldo da Silva Carneiro – ICS/UFPA
Edson Leandro de Araújo Silva
Carla Carolina Ferreira Meneses
Clauber Henrique Souza da Costa
Ana Catarina Sicsu

Comissão Científica

José Rogério de Araújo Silva – ICEN/UFPA
Rosivaldo dos Santos Borges - ICS/UFPA
Agnaldo da Silva Carneiro – ICS/UFPA
Jerônimo Lameira Silva – ICB/UFPA
Cleydson Breno - UNIFAP

LABORATÓRIO DE PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

SSCABBA.UFPA.BR

Universidade Federal do Pará
Rua Augusto Corrêa, 01. Guamá
66075-110 Belém, PA
Email: ppgqm3@ufpa.br

Versão Novembro 2016



Conteúdo

1	APRESENTAÇÃO	4
1.1	V SSCABBA	4
2	Livro de Resumos. V SSCABBA	5
R01.	Estudo teórico de derivados cíclicos da edaravona como antioxidantes	5
R02.	Planejamento de derivados bicíclicos da edaravona como antioxidantes	7
R03.	Estrutura, reatividade e propriedades da hidroxilação regioseletiva do ácido Diclofenaco	9
R04.	Estrutura e capacidade antioxidante de derivados de sesamol6-substituído ...	11
R05.	A composição química e a atividade antioxidante do óleo essencial de Psidium guineense.	13
R06.	Estudos computacionais de Dinâmica Molecular para derivados estatínicos contra a Hipercolesterolemia	15
R07.	Análise conformacional da piperina (Piper nigrum L.)	17
R08.	Reatividade e capacidade redox da parte nitro-azólica da nitazoxanida	18
R09.	Estudo do sítio catalítico da EcAIII por meio de docking molecular	19
R10.	Planejamento e síntese de derivados naftalênicos dos salicilatos como antioxidantes	21
R11.	Estudo Computacional do Mecanismo de Inibição da Cisteína Protease de Trypanossoma cruzi	23
R12.	Análise Conformacional da Z- e E-Azalactona Benzilidênicas	25
R13.	Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de Quitosana contendo Albendazol	27
R14.	Estudo de Mapa de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) e QSAR-3D para inibidores da Cruzaína no combate à doença de Chagas	29
R15.	Calpaína I – análise estrutural por meio da plataforma Swiss-model	31
R16.	Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de Quitosana contendo Albendazol	33

R17. Análise Computacional de Inibidores da Enzima Tirosinase (TYR): Potenciais Quimioterápicos	35
R18. Estudo in silico da enzima tirosinase humana por meio de ferramentas de bioinformática	37
R19. Planejamento in silico que apontam a ação inibidora do ácido kójico contra glioxalase I combatendo a leishmaniose	39
R20. Estudo in silico de espectroscopia de ¹³ C RMN e UV-Vis combinado com química quântica para molécula inibidora da enzima CYP51	41
R21. Um mecanismo proposto para a toxicidade do trans-desidrocrotonina, o principal constituinte químico de Croton cajucara	43
R22. ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE DA ENZIMA 21-HIDROXILASE POR MEIO DE MODELAGEM COMPUTACIONAL	45
R23. Análise in silico da glutathione S-transferase classe delta em Anopheles darlingi resistentes ao diclorodifeniltricloroetano (DDT)	47
R24. Planejamento de Derivados do Benzonidazol por Modelagem Molecular	49
R25. Estudo químico de derivados do nitrofeniletano	51



1. APRESENTAÇÃO

1.1 V SSCABBA

O V Simpósio de Simulação Computacional e Avaliação Biológica de Biomoléculas na Amazônia têm por objetivos promover uma maior interação entre a comunidade científica da região, divulgar os trabalhos realizados pelos discentes e docentes participantes, e por professores e pesquisadores de renome nacional convidados, além de proporcionar um ambiente rico e estimulante para a discussão científica, valorizando a interdisciplinaridade e a troca de conhecimento. Além do mais, as metodologias discutidas no evento contribuirão para o conhecimento do fenômeno biológico em nível molecular, o que possibilita o planejamento e desenvolvimento de tecnologias de especial interesse para a região como a pesquisa em fármacos.

O público alvo do evento envolve alunos e pesquisadores das áreas de Química, Farmácia, Biotecnologia, Biologia, Estatística, Física ou Medicina da UFPA, UFRA, IFPA, ou de IESs privadas, bem como os profissionais em atuação no mercado, que representam um conjunto importante e não menos receptivos ao aperfeiçoamento continuado. Também estão previstos a participação de alunos e professores de outros estados tendo em vista a grande importância do evento.

Estudo teórico de derivados cíclicos da edaravona como antioxidantes

Auriekson N. Queiroz¹ (PG), Joseane R. Silva² (PG), Rosivaldo S. Borges³ (PQ)*

¹Ministério da Saúde, ²Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, ³Faculdade de Farmácia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará.

Palavras Chave: edaravona, 6-metil-2-fenil-4,5-dihidro-2H-piridazin-3-ona, antioxidante, redox, DFT.

Introdução

A edaravona ou 3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona é um derivado pirazolônico capaz de inibir a reação radicalar, através da inativação de uma variedade de espécies reativas, tanto de oxigênio quanto de nitrogênio. Ela foi desenvolvida para o uso clínico como um novo agente antiisquêmico.¹

O mecanismo de inativação de radicais livres pela edaravona ocorre preferencialmente por meio da transferência de hidrogênio. No entanto, a transferência de elétrons pode estar envolvida na primeira etapa.²

A doação de elétrons ou hidrogênio, bem como a nucleofilicidade estão diretamente relacionados com a capacidade antioxidante da edaravona e seus derivados frente ao radical difenilpicril-hidrazil radical (DPPH) e ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS). Estas propriedades podem ser calculadas usando métodos computacionais, tais como o potencial de ionização (PI) e a energia de dissociação de ligação carbono-hidrogênio (EDL_{CH}) e a energia do orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO).²

Embora a edaravona tenha benefícios significativos em pacientes isquêmicos, seus principais efeitos tóxicos são renais,³ hepáticos e sobre a coagulação intravascular.⁴ Muitos esforços visando desenvolver novos derivados, nenhum composto foi aprovado na clínica.^{2,5} Assim, esta proposta visa o estudo de bioisómeros da edaravona, usando o método de planejamento de expansão de anéis, onde o anel pirazolona é substituído pelo anel piridazinona e cálculos no nível DFT/B3LYP/6-31G**.

Resultados e Discussão

O estudo teórico da atividade sequestrante radicalar do derivado da edaravona mostrou que este novo derivado possui menor nucleofilicidade, observada pelos valores de HOMO e GAP. Mas, o derivado exibe maior capacidade elétron-doadora, indicada pelo menor valor de PI, mas com maior valor de EDL_{CH}, comparado com a edaravona, mostrando que o sistema enamina-imina secundário pelo efeito metileno contribui mais que a parte amida (Figura 1).

Tabela 1. Propriedades teóricas de derivados da Ederavona.

Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (kcal/mol)	EDL _{CH} (kcal/mol)
Edaravona	-5,73	-0,86	4,87	173,09	82,96
1	-5,77	-0,67	5,09	167,76	87,69

Os resultados com o novo derivado da edaravona planejado através da expansão do anel pirazolona ou bioisosterismo de anéis, onde a mudança do anel pirazolona por piridazinona, mostrou diferenças significativas, principalmente devido a quebra do sistema de ressonância existente no anel pirazolona, após a doação de um hidrogênio. Enquanto que no sistema piridazona, os derivados 1b ou 1c geram um grupo metileno adicional.

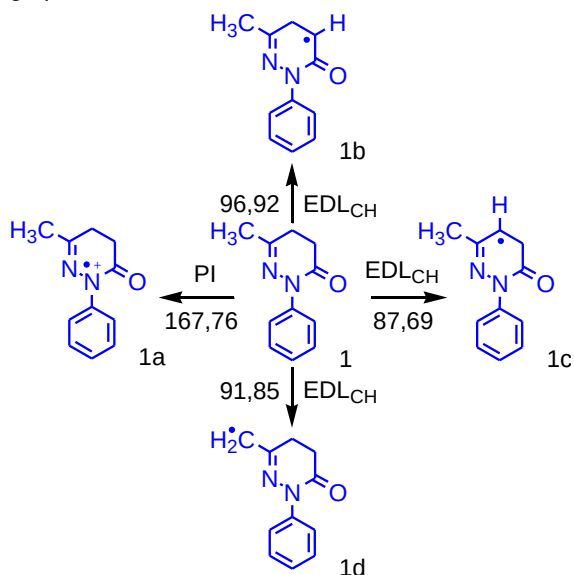


Figura 1. Ederavona e derivado bioisostérico.

Conclusões

Os resultados mostram que o derivado apresenta maior potencial como antioxidante por transferência de elétron e menor potencial por transferência de hidrogênio e que o sistema enamina-imina contribui mais para essa propriedade que a parte amida.

Agradecimentos

CNPq.

¹ Tabrizchi, R. Edaravone, Mitsubishi-Tokyo. *Curr Opin Investig Drugs* **2000**, *1*, 347.

² Borges, R.S.; Queiroz, A.N.; Mendes, A. P. S.; França, L.C.S.; da Silva, A.B.F.; Araújo, S. C. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 7594.

³ Lapchak, P.L.; Zivin, J.A. *Exp. Neurol.* **2009**, *215*, 95.

⁴ Abe, M.; Kaizu, K.; Matsumoto, K. *Ther Apher Dial* **2007**, *11*, 235.

⁵ Borges, R.S.; Queiroz, A.N.; Silva, J.R.; Mendes, A.P.S.; Herculanio, A.M.; Chaves Neto, A.M.J.; da Silva, A.B.F. *Struct. Chem.* **2013**, *24*, 349.

Planejamento de derivados bicíclicos da edaravona como antioxidantes

Joseane R. Silva (PG)¹, Auriekson N. Queiroz (PG)², Rosivaldo S. Borges (PQ)^{3*}

¹ Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, ² Ministério da Saúde-DENASUS, ³ Faculdade de Farmácia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará.

Palavras Chave: edaravona, bicíclicos, heterocíclicos, antioxidante, redox, DFT.

Introdução

A edaravona ou 3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona é um agente neuroprotetor aprovado para a terapia do acidente vascular cerebral agudo, com grande potencial para proteger contra os danos oxidativos.¹ Seu efeito farmacológico decorre de sua capacidade sequestrante de radicais livres.² Os mecanismos de transferência de elétron ou hidrogênio estão relacionados a nucleofilicidade molecular, de modo que a presença de grupos elétron doadores no sistema pirazolônico estão diretamente relacionados com o aumento da capacidade antioxidante dos derivados da edaravona frente aos radicais livres difenilpicril-hidrazil radical (DPPH) e ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS)).³ A propriedade antioxidante pode ser estimada por métodos computacionais, usando parâmetros como energia dos orbitais moleculares, potencial de ionização (PI) e energia de dissociação de ligação C-H (EDL_{CH}), relacionados com a transferência de elétron ou hidrogênio.³ Embora ela demonstre efeitos benéficos na isquemia, este fármaco não é isento de efeitos tóxicos renal, hepático e sobre a coagulação intravascular,^{4,5} motivando um esforço contínuo no desenvolvimento de derivados mais seguros, mas sem aprovação clínica.^{3,6} Assim, neste trabalho estamos realizando a modificação ao anel pirazolona e cálculos no nível DFT/B3LYP/6-31G**.

Resultados e Discussão

Os derivados bicíclicos e heterocíclicos da edaravona, propostos na Figura 1, visam demonstrar a influencia da restrição conformacional causada pelo sistema bicíclico sobre a formação de derivados do tipo semiquinona, após a saída do hidrogênio da posição 4 do anel pirazolona.

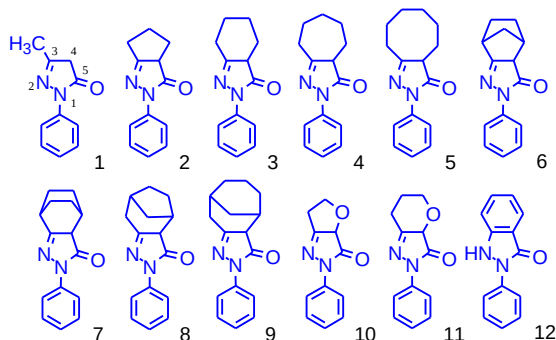


Figura 1. Derivados bicíclicos e heterocíclicos da edaravona.

Tabela 1. Propriedades teóricas dos derivados.

Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (kcal/mol)	EDL _{CH} (kcal/mol)
1	-5.71	-0.87	4.83	168.66	81.06
2	-5.66	-0.90	4.75	166.08	79.41
3	-5.65	-0.81	4.83	165.38	74.19
4	-5.64	-0.77	4.87	165.12	77.03
5	-5.67	-0.81	4.87	165.44	75.36
6	-5.62	-0.85	4.77	164.05	81.65
7	-5.60	-0.76	4.84	163.46	78.72
8	-5.65	-0.80	4.85	164.96	79.80
9	-5.63	-0.77	4.86	164.01	78.37
10	-5.84	-1.40	4.44	170.58	73.76
11	-5.79	-1.24	4.54	168.72	68.09
12	-5.68	-1.22	4.46	169.45	79.27

Os resultados mostram que derivados com valores de EDL_{CH} menores que 81,06 kcal/mol⁻¹ podem ser mais ativos que a edaravona. Exceto o composto 6, todos os demais apresentaram o referido parâmetro molecular favorável à uma maior capacidade antioxidante. Essa influência eletrônica é decorrente dos substituintes alquílicos, heterocíclicos/arílicos na posição 4 do anel pirazolona, os quais por efeitos indutivos e de ressonância respectivamente, bem como, por contribuírem com o aumento da rigidez do anel pirazolona podem estabilizar de forma mais eficiente o radical livre formado após a abstração de um elétron ou hidrogênio.

Conclusões

Os cálculos moleculares mostraram que os derivados heterocíclicos são os mais promissores como antioxidantes por transferência de elétron ou hidrogênio e os orbitais do heteroátomo tem uma efetiva contribuição na estabilidade da carga formada por efeito de ressonância.

Agradecimentos

CNPq.

¹ Tabrizchi, R. Edaravone, Mitsubishi-Tokyo. *Curr Opin Investig Drugs* **2000**, *1*, 347.

² Wang, L.F.; Zhang, H.Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3789.

³ Borges, R. S.; Queiroz, A. N.; Mendes, A. P. S.; França, L. C.S.; da Silva, A. B.F.; Araújo, S. C. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 7594.

⁴ Lapchak, P. L.; Zivin, J. A. *Exp. Neurol.* **2009**, *215*, 95.

⁵ Abe M, Kaizu K, Matsumoto K. *Ther Apher Dial* **2007**, *11*, 235.

⁶ Borges, R. S.; Queiroz, A. N.; Silva, J. R.; Mendes, A. P. S.; Herculano, A. M.; Chaves Neto, A. M. J.; da Silva, A. B. F. *Struct. Chem.* **2013**, *24*, 349.

Estrutura, reatividade e propriedades da hidroxilação regioseletiva do ácido Diclofenaco

Ana Carolina S. da P. S. de Jesus (IC)¹, Jayanne L. C. Gomes (IC)¹, Paulo A. P. F. G. Neves (PG)¹,
Fernanda M. Costa (PG)¹ e Rosivaldo S. Borges (PQ)^{1*} lqfmed@gmail.com

¹Universidade Federal do Pará, Faculdade de Farmácia, Rua Augusto Corrêa s/n, Guamá, Belém - PA).

Palavras Chave: Ácido diclofenaco, hepatotoxicidade, hidroxilação, estabilidade química.

Introdução

Diclofenaco é um anti-inflamatório não-esteroidal (AINE) que tem atividade analgésica, anti-inflamatória e antipirética.¹ É um dos AINEs mais consumidos em todo o mundo, frequentemente prescritos no tratamento de artrite, reumatismo, espondilite anquilosante e na dor muscular aguda.² Ele atua por inibição da ciclooxigenase, impedindo a produção de prostaglandina, a principal causa de inflamação, a partir do ácido araquidônico¹. No entanto, alguns de seus metabólitos são tóxicos. Assim, este trabalho estuda a influência estrutural na sua reatividade e hidroxilação regioseletiva.

Resultados e Discussão

Os resultados dos cálculos moleculares usando DFT/B3LYP/6-31(d,p) indicam a forte influência dos grupos cloro sobre os parâmetros conformacionais e eletrônicos quando comparado ao grupo fenilacético (Tabela 1).

Contudo, o grupo difenilamina é o maior responsável pela alta nucleofilicidade e a potente capacidade doadora de elétrons, devido ao aumento dos valores de HOMO e diminuição dos valores de potencial de ionização, respectivamente.

Assim, os resultados indicam uma dupla função para os átomos de cloro.

Figura 1. Estrutura química dos derivados.

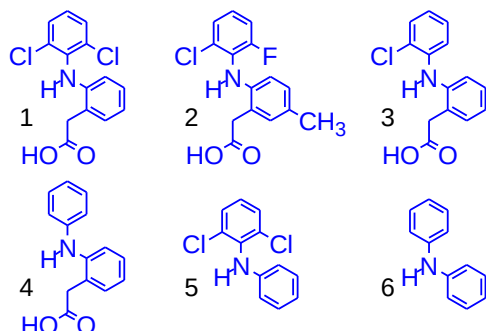


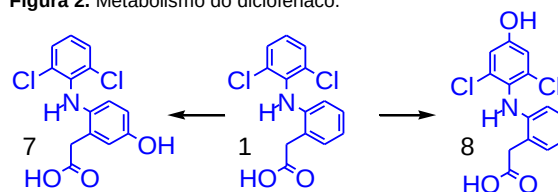
Tabela 1. Propriedades eletrônicas teóricas dos derivados.

Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (kcal/mol)
1	-5,77	-0,71	5,05	169,61
2	-5,62	-0,62	5,00	166,61
3	-5,47	-0,48	4,98	163,12
4	-5,28	-0,28	5,00	159,51
5	-5,56	-0,68	4,87	166,83
6	-5,09	-0,14	4,95	156,41
7	-5,50	-0,65	4,85	163,52
8	-5,58	-0,82	4,75	164,85

De fato, a influência do halogênio na molécula do diclofenaco pôde ser comprovada com o aumento do potencial de ionização (PI) e menores valores de GAP, principalmente os compostos 2, 3 e 5.

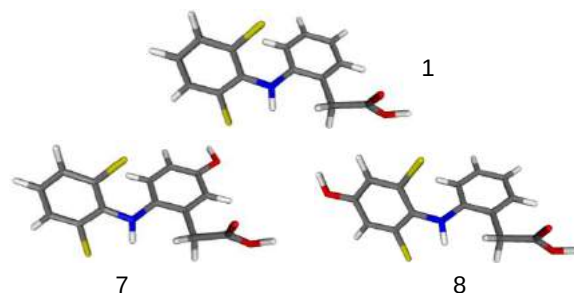
Adicionalmente, a hidroxilação do diclofenaco pode formar dois derivados, sendo que o composto fenilacético é potencialmente mais nucleofílico e com menor potencial de ionização que o derivado diclorofenil (Figura 2). Os resultados podem também inferir sobre a toxicidade do diclofenaco, especialmente devido a possibilidade de formação de derivados semiquinonas e quinonas.

Figura 2. Metabolismo do diclofenaco.



A hidroxilação do diclofenaco tem pouca influência sobre a conformação molecular, como pode ser observado na Figura 3, onde nenhuma variação no ângulo de torção do sistema difenilamina foi observado.

Figura 3. Estrutura otimizada do ácido diclofenaco e metabólitos usando DFT / B3LYP / 6-31 + G (d, p).



Conclusões

Os estudos mostraram uma forte influência do caráter elétron doador dos átomos de cloro sobre o grupo acetato, bem como das hidroxilas adicionais.

Agradecimentos

CNPq.

¹Krasniqi V, Dimovski A, Domjanović IK, Bilić I, Božina N. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2016. 67.1-8.

²Tang, W. *Enzymology and Toxicology Perspectives*. 2003. 4. 319-329.

Estrutura e capacidade antioxidante de derivados de sesamol 6-substituído

Ivanete Cardoso Palheta (PG), Rosivaldo dos Santos Borges (PQ)*

Núcleo de Estudos e Seleção de Moléculas Bioativas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, PA, Brasil. iqfmed@gmail.com*

Palavras Chave: Derivação molecular, sesamol, antioxidante, DFT, relação estrutura-atividade.

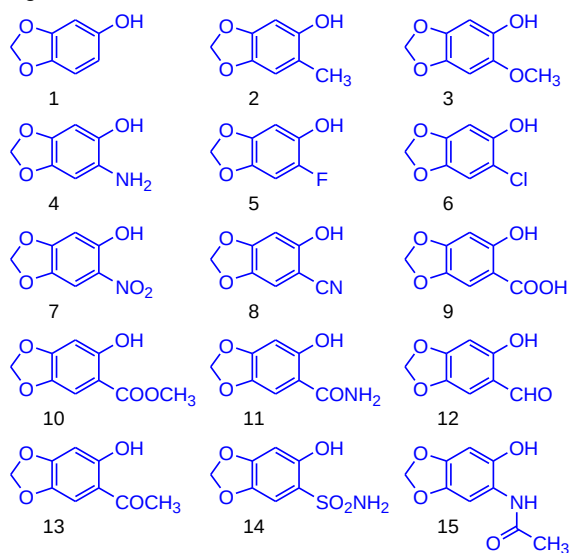
Introdução

O sesamol ou 5-benzodioxolol é um composto que devido à presença dos grupos fenol e éter cíclico na posição *para* do anel aromático possui potente ação antioxidante¹. Está presente no óleo da semente de gergelim (*Sesamum indicum* L.), Pedaliaceae, que apresenta atividade citoprotetora, antimutagênica e hepatoprotetora². Contudo, nenhum dos derivados sintéticos do sesamol demonstrou maior capacidade antioxidante. O objetivo deste trabalho é determinar a influência de diferentes grupos elétron-doadores (GED) e elétron-aceptores (GEA) no anel aromático, preferencialmente na posição 6 do sesamol (posição *orto* em relação ao grupo OH), visando desenvolver derivados mais potentes do sesamol.

Resultados e Discussão

Os derivados foram planejados com base nos métodos de estudos reportados previamente para seleção e síntese de compostos antioxidantes², onde as modificações moleculares seguiram os padrões estruturais apoiados em métodos de planejamento racional³.

Figura 1. Estrutura dos derivados do sesamol.



A modelagem molecular usando o método DFT/B3LYP/6-31G(d,p) foi realizada visando estabelecer a relação entre a estrutura química e a provável capacidade antioxidante⁴ dos compostos a fim de selecionar as moléculas com maior potencial antioxidante. Os métodos de estudos teóricos por meio de cálculos computacionais foram realizados utilizando os programas HyperChem 7.5, ChemDraw

7.0 e Gaussian 09. Os resultados do estudo teórico são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Propriedades teóricas dos derivados estudados.

Derivados	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	IP (kcal/mol)
1	-5,26	0,06	5,32	169,01
2	-5,08	0,17	5,25	162,95
3	-4,87	0,22	5,09	157,54
4	-4,66	0,26	4,92	153,22
5	-5,35	-0,14	5,21	171,18
6	-5,51	-0,31	5,19	172,43
7	-6,18	-2,52	3,66	187,44
8	-5,94	-1,22	4,72	181,71
9	-5,66	-1,29	4,37	175,54
10	-5,56	-1,17	4,39	172,31
11	-5,53	-1,07	4,45	172,06
12	-5,79	-1,72	4,07	178,59
13	-5,64	-1,54	4,10	174,30
14	-5,75	-0,64	5,08	175,83
15	-5,06	-0,18	4,87	159,25

Os resultados mostraram que compostos contendo GED apresentaram altos valores de energia do orbital molecular ocupado de maior energia HOMO como o derivado 4 (-4,66 eV), enquanto que aqueles contendo GEA apresentaram os valores mais baixos como o composto 7 (-6,18 eV). Todos os compostos exibiram um valor de GAP mais baixo que o sesamol, principalmente devido os baixos valores de HOMO e LUMO. O mesmo comportamento foi observado para o PI, onde os compostos contendo GED apresentaram os mais baixos valores de PI, enquanto que os que apresentam GEA possuem os mais altos valores.

Conclusões

Os cálculos mostraram que as moléculas contendo um grupo elétron doador na posição 6 aumentaram a nucleofilicidade e diminuíram o potencial de ionização, com possível maior potencial antioxidante que o sesamol por transferência de elétrons.

Agradecimentos

Ao CNPq e FAPESPA pelo apoio financeiro.

¹ Joshi, R.; Kumar, M. S.; Satyamoorthy, K.; Unnikrisnan, M. K.; Mukherjee, T. J. *Food Chem.* **2005**, 53, 2696-2703.

² Rodríguez, S. A.; Nazareno, M. A.; Baumgartner, M. T. *Aust. J. Chem.* **2013**, 66, 1334-1341.

³ Carvalho, I.; Pupo, M. T.; Borges, A. D. L.; Bernardes, L. S. C. *Quim. Nova* **2003**, 263, 428-438.

⁴ Arroio, A.; Honório, K. M.; Silva, A. B. F. *Quim. Nova* **2010**, 33, 694-699.

⁵ Borges, R. S.; Queiroz, A. N.; Mendes, A. P. S.; Araújo, S. C.; Franca, L. C. S.; Franco, E. C. S.; Leal, W. G.; Silva, A. B. F. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, 13, 7594-7606.

A composição química e a atividade antioxidante do óleo essencial de *Psidium guineense*.

Renan C. e Silva¹ (IC), Jamile S. da Costa¹ (IC), Marcus Vinícius S. Gomes¹ (IC), Joyce Kelly do R. da Silva¹ (PQ), José Guilherme S. Maia¹ (PQ), Pablo Luis B. Figueiredo¹ (PG)*.

¹Universidade Federal do Pará

redaweb2011@hotmail.com

Palavras Chave: Myrtaceae, araçá, DPPH.

Introdução

Espécies do gênero *Psidium* (Myrtaceae) apresentam muitas propriedades farmacológicas em seus óleos essenciais, possuindo frutos ricos em substâncias antioxidantes¹.

Psidium guineense é um arbusto conhecido como araçá, na medicina popular é utilizado como anti-inflamatório, seus frutos são utilizados na fabricação de geleias e sorvetes².

Diante do exposto, este trabalho avaliou a composição química e a atividade antioxidante do óleo essencial do *Psidium guineense*.

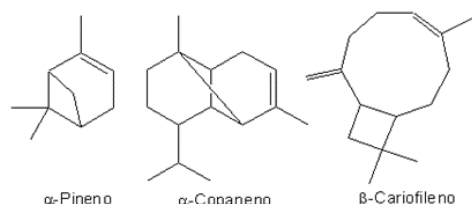
Resultados e Discussão

O material botânico foi coletado no município de Curuçá (PA), no mês de agosto. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação (3 hs).

O rendimento em óleo foi de 0,61%. A Tabela 1 apresenta os compostos químicos identificados (CG-MS) em ordem crescente de índice de retenção (IR).

Foram identificados 108 compostos que compreendem 93,32% de seu conteúdo total, o monoterpeno hidrocarboneto α -Pineno (30,23%) foi o composto com maior teor, seguido dos sesquiterpenos α -Copaeno (10,61%) e β -Cariofileno (9,25%), os quais têm suas estruturas químicas mostradas na Figura 1.

Figura 1. Compostos majoritários do óleo essencial de *Psidium guineense*.



Fonte: Nist, 2011

O óleo essencial não mostrou atividade antioxidante frente ao método de sequestro de radicais livres do DPPH com inibição 0%.

Tabela 1. Compostos majoritários do óleo essencial de *Psidium guineense* (>1,5%).

IR _(c) *	IR _(l)	Componente	%
936	932	α-Pineno	30,23
978	974	β -Pineno	4,62
1029	1024	Limoneno	3,69
1378	1374	α-Copaene	10,61
1422	1417	β-Cariofileno	9,25
1525	1522	δ -Cadineno	2,21
1585	1582	Óxido de Cariofileno	2,34
1631	1630	Muurola-4,10(14)-dien-1 β -ol	3,97
1639	1642	Cariofila-4(12),8(13)-dien- α -ol	1,99
1643	1638	<i>epi</i> - α -cadinol	1,75
1657	1652	α -Cadinol	1,54
		Outros	0,78
		Monoterpenos Hidrocarbonetos	41,45
		Monoterpenos Oxigenados	6,07
		Sesquiterpenos Hidrocarbonetos	28,62
		Sesquiterpenos oxigenados	16,40
		Total identificado	93,32

IR_(c): Índice de Retenção calculado; IR_(l): Índice de Retenção da literatura; *: Calculado a partir de uma série de n-alcanos (C8-C20) em coluna DB5-MS.

Conclusões

As classes dos monoterpenos e sesquiterpenos desoxigenados predominaram no óleo essencial de *Psidium guineense*. Quanto a atividade antioxidante, o óleo essencial não mostrou atividade frente ao método do DPPH.

Agradecimentos

UFPA; PIBIC-UFPA, CAPES-PROAMAZÔNIA.

¹FRANZON, R. C. et al. Raças do gênero *Psidium*: Principais espécies, ocorrências, descrição e usos. Planaltina, DF: Embrapa cerrados, 2009.

²*Psidium* in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10853>>. Acesso em: 11 Nov. 2016.

Estudos computacionais de Dinâmica Molecular para derivados estatínicos contra a Hipercolesterolemia.

Jéssica de Oliveira Araújo (IC)¹, Clauber H. S. Costa (PG)⁴, Amanda R. S. Oliveira (PG)⁴, Rutelene N. B. de Sousa (IC)¹, João E. V. Ferreira (PQ)², Antonio F. Figueiredo (PQ)³, Solange M. V. Corrêa (PQ)¹, Ricardo Morais de Miranda(PQ)^{1*}.

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará - Campus Belém,

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará - Campus Tucuruí,

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará - Campus Castanhal,

⁴ Universidade Federal do Pará, Campus Guamá.

Av. Alm. Barroso, 1155 - Marco, Belém - PA, 66093-020; Rua Porto Colombo, 12 - Vila Permanente, Tucuruí - PA, 68455-695, BR 316; Km 61 - Saudade II - Cristo Redentor, Castanhal - PA, 68740-970; Rua Augusto Corrêa, 1 - Guamá, Belém - PA, 66075-110.

Palavras Chave: *Estatinas, Hipercolesterolemia, Derivados, Dinâmica Molecular.*

Introdução

A hipercolesterolemia é uma doença caracterizada pela elevação do colesterol, acarretando na formação de placas gordurosas que impedem a circulação do sangue nas artérias, no que resulta em inúmeros problemas como acidentes vasculares cerebrais, infartos e aneurismas¹. Essa doença é associada ao principal fator de risco para doenças cardiovasculares², que atualmente é a causa número um em mortes com 17,5 milhões de vítimas no mundo todo, representando 31% de mortes globais. Dentre elas, 7,4 milhões foram devido as doenças coronárias e 6,7 milhões foram devido a acidente vascular cerebral, segundo a Organização Mundial da Saúde³. A atual estratégia para o tratamento dessa dislipidemia são as estatinas que apresentam o grupo farmacológico δ -lactônica, sendo similar ao mevalonato⁴, agem por meio de inibição competitiva reversível com o substrato HMG-CoA. As estatinas são inibidoras da enzima 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A redutase (HMGR), que é responsável por catalisar a transformação do substrato HMG-CoA em mevalonato que após sofrer várias reações de ciclização chega ao colesterol. Então inibir a função da enzima é o principal alvo para o tratamento da hipercolesterolemia. Os derivados escolhidos para este estudo foram retirados da literatura e distintos de acordo com a sua eficácia biológica⁵, os selecionando da seguinte forma: menor IC₅₀ em hepatócitos foi assumido como composto mais ativo (Hep IC₅₀ = 0.25 nM) e maior IC₅₀ em hepatócitos foi assumido como composto menos ativo (Hep IC₅₀ = 5.00 nM). Os compostos foram desenhados em 3D com o programa Avogadro e submetidos a cálculos de otimização molecular utilizando o método DFT (*Density functional theory*) onde as propriedades de um sistema de muitos elétrons podem ser determinadas usando funcionais, neste caso, é a densidade eletrônica. O funcional utilizado foi o B3LYP e função de base 6-31+g*, conjuntos estendidos de funções Gaussianas contraídas (GTF, *Gaussian Type Function*). Em seguida foram atribuídas cargas RESP (*Restrained Electrostatic*

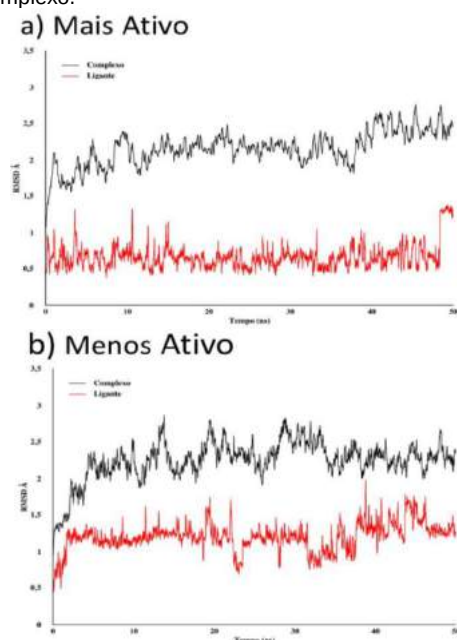
Potential) para calcular as cargas atômicas parciais, sendo considerada como a melhor forma de atribuir cargas eletrostática com base na simulação de mecânica quântica⁶. As otimizações e atribuições de cargas foram realizadas com o programa Gaussian 03⁷, obtendo-se estruturas com os mínimos energéticos e maiores estabilidades. As simulações de Dinâmica Molecular foram realizadas para analisar o comportamento dos sistemas com os ligantes mais e menos ativo, em função do tempo. Os dois compostos, otimizados e com as cargas corretas foram alinhados ao sítio ativo da enzima HMGR (PDB: 3BGL) com o programa Pymol⁸, e começou-se a preparação dos complexos para a produção de DM com o pacote de programas AMBER 12^{9,10}, o campo de força AMBER ff99SB¹¹ foi usado para descrever o solvente e a enzima, enquanto que o GAFF¹², campo de força geral do AMBER, foi utilizado para descrever os ligantes. A proteína foi retirada do banco de dados PDB preparada e renumerada deixando apenas a enzima, utilizando as cadeias A e B, região que apresenta o sítio ativo. Verificaram-se os estados de pKa utilizando a plataforma online PDB2PQR¹³. Os complexos foram formados com o programa TLEAP¹⁴ disponível com o AMBER, o sistema foi solvatado com uma caixa octaédrica truncada de 15.0 Å, com moléculas de água do tipo TIP3P¹⁵, e adicionados íons de Cl⁻ para neutralizar as cargas do sistema. Para o complexo mais ativo, foram realizadas quatro etapas de minimização variando as forças de restrições para o sistema, partido de 500 e reduzindo até o último passo sem aplicar força nenhuma. E para o complexo menos ativo foi necessária realizar seis etapas de minimização, partindo também de 500, porém com intervalos menores de restrições, até o último passo sem a aplicação de restrição. Os dois sistemas então foram aquecidos de 0 a 300K (27°C), correspondendo à temperatura ambiente, e equilibrados com 10 ns de DM livre mantendo ensemble canônico. Após isso se realizaram as produções de 50 ns de simulações de DM a fim de obter resultados sobre o comportamento do receptor e do ligante, por meio dos gráficos de desvio médio

quadrático (RMSD) e Gráficos de flutuações atômicas (RMSF).

Resultados e Discussão

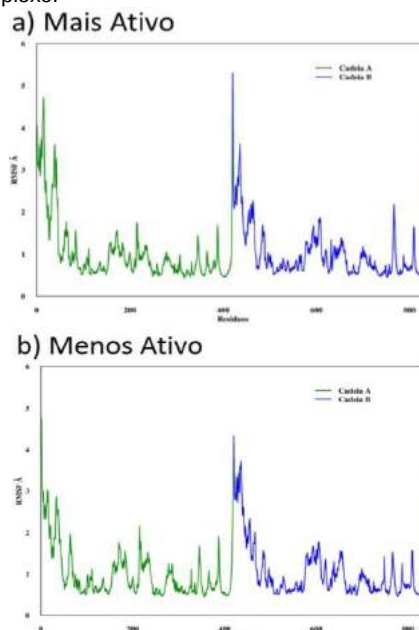
A partir das simulações de Dinâmica Molecular, foi possível extrair os gráficos de desvio médio quadrático e flutuações atômicas, que permitem analisar o comportamento do receptor e ligante ao longo da DM, na figura 1 a) apresenta os gráficos de RMSD do ligante mais ativo e do complexo, e na figura 1 b) apresenta os gráficos de RMSD do ligante menos ativo e o complexo, os dois complexos foram formados com a enzima HMGR.

Figura 1 a) Gráfico de RMSD para o ligante mais ativo e complexo; **b)** Gráfico de RMSD para o ligante menos ativo e complexo.



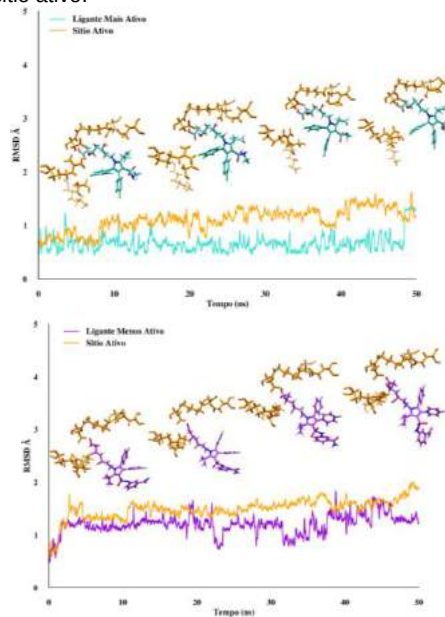
Nestes gráficos, é possível observar um comportamento com constantes variações para ambos os complexos, com valores de desvios do RMSD abaixo de 3 Å, o receptor possui duas cadeias com regiões que apresentam regiões de N e C-terminais que possuem uma grande mobilidade, evidenciando uma grande influência do receptor no gráfico de RMSD para os complexos, os ligantes apresentam comportamentos similares acompanhando os desvios do complexo. A figura 2 a) mostra o gráfico de RMSF para o ligante mais ativo, e a figura 2 b) mostra o gráfico de RMSF para o ligante menos ativo, os dois gráficos foram realizados para as cadeias A e B, onde aponta as principais flutuações dos resíduos da enzima HMGR, os resíduos N e C-terminais apresentam flutuações próximo a 5 Å, em ambas as cadeias. O restante dos resíduos não apresentam grandes flutuações, que estão próximas a 2 Å, tanto para cadeia A como para a cadeia B. Os gráficos de RMSF mostram a grande mobilidade dessas regiões N e C-terminais ao longo do tempo de simulações de DM.

Figura 2 a) Gráfico de RMSF para o ligante mais ativo e complexo; **b)** Gráfico de RMSF para o ligante menos ativo e complexo.



A figura 3 a) mostra os gráficos de RMSD para o ligante mais ativo e o sítio ativo da enzima HMGR e a figura 3 b) mostra os gráficos de RMSD para o ligante menos ativo e o sítio ativo da enzima HMGR para o sítio. O sítio ativo está localizado entre as cadeias A e B, que possuem os resíduos catalíticos: Glu559, Asn755, Lys691, Asp690, Lys735, Ser684 e Arg590, que interagem por meio de ligações de hidrogênio com a região farmacológica dos derivados das estatinas.

Figura 3 a) Gráfico de RMSD para o ligante mais ativo e o sítio ativo; **b)** Gráfico de RMSD para o ligante menos ativo e o sítio ativo.



Com os gráficos RMSD é possível observar os desvios para o ligante e o sítio ativo, esses desvios

foram abaixo de 2 Å, para os dois sistemas, evidenciando um comportamento similar durante os 50 ns de DM. O ligante mais ativo sofre um desvio entre 45 e 50 ns que resulta em uma variação conformacional proporcionado um melhor “encaixe” desse ligante, apontando que essa aproximação aos resíduos catalíticos favoreça a realização de mais interações de hidrogênios que estabilizam esse ligante ao final dos 50 ns de DM. O ligante menos ativo em comparação ao mais ativo, possui um gráfico de RMSD com mais desvios devido esse ligante possui maiores variações conformacionais e um diferente encaixe que dificulta as interações com o sítio ativo, apesar dessa dificuldade ele realiza interações, porém são menores que o ligante mais ativo. Confirmando que a DM confirma os dados experimentais a respeito de atividade biológica.

Conclusões

Com os resultados obtidos através das simulações de Dinâmica Molecular, foi possível observar que com os gráficos de RMSD para os ligantes, o ligante mais ativo devido sua atividade biológica apresenta um melhor comportamento durante os 50 ns de Dinâmica Molecular, tendo um desvio entre 45 e 50 ns que possibilitam uma aproximação desse ligante com os resíduos catalíticos que fazem parte do sítio ativo que possibilitam a realização de mais interações de hidrogênio aumentando sua estabilidade. Já para o ligante menos ativo temos um gráfico com muitos desvios, que resultam em um menor numero de interações. Comparando os resultados para os ligantes mais ativo e menos ativo, é possível observar que os inibidores (mesmo sofrendo variações e mudanças conformacionais ao longo do tempo de dinâmica) se conservam no sítio ativo de ligação, mantendo e formando novas interações para permitir a sua estabilidade química. Os inibidores estatínicos se provaram eficiente, uma vez, que se mantem no sítio ativo da proteína e se complexando com a enzima HMGR sem provocar nenhuma mudança drástica no sistema. O grupo farmacológico dos derivados das estatinas é responsável por exercer as principais interações nos levando a evidencias de que possui características necessárias para manter interações e afinidade química com os resíduos do sítio ativo. Portanto, esses derivados das estatinas combinado com a enzima HMGR, é uma estratégia eficaz para o desenvolvimento racional de fármacos, podendo inibir a via de produção do colesterol.

Agradecimentos

Agradeço ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, a Diretoria de pesquisa, pós-graduação e inovação. Ao professor orientador Ricardo Moraes de Miranda, e ao grupo de pesquisa do Laboratorio de Química Computacional (LQC).

Akira Endo. Compactin (ML-236B) and Related Compounds as Potential Cholesterol-Lowering Agents That Inhibit HMG-CoA Reductase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1985, Vol. 28, No. 4.

² Jeffrey A. Pfefferkorn, Chulho Choi, Scott D. Larsen, Bruce Auerbach, Richard Hutchings, William Park, Valerie Askew, Lisa Dillon, Jeffrey C. Hanselman, Zhiwu Lin, Gina H. Lu, Andrew Robertson, Catherine Sekerke, Melissa S. Harris, Alexander Pavlovsky, Graeme Bainbridge, Nicole Caspers, Mark Kowala, and Bradley D. Tait. Substituted Pyrroles as Hepatoselective HMG-CoA Reductase Inhibitors: Discovery of (3R,5R)-7-[2-(4-Fluoro-phenyl)-4-isopropyl-5-(4-methyl-benzylcarbamoyl)-2H-pyrazol-3-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic Acid (PF-3052334) as a Candidate for the Treatment of Hypercholesterolemia. *J. Med. Chem.* 2008, 51, 31–45.

³ WHO, Cardiovascular diseases (CVDs). WHO Fact Sheet No. 317. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> (acesso 2 de novembro, 2016).

⁴ Francisco Antonio Helfenstein Fonseca. Farmacocinética das estatinas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Volume 85, Suplemento V, Outubro 2005.*

⁵ William K. C. Park, Robert M. Kennedy, Scott D. Larsen, Steve Miller, Bruce D. Roth, Yuntao Song, Bruce A. Steinbaugh, Kevin Sun, Bradley D. Tait, Mark C. Kowala, Bharat K. Trivedi, Bruce Auerbach, Valerie Askew, Lisa Dillon, Jeffrey C. Hanselman, Zhiwu Lin, Gina H. Lu, Andrew Robertson and Catherine Sekerke. Hepatoselectivity of statins: Design and synthesis of 4-sulfamoyl pyrroles as HMG-CoA reductase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18 (2008) 1151–1156.

⁶ Bayly, C. I.; Cieplak, P.; Cornell, W.; Kollman, P. A. A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: The RESP model. *J. Phys. Chem.* 1993, 97, 10269–10280.

⁷ Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, Jr., J. A.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; and Pople, J. A.; Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.

⁸ DeLano WL. The PyMOL Molecular Graphics System on World Wide Web. 2002. <http://www.pymol.org>

⁹ Case DA, Cheatham TE, Darden T, et al., The Amber Biomolecular Simulation Programs, *J. Comput. Chem.*, 26 2005; 26: 1668-1688.

¹⁰ Case DA, Darden TA, Cheatham TE, et al., Amber12, San Francisco: University of California, 2012.

¹¹ Hornak V, Abel R, Okur A, et al., Comparison of Multiple Amber Force Fields and Development of Improved Protein Backbone Parameters, *Proteins*, 65 2006; 65: 712-725.

¹² Wang JM, Wolf RM, Caldwell JW, et al., Development and Testing of a General Amber Force Field, *J. Comput. Chem.*, 25 2004; 25: 1157-1174.

¹³ Dolinsky TJ, Nielsen JE, McCammon JA, Baker NA. PDB2PQR: an automated pipeline for the setup, execution, and analysis of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic Acids Research* 32 W665-W667 (2004).

¹⁴ Wang, J. M.; Hou, T. J.; Xu, X. J. Recent Advances in Free Energy Calculations with A Combination of Molecular Mechanics and Continuum Models. *Curr. Comput.-Aided Drug Des.* 2006, 2, 287–306.

¹⁵ Jorgensen, W.; Chandrasekhar, J.; Madura, J.; Impey, R.; Klein, M. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* 1983, 79, 926–935.

Análise conformacional da piperina (*Piper nigrum* L.)

Christiane Patrícia Oliveira de Aguiar¹, Rosivaldo dos Santos Borges^{2*}. lqfmed@gmail.com

1. Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas, Universidade Federal do Oeste do Pará (PG), Santarém (PA), Brasil.

2. Faculdade de Farmácia, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará (PQ), Belém (PA), Brasil.

Palavras Chave: piperina, *Piper nigrum* L., derivação molecular, planejamento de fármacos, modelagem molecular.

Introdução

Os metabólitos secundários produzidos pela flora despertam grande interesse das indústrias farmacêuticas, que buscam novas drogas a partir dos compostos naturais ou derivados destes, para o tratamento de patologias infecciosas, neurológicas, inflamatórias, imunológicas, dentre outras.¹

A piperina é um alcaloide extraído do *Piper nigrum* Linn, uma planta que pertence à família Piperaceae, conhecida popularmente como pimenta-do-reino, com grande potencial para a produção de novos fármacos²⁻⁴. Suas atividades biológicas incluem antitumoral, antibacteriana, antiespermatogênica, antiparasitário, antidepressiva, antiinflamatória, antidiarreica, hepatoprotetora, antioxidante, contra doenças gástricas, antiespasmódica, antireoidiana, inseticida, anticonvulsivante, antipirética.^{3,5}

Ela apresenta 3 subunidades possíveis de modificação molecular: um grupo 1,3-benzodioxola (subunidade A em vermelho) unido a uma cadeia de butadieno (subunidade B em verde) e, este, ligado ao fragmento amida (subunidade C em azul) (Figura 1). Até o momento os esforços se concentraram no fragmento C.

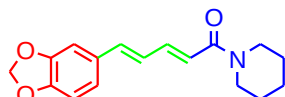


Figura 1. Piperina.

Resultados e Discussão

A análise conformacional foi realizada através da otimização da geometria de cada conformero, com torções preferenciais sobre o sistema butadieno e carbonila da piperina. Eles foram efetuados usando os programas computacionais HyperChem 8.5 e ChemOffice 5. As energias de cada conformação foram comparadas entre si para a determinação da estrutura de menor energia e prever a reatividade química. O estudo conformacional visa identificar a possibilidade de o sistema funcionar como um reagente de Diels-Alder.

De fato, a análise conformacional permite a predição e interpretação das propriedades químicas ou físicas de uma molécula através da diversificação de suas conformações utilizando programas computacionais, permitindo o conhecimento e o detalhamento das geometrias de equilíbrio, bem como a orientação dos grupos funcionais de seus conformeros, que além de permitir a descoberta de aspectos ligados à interação, mostra também a reatividade da molécula ao seu receptor específico.^{6,7}

Os conformeros da piperina escolhidos (Figura 2) que exibiram as conformações estáveis foram as moléculas 1 (-81,22776 kcal.mol⁻¹) e 3 (-81,13348 kcal.mol⁻¹). Portanto, estas conformações foram as que apresentaram maior estabilidade e a menor barreira de energia para o sistema butadieno, possivelmente devido repulsão estérica com o anel piperidina. Esse resultado preliminar pode explicar a excelente estabilidade química da piperina, extraída do *Piper nigrum* Linn.

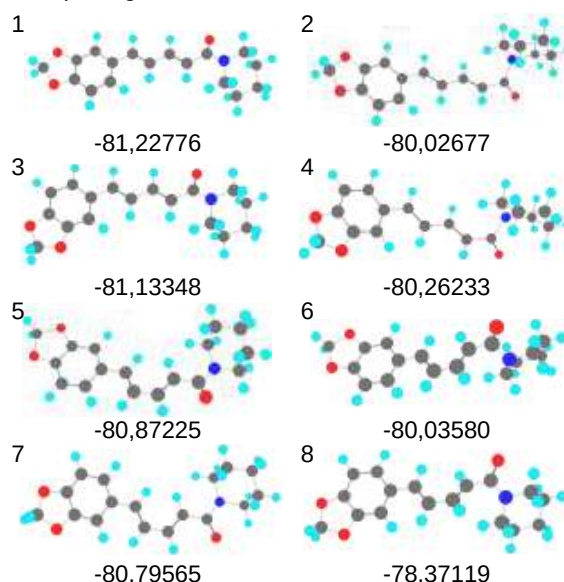


Figura 2. Estrutura e energia (kcal.mol⁻¹) dos conformeros.

Conclusões

A análise conformacional da piperina mostrou as conformações mais estáveis, pela repulsão estérica do alceno e piperidina, explicando a alta estabilidade química do dieno. Os cálculos computacionais prosseguem com o uso do DFT/B3LYP/6-31G.

Agradecimentos

Ao CNPq e FAPESPA pelo apoio financeiro.

¹ Butler, M. S. *Nat. Prod. Rep.* **2008**, 25, 475.

² Semler, U.; Gross, G. G. *Phytochemistry*. **1998**, 27, 1566.

³ Ferreira, W. S.; Franklin, T. N.; Lopes, N. D. e de Lima, M. E. F. *Revista Virtual de Química*. **2012**, 4 (3), 208-224.

⁴ Derosa, G.; Maffioli, P. e Sahebkar, A. *Adv Exp Med Biol.* **2016**, 928, 173-184.

⁵ Ahmad, N.; Fazal, H.; Abbasi, B. H.; Farooq, S.; Ali, M. e Khan, M. A. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. **2012**, S1945-S1953.

⁶ Eliel, E. L.; Wilen, S.H. *Stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley, New York, 1994.

⁷ Rodrigues, C.R. *Quím. Nova*. **2001**, 3, 43.

Reatividade e capacidade redox da parte nitro-azólica da nitazoxanida

Lanalice R. Ferreira (PG)¹, Joyce K. L. Vale (PG)², Rosivaldo S. Borges (PQ)^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade de Federal do Pará. ²Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade de Federal do Pará. lqfmed@gmail.com

Palavras Chave: heterocíclcos, nitazoxanida, modelagem molecular, estabilidade química, redox, DFT.

Introdução

A nitazoxanida ou 2-acetiloxi-N- (5-nitro-2-tiazolil) benzamida (Figura 1) é um composto ativo aplicado no tratamento de protozoários intestinais, infecções helmínticas e bactérias anaeróbias.¹ O composto não é desprovido de efeitos secundários, precisando de estudos que elucidem seu mecanismo molecular de ação, determine sua estabilidade química e sua potência.² Basicamente, a molécula contém dois grupos reativos: o éster para reações de hidrólise ou transesterificação e o nitro para reações redox. De fato, o nitro está envolvido na formação de compostos reativo tóxico de nitrocompostos.³

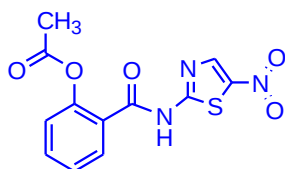


Figura 1. Fórmula estrutural da nitazoxanida.

O cálculo computacional de estrutura molecular é uma ferramenta essencial no estudo de fármacos,⁴ determinando reatividade química e propriedades moleculares. Estes métodos foram aplicados no estudo da reatividade química e capacidade redox da nitazoxanida relacionada ao grupo nitro.

Resultados e Discussão

As estruturas de menor energia para nove derivados simplificados da nitazoxanida foram encontradas após análise conformacional, usando o Gaussian 09,⁵ onde R é um grupo formil (HC=O) (Figura 2).

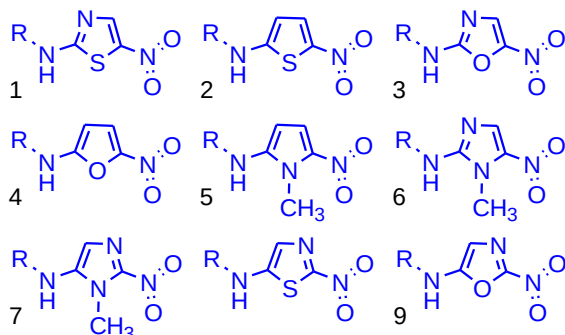


Figura 2. Derivados simplificados da nitazoxanida.

Os valores de energia foram relacionados a reatividade e a capacidade redox usando os orbitais

moleculares: ocupado de mais alta energia (HOMO) e desocupado de mais baixa energia (LUMO), os valores de GAP (Tabela 1). Para os resultados de HOMO encontra-se o menor valor para o derivado oxazólico 3 e o menor valor para a tiofênica 2.

Tabela 1. Propriedades teóricas dos derivados.

Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)
1	-7,15	-2,76	4,38
2	-6,35	-1,30	5,05
3	-7,27	-2,71	4,55
4	-6,61	-2,36	4,24
5	-6,49	-2,08	4,41
6	-6,89	-2,38	4,51
7	-6,99	-2,83	4,16
8	-7,05	-2,77	4,27
9	-6,91	-2,38	4,52

Dentre os valores de LUMO os derivados 7 e 8 apresentaram os menores valores. Este orbital indica a facilidade de receber elétrons, um dos mecanismos para os nitroderivados. A presença de grupos nitro nas moléculas eleva os valores de LUMO, estes são as causas dos problemas de reações redox, sendo o grupo nitro um forteceptor de elétrons, no entanto, também possuem uma importante atividade terapêutica. Modificações no anel tiofeno podem reduzir o potencial redox do composto alterando a reatividade e a toxicidade. Assim, os valores de HOMO e LUMO sugerem que quanto maior o potencial doador de elétrons, maior a toxicidade e atividade.

Diante dos resultados de GAP o composto 7 obteve menor valor, este que é um importante indicador de reatividade do composto, quanto menor é o GAP, mais reativa é a molécula.³

Conclusões

Os parâmetros analisados a fim de obter moléculas mais estáveis foram analisados usando métodos computacionais, onde algumas moléculas podem ser modificadas, mas melhores estudos são necessários tais como o potencial redox.

Agradecimentos

CNPq.

¹Gilles, H. M.; Hoffman, P. S. *Trends Parasitol.* **2002**, 18, 95-97.

²Fox, L. M.; Saravolatz, L. D. *Clin. Infec. Dis.* **2005**, 40, 1131-38.

³Carvalho, I.; Pupo, M. T.; Borges, A. D. L.; Bernardes, L. S. C. *Quím. Nova.* **2003**, 26, 428-438.

Estudo do sítio catalítico da EcAIII por meio de docking molecular

Ronaldo Correia da Silva¹, Adonis de Melo Lima², Sérgio A. Ramos^{3,4}, Jhully H. Silva^{3,4}, Wendel Gomes^{3,4}, Tainá dos Anjos^{3,4}.

¹Laboratório de Tecnologia Biomolecular, Universidade Federal do Pará (UFPA) (PG)

²Laboratório de Modelagem em Sistemas Biológicos, Faculdade Integrada Brasil Amazônia (FIBRA) (PG)

³Universidade da Amazônia (UNAMA) (IC)

⁴Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) (IC)

Ronaldo Correia da Silva*

Sérgio Augusto Antunes Ramos

¹Rua Augusto Corrêa 01, Guamá, Belém – PA, Brazil, Cep 66075-110

²Avenida Gentil Bittencourt, 1144 - Nazaré, Belém - PA, 66040-174

^{3,4}Av. Alcindo Cacela, 287 - Umarizal, Belém - PA, 66065-219

Palavras Chave: Modelagem estrutural, asparaginase, acoplamento molecular.

Introdução

A asparaginase tipo III (EcAIII) catalisa a hidrólise da asparagina em aspartato e amônia e também a hidrólise de dipeptídeos isoaspartil, a partir da degradação da cianoficina, um polipeptídeo ramificado com importante interesse biotecnológico, que pode ser utilizado como um substituto biodegradável em vários produtos, incluindo os derivados do petróleo, como plásticos e outros polímeros. Na bioinformática, existem diversas ferramentas computacionais para a construção de modelos tridimensionais, como o modelo de EcAIII aqui trabalhado. Portanto, utilizou-se a modelagem molecular por homologia por meio do software Modeller, pela sua confiabilidade e qualidade, para a construção do modelo. Além deste, o software Molegro Virtual Docker contribuiu para realizar o acoplamento molecular. Neste sentido, este trabalho objetivou realizar o acoplamento molecular (docking) do substrato dipeptídeo β -Asp-Arg em um modelo de EcAIII.

Resultados e Discussão

O acoplamento molecular tem sido utilizado com frequência quando se deseja obter informações sobre o comportamento bioquímico de determinado ligante no sítio catalítico de moléculas. Foram obtidos cinco poses do ligante, com cálculos computacionais durante o processo de acoplamento molecular. A melhor posição foi escolhida, de acordo com as distâncias, maior número de interações e energia de afinidade com o substrato. As distâncias médias obtidas entre os resíduos do sítio ativo da proteína com o substrato dipeptídeo foram analisadas e verificou-se que os valores teóricos eram próximos dos valores experimentais

V SSCABBA – Universidade Federal do Pará

do produto da reação, o aspartato. O substrato forma ligações de hidrogênio com distâncias de até 3Å com o resíduo catalítico Thr179, além da Gly199, Asp210, Gly231 e Gly233. Outro detalhe importante é que o átomo de hidrogênio do resíduo Thr179 interage fortemente com o átomo de oxigênio do substrato (distância de 2,21Å), menor que aquela obtida em dados experimentais (> 3Å), mostrando ser este um resíduo chave da família de L-Asparaginase, conforme Michalska e cols, (2005; 2008), atuando na clivagem do substrato dipeptídeo.

Conclusões

O acoplamento do substrato dipeptídeo no sítio catalítico mostrou distâncias semelhantes às observadas nos dados experimentais disponíveis do produto aspartato, confirmando que a técnica é eficiente para simular sistemas biológicos. Porém, são necessários estudos de dinâmica molecular para confirmar se essas distâncias se mantêm ao longo do tempo.

Agradecimentos

Universidade da Amazônia – UNAMA.
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS.

¹Michalska, K.; Brzezinski, K.; Jaskolski, M.; Crystal structure of isoaspartyl aminopeptidase in complex with L-aspartate. **PubMed**. Disponível em: <<http://www.jbc.org/content/280/31/28484.long>>.

²Thomsen, R.; Christensen, M. H. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jm051197e>>.

³SALI, A.; BLUNDELL, T. L. Comparative Protein Modelling by Satisfaction of Spatial Restraints. **Journal of Molecular Biology**, v. 234, n. 3, p. 779-815, 1993, ISSN 0022-2836. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283683716268>>.

Planejamento e síntese de derivados naftalênicos dos salicilatos como antioxidantes

Valéria A. Barros (PG), Rosivaldo S. Borges (PQ)*

Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará. lqfmed@gmail.com

Palavras Chave: salicilatos, antioxidantes, câncer, inflamação, novos derivados.

Introdução

Os salicilatos foram introduzidos na terapêutica há mais de 100 anos, quando Maclagan (1876) usou a salicina **1**, o princípio amargo extraído do salgueiro branco comum, reduzindo com sucesso a febre, a dor e a inflamação na febre reumática. As pesquisas prosseguiram com a obtenção laboratorial do ácido salicílico **2** a partir do fenol por Kolbe e colaboradores, seguido pela obtenção do ácido acetilsalicílico **3** por Felix Hoffman (Figura 1).¹

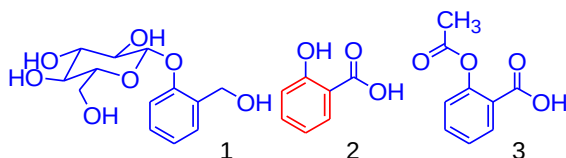


Figura 1. Fórmula estrutural de derivados de salicilatos.

O mecanismo de ação proposto para os salicilatos foi desenvolvido a partir do estudo da acetilação do grupo hidroxila de um resíduo da Serina (Ser 530) pela aspirina.² No entanto, ele não explica o mecanismo dos demais salicilatos não acetilantes. A COX-1 e a COX-2 são duas proteínas estruturalmente distintas, apresentando uma homologia de 60% na sequência de aminoácidos, com diferenças no sítio ativo, onde a COX-2 apresenta um bolsão hidrofóbico maior comparado a COX-1, apresentando maior afinidade por moléculas com maior peso molecular.³

Outros problemas desses fármacos são a baixa estabilidade química em reações de hidrólise e o fraco efeito antioxidante.⁴ Assim, a proposta visa o desenvolvimento de derivados de salicilatos.

Resultados e Discussão

Os derivados foram planejados usando o método de bioisosterismo de anéis pela substituição do anel benzeno pelo naftaleno (Figura 2).

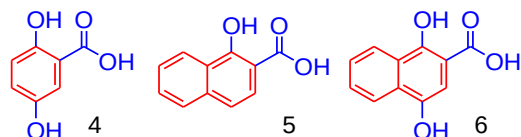


Figura 2. Fórmula estrutural de derivados de salicilatos.

Os cálculos foram realizados no nível DFT/B3LYP/6-31G(d,p). Os valores de HOMO, LUMO e GAP indicam um aumento significativo na capacidade

doadora de elétrons, através da adição do grupamento hidroxila, mas especialmente pela substituição do anel aromático benzeno por naftaleno. De fato, os valores observados para o ácido salicílico (**2**) são muito inferiores ao ácido gentísico (**4**). No entanto, estes valores ainda estão abaixo, aso obtidos pelos derivados naftalênicos (**5**) e (**6**) (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades teóricas de derivados de salicilatos.

Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (kcal/mol)	EDLCH (kcal/mol)
2	-6,63	-1,91	4,71	194,91	109,91
4	-5,73	-1,54	4,19	-	-
5	-6,11	-1,97	4,14	180,15	104,79
6	-5,36	-1,50	3,85	165,19	-

Os valores obtidos podem ser observados na disposição dos orbitais de HOMO, onde houve um aumento significativo nas estruturas de ressonância pela presença dos grupo hidroxila adicional e mais especialmente pelo naftaleno (Figura 3).

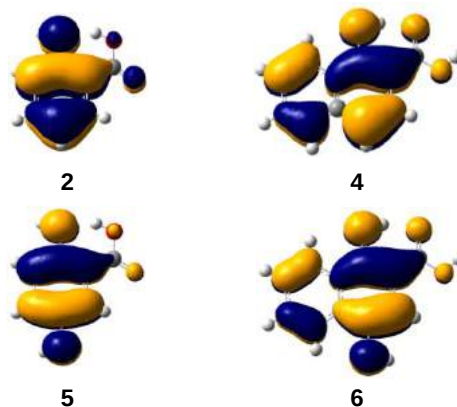


Figura 3. HOMO de derivados de salicilatos.

Conclusões

Os resultados indicam que os novos compostos apresentam maior potencial como antioxidantes.

Agradecimentos

CNPq.

¹ Maclagan, T.J. *Lancet* I, **1876**, 342.

² Roth, G. J.; Majerus, P.W. *J. Clin. Invest.*, **1975**, *56*, 624– 632.

³ Thun, M. J.; Jacobs, E.J.; Patrono, C. *Nature Reviews*, **2012**, *9*, 259.

⁴ Vane, J.R.; Botting, R.M. *Thrombosis Res.*, **2003**, *110*, 255-258.

V Simpósio de Simulação Computacional e Avaliação Biológica de Biomoléculas na Amazônia

Estudo Computacional do Mecanismo de Inibição da Cisteína Protease de *Trypanosoma cruzi*

Karoline Leite Cunha¹(PG), **Aginaldo da Silva Carneiro¹(PQ)***, **Carlos Augusto Lima Barros¹(PQ)**, **Jorddy Neves da Cruz¹(IC)**, **Tainá Guimarães Barros¹(PG)**.

¹Universidade Federal do Pará

E-mail: aginaldo_ufpa@yahoo.com.br

Laboratório Amazônico de Computação Científica / Faculdade de Farmácia / Instituto de Ciências da Saúde, Setor de Saúde do Campus do Guamá – UFPA Rua Augusto Correa, 01, Guamá, Belém, Pará.

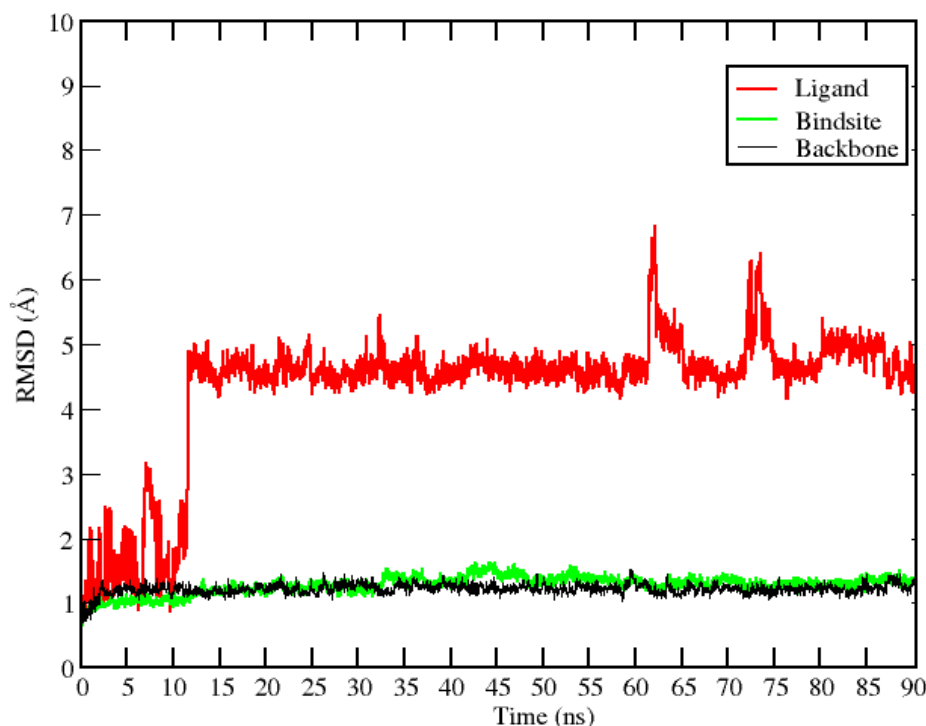
Palavras Chave: Cisteína Protease, *Trypanosoma cruzi*, Dinâmica Molecular

Introdução

A Doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, atinge cerca de um quarto da população da América Latina (WHO, 2008). Os fármacos disponíveis para o tratamento desta doença são inapropriados, apresentam baixa eficácia e sérios efeitos colaterais que limitam o seu uso. Desta forma torna-se necessário a descoberta de novos agentes quimioterápicos para o tratamento seguro e eficaz da doença (SOUZA, et. al 1998). Neste trabalho, o método MQ/MM combinado com DM foi usado para estudar o mecanismo inibição da enzima cisteína protease de *Trypanosoma cruzi*. Ela é uma enzima lisossomal, que pode ser encontrada também, na superfície celular de formas epimastigotas e amastigotas e é expressa em todos os estágios do ciclo de vida do *T. cruzi* exercendo diferentes funções (KLEMBE E GOLDBERG, 2002). Objetivou-se estudar o mecanismo da enzima cisteína protease de *Trypanosoma cruzi* envolvendo o inibidor Z-Arg-Ala-FMK.

Resultados e Discussão

A dinâmica molecular foi realizada utilizando o AMBER12. O sistema foi preparado utilizando o tleap onde a proteína foi solvatada numa caixa d'água octaédrica de 12 Å e em seguida foram adicionados contra-íons para neutralizar o sistema. Foram minimizadas as cadeias laterais, cadeia principal da proteína e o substrato, durante 250 ps, utilizando restrições de 10 kcal.mol nos átomos do sistema para não haver super aquecimento e desnaturação das estruturas secundárias. Logo após foram feitas minimizações de energia do sistema sem restrições durante 250 ps. Então foram feitos aquecimentos dos sistemas até 300 K por 250 ps. Por fim os sistemas foram estabilizados por 500 ps a uma temperatura constante de 300 K sem restrições. A partir do gráfico de RMSD (Root Mean Square deviation) é possível notar que o sítio ativo da proteína se manteve conservado durante os 100 ns de dinâmica molecular. A proteína também se manteve sem grandes alterações conformacionais. O ligante (Ligand), no tempo de aproximadamente 13 ns teve uma mudança conformacional considerável, mas voltando a adquirir equilíbrio até o fim da dinâmica.

Figura 1. Gráfico de RMSD do ligante, proteína e sítio ativo.

Conclusões

Neste trabalho a estrutura da enzima cisteína protease com o inibidor Z-Arg-Ala-FMK foram submetidas à cálculos de dinâmica molecular. O sistema atinge a estabilidade necessária para a realização do mecanismo de inibição. Os átomos envolvidos na reação guardam posições adequadas, favorecem o ataque nucleofílico do grupo tio do resíduo de CYS25 ao carbono halogenado do inibidor Z-Arg-Ala-FMK. Os trabalhos prosseguem na tentativa de elucidar o modo de ligação do inibidor com a enzima cisteína protease de *T. cruzi*.

Agradecimentos

Ao Laboratório Amazônico de Computação Científica FACFAR/ICS/UFPA.

Klemba, M.; Goldberg, D. E. Biological roles of proteases in parasitic protozoa. *Annual Review of Biochemistry*. **2002**, 71, 275-305.
Souza, D.H.F.; Garratt, R.C.; Araujo, A.P.U.; Guimaraes, B.G.; Jesus, W.D.P.; Michels, P.A.M.; Hannaert, V.; Oliva, G. *Trypanosoma cruzi* Glycosomal Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase: Structure, Catalytic Mechanism and Targeted Inhibitor Design. *Febs Let.* **1998**, 424, 131-35.
WHO/TDR - World Health Organization - Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, 2008. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/index.html>>. Wolfenden, R. *Nature*. **1969**, 223, 704-705.

Análise Conformacional da Z- e E-Azalactona Benzilidênicas

Roberto Barbosa de Moraes (PG), Rosivaldo dos Santos Borges (PQ)*

Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará. lqfmed@gmail.com

Palavras Chave: paracetamol, aspirina, azalactona, modelagem molecular, estabilidade química, conformação.

Introdução

O paracetamol (tylenol) é um dos medicamentos mais utilizados na terapia antitérmica e analgésica, e o ácido acetilsalicílico (aspirina) é o agente analgésico e anti-inflamatório mais consumido do mundo. Neste trabalho utilizaremos associação do ácido salicílico com paracetamol para a síntese da Azalactona e seus derivados.¹ As Azalactonas são compostos heterocíclicos conhecidos desde o século XIX e preparados pelo método clássico conhecido como síntese de Plochl-Erlenmeyer, em homenagem aos seus descobridores.² Os derivados Azalactônicos tem uma vasta aplicação. Porém não há estudos mais aprofundados em relação aos seus estados conformacionais e relacionados a atividades biológicas e antioxidantes. Este tem como objetivo estudar os parâmetros conformacionais calculados de forma teórica utilizando software computacional e encontrar uma relação entre esses parâmetros e a atividade biológica.³ A metodologia utilizada é o planejamento usando modelagem molecular. Os cálculos mecânico-quântico foram realizados no Gaussian. Posteriormente as moléculas analisadas serão sintetizadas seguindo protocolos específicos e avaliadas quanto as suas atividades analgésica, anti-inflamatória e antioxidante.

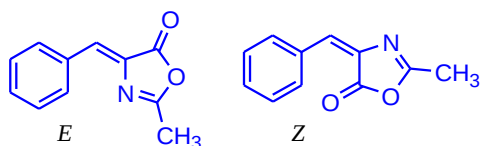


Figura 1. Fórmula estrutural de isômeros de azalactonas

Neste estudo, buscamos compreender a reatividade química e obtenção seletiva de derivados da associação molecular salicilatos e p-aminofenol.

Resultados e Discussão

O cálculo computacional de estrutura molecular é uma ferramenta essencial no estudo de fármacos, determinando reatividade química e propriedades moleculares. Os resultados prévios da análise conformacional das formas isoméricas Z e E foram calculadas as energias de cada estrutura variando o ângulo de 15-15° de 0-90°, onde foi observado que todas as conformações do isômero E apresentam as menores energias de formação (Figura 2), portanto podemos prever que esta é a forma mais estável da molécula, indicando os prováveis produtos que serão formados através da síntese química.

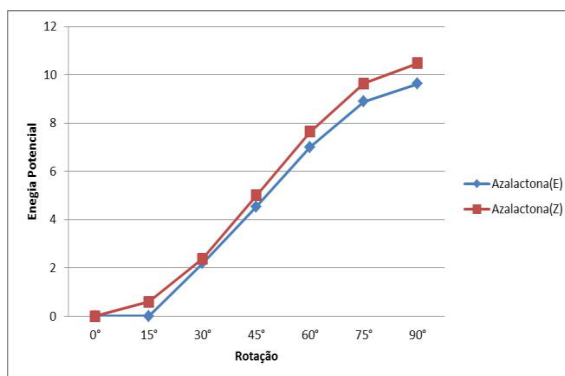


Figura 2. Análise da azalactona em diferentes conformações.

Esta propriedade visa ampliar o conhecimento e buscar nova aplicação das azalactonas como novos fármacos. A associação do paracetamol **1** e ácido salicílico **2**, duas classes de medicamentos mais consumidas no mundo. Almeja-se que os derivados **3** e **4**, obtidos pela condensação de Erlenmeyer e hidrólise da lactona, tenham os efeitos terapêuticos potenciados e redução da toxicidade (Figura 3). Os compostos planejados por química combinatória contêm todos os grupamentos destes dois fármacos mais um grupo alceno como ampliador da cadeia,

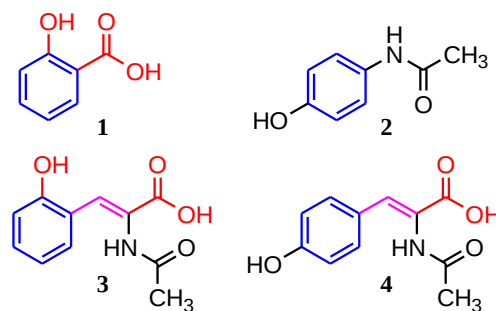


Figura 3. Estrutura de derivados de salicilatos e p-aminofenol

Conclusões

O estudo teórico mostrou que o intermediário com isomeria E pode ser obtido com menor energia.

Agradecimentos

CNPq.

¹Gilles, H. M.; Hoffman, P. S. *Trends Parasitol.* **2002**, 18, 95-97.

²Fox, L. M.; Saravolatz, L. D. *Clin. Infec. Dis.* **2005**, 40, 1131-38.

³Carvalho, I.; Pupo, M. T.; Borges, A. D. L.; Bernardes, L. S. C. *Quím. Nova.* **2003**, 26, 428-438.

Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de Quitosana contendo Albendazol

Saulo Cardoso Carvalho¹ (IC), Natália de Farias Silva¹ (PQ) Ana Carolina da Silva Costa¹ (PQ) *José Otávio Carrera Silva Júnior¹ (PQ), Roseane Maria Ribeiro Costa¹ (PQ)

Saulo Cardoso Carvalho – farsaulo@gmail.com; Natália de Farias Silva – natyflavonas@yahoo.com.br; José Otávio Carrera Silva Júnior – carrera@ufpa.br; Roseane Maria Ribeiro Costa – rmrc@ufpa.br

Palavras Chave: Nanopartícula de Quitosana, Albendazol, Docking Molecular

Introdução

A fim de elucidar as interações intermoleculares estabelecidas entre carreador e o ativo foi realizado estudo de Docking Molecular com o software AutoDock Vina 4.2¹. Inicialmente as estruturas de Quitosana (QTS) e Albendazol (ABZ) foram obtidas banco de dados National Center for Biotechnology Information (NCBI) e posteriormente desenhadas tridimensionalmente e minimizadas através da mecânica clássica MM²⁺ no programa CHEM 3D ULTRA 12.2.0². A partir desses resultados, foram realizados cálculos para otimização da energia usando o funcional híbrido B3LYP no programa Gaussian 09³. As otimizações das estruturas foram baseadas no método da Teoria do Funcional de Densidade (TFD).

Por fim, será realizado estudo de dinâmica molecular com três modelos de misturas em diferentes proporções de QTS e ABZ no software Gromacs 5.0.7. Os modelos criados obedeceram às proporções reproduzidas experimentalmente.

Resultados e Discussão

Segundo Calvo et al (1997), a formação das nanopartículas por gelatinização ionotrópica, após adição da solução de TPP sobre a solução de QTS-FITC foi resultante das ligações intermoleculares que ocorreram entre o grupamento amino da quitosana e grupo fosfato do TPP, observando-se um composto de aspecto levemente turvo, e com pH final de síntese corrigido para 6,6.

Foram obtidos espectros de infravermelho (FT-IR) com grupos funcionais característicos dos componentes de (QTS, TPP, FITC) e nanoparticular fluorescente (NP-FITC) (Figura 1).

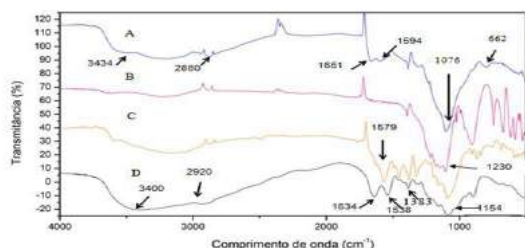


Figura 1. Espectros de FT-IR das QTS (A); TPP (B); FITC (C); NP-FITC (D)

Determinação da mobilidade eletroforética e tamanho de partícula foram realizados no equipamento Zetasizer Nano que apresentou um tamanho de 253,3 nm e Índice de Polidispersidade (PDI) 0,542. O potencial zeta $+22,5 \pm 8$ mV.

Na seção computacional, a partir das estruturas otimizadas (Tabela 1) foi realizado Docking Molecular onde a QTS como ligante e o ABZ receptor.

Tabela 1. Energias de otimização.

Moléculas	Energia (HF)
QTS	-1258.8982 Ha
ABZ	-1173.8215 Ha

Após a elucidação das forças intermoleculares atrativas entre receptor e ligante pode-se concluir que o polímero de quitosana é um eficiente carreador.

Foram criados três modelos de misturas com proporções distintas entre QTS e ABZ (Tabela 2), com isso, aplicar o estudo de Dinâmica Molecular para comparar os três sistemas através da Distribuição Radial.

Tabela 2. Número de moléculas em cada mistura

	M 01	M 02	M 03
QTS	84	168	252
ABZ	45	91	136

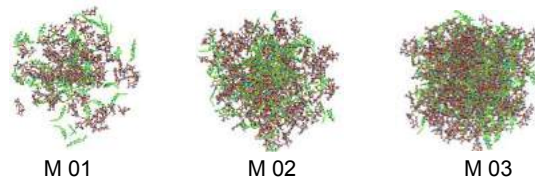


Figura 2. Modelos de misturas obtidos no Packmol

Conclusões

Foram obtidas nanopartículas de quitosana com tamanho de 253 nm. As interações intermoleculares entre QTS e ABZ ilustradas pela Docking Molecular demonstram que este sistema é promissor para carrear o ABZ.

Agradecimentos

- ¹ Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S.; Olson, A. J. J. *Comput. Chem.* 2009, 30 (16), 2785–2791.
² Cambridge Soft Corporation, Cambridge, MA.
³ M. J. Frisch. 2009.
⁴ Calvo et al., Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, v.153, p.41-50, 1997.

Estudo de Mapa de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) e QSAR-3D para inibidores da Cruzaína no combate à doença de Chagas

Ádria Perez Bessa Saraiva¹(IC), Renan Patrick da Penha Valente¹(IC), Biatriz Ferreira de Moraes¹(IC), João Elias Vidueira Ferreira²(PQ), Antonio F. Figueiredo³(PQ); Karina Jeanne C. L. M. Silva¹(PQ) Ricardo Moraes de Miranda¹ (PQ)*.

¹Instituto Federal do Pará, Campus Belém - PA, Amazônia, Brasil;

²Instituto Federal do Pará, Campus Tucuruí - PA, Amazônia, Brasil;

³Instituto Federal do Pará, Campus Castanhal - PA, Amazônia, Brasil;

Palavras Chave: *Doença de Chagas, Cruzaína, Derivados Peptídicos, MEP, QSAR 3D.*

Introdução

As doenças parasitárias acometem milhões de indivíduos nas diversas regiões geográficas mais pobres do planeta e constituem um gradativo prenúncio mundial. A doença de Chagas é uma preocupante parasitose causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, sua transmissão mais comum é a vetorial. Os responsáveis pela transmissão vetorial são triatomíneos insetos hematófagos, conhecidos como “barbeiro”. A infecção se manifesta em duas fases a aguda e a crônica, sendo possível a evolução da fase aguda para a crônica, caso não haja diagnóstico e terapia adequada. Atualmente o tratamento da doença ocorre com somente dois fármacos: Nifurtimox e benzonidazol, ambos são mais eficazes na fase aguda da doença. Cruzaína, uma cisteína protease de *T. cruzi* essencial para a sobrevivência do parasita dentro da célula do hospedeiro, foi eleita um alvo promissor para novas terapias da doença. Os principais inibidores dessa enzima são os derivados peptídicos, especialmente o dipeptidil vinil sulfônico *N*-metil-Pip-F-hf-vsf que mostraram atividade in vitro e in vivo. Neste estudo, foram criados modelos QSAR-3D que permitiram o estabelecimento de relações entre a estrutura química e a atividade biológica dos compostos estudados e esses derivados peptídicos foram submetidos à análise de Mapa de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) a fim de analisar e comprovar os resultados do modelo criado, visando à orientação de futuras sínteses através da previsão da tendência de moléculas potencialmente mais ativas.

Metodologia

O ponto de partida deste trabalho foi submeter os derivados peptídicos a métodos computacionais de mecânica quântica realizando cálculos de otimização molecular (B3LYP/6-31G*), com o programa Gaussian e cálculos single point de carga RESP como preparação para criação do modelo QSAR-3D. Então, no modelo criado, utilizou-se um conjunto de 30 derivados peptídicos extraídos da literatura. Os valores de IC₅₀ (nM) foram

convertidos para os correspondentes pIC₅₀ (-logIC₅₀) e usados como variáveis dependentes em CoMFA e CoMSIA. Os compostos foram divididos em dois grupos de validação interna (VI) e validação externa (VE) pelo qual se obteve 25 compostos na VI e 5 na VE, e realizou-se a construção da matriz de dados com a criação dos campos CoMFA (Análise Comparativa de Campos Moleculares) e CoMSIA (Análise Comparativa de índices de Similaridade Molecular) embutidos na plataforma SYBYL-X.2.0. Campos estéricos, eletrostáticos, área doadora de ligações de Hidrogênio foram calculados para cada molécula encontrada no alinhamento a fim de estudar melhor as áreas favoráveis e desfavoráveis a interações, ou doações ou recebimento de elétrons. Posteriormente, empregaram-se cálculos de mapa de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) utilizando as palavras chaves gfoldprint pop=(full,esp), visualizou-se os resultados com o auxílio do programa Molekel 5.4.

Resultados e Discussão

A partir dos métodos de QSAR-3D, obteve-se dois modelos estatísticos: CoMFA e CoMSIA. Tendo em vista que valores de Q² e R² devem ser maiores que 0,5 e 0,6, respectivamente, para que um modelo seja considerado válido internamente e R²pred>0,6 externamente, pode-se afirmar que os modelos obtidos são estatisticamente robustos com valores de Q²=0,783, R²=0,988 e R²pred=0.78 para o CoMFA, e Q²=0,753, R²=0,983 e R²pred=0.88 para o CoMSIA (tabela 1). Na Tabela 2 estão descritos os valores estatísticos obtidos do método PLS (Partial Least Squares) que é uma ferramenta matemática utilizada em estudos de QSAR-3D para correlacionar as atividades biológicas com as das estruturas moleculares de drogas. A Figura 1 ilustra as atividades previstas utilizando os modelos CoMFA e a figura 2 os preditos pelo CoMSIA correlacionando-lhes com os dados experimentais mostrando que estão em concordância, sugerindo que o modelo deve ter uma alta capacidade preditiva. Em relação aos mapas de contorno (Figura 3), tanto o CoMFA, quanto o CoMSIA apresentam volumosos campos estéricos desfavoráveis (amarelo) e apenas alguns pontos

onde a inserção de radicais mais volumosos aumentariam a atividade (verde), porém são capazes de interagir sem impedimento estérico formando complexo e inibindo a proteína com interação satisfatória. Já os campos eletrostáticos, suponha-se que a interação é melhor para o composto de maior atividade biológica, pois apontaram que há uma estabilidade de cargas na região farmacofórica, pois não necessita de uma grande distribuição de cargas negativas (vermelho) nessa região para uma atividade e interação ideal, enquanto que a menos ativa precisa de cargas negativas para aumentar a sua atividade. Grupos doadores de ligação de hidrogênio desfavorecem a atividade (roxo) e o azul claro, favorece a atividade biológica.

Modelo	Q ²	NC	R ²	R ² pred
CoMFA	0.783	5	0.988	0.78
CoMSIA	0.753	5	0.983	0.88

Tabela 1. Parâmetros de avaliação do modelo QSAR.

Modelo	F	SEE	S%	E%	D%
CoMFA	312.603	0.072	47.8	52.2	----
CoMSIA	216.397	0.087	35.5	45.0	19.5

Tabela 2. Resultados estatísticos do método PLS.

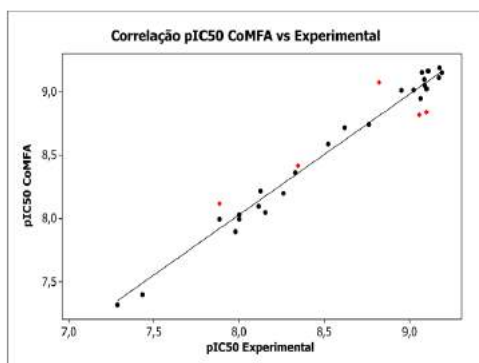


Figura 1. Valores preditos de pIC₅₀ experimental derivados do modelo CoMFA para conjunto de treino (Bolas pretas) e conjunto de teste (triângulo vermelho).

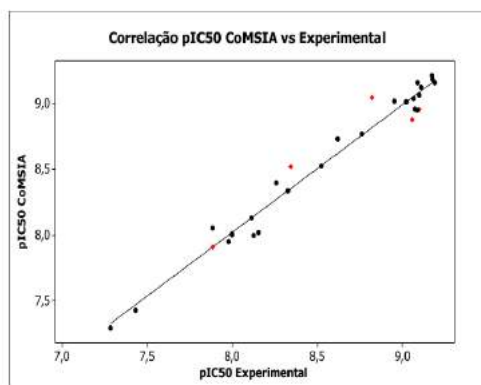


Figura 2. Valores preditos de pIC₅₀ experimental derivados do modelo CoMSIA para conjunto de treino (Bolas pretas) e conjunto de teste (triângulo vermelho).

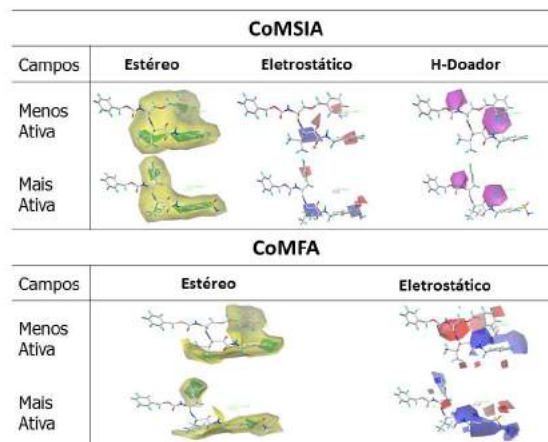


Figura 3. Mapas de contorno dos modelos CoMSIA e CoMFA

O mapa de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) apresenta a distribuição de carga no espaço em torno da molécula e é muito útil na compreensão das regiões de ataque nucleofílico e eletrofílico para o estudo da reação no processo de reconhecimento biológico e interações de ligação de hidrogênio. Os valores diferentes de potencial eletrostático na superfície são representados por diferentes cores. Na molécula (Figura 4) as regiões negativas de $V(r)$ estão associadas no átomo de oxigênio da carbonila sendo apontado com uma cor vermelha e os outros elementos desse composto se encontram com uma área de potencial mais positiva. O valor de $V(r)$ mais negativo é associado ao átomo de oxigênio, que é responsável pela interação proteica, com um valor em torno de -0,187 u.a. enquanto os outros valores de $V(r)$ negativo encontrados na molécula são, respectivamente, -0,187 u.a., e -0,0593 u.a., que se localizam em torno dos outros átomos eletronegativos, como o nitrogênio. Assim, seria possível prever que um ataque eletrófilo seria preferencialmente no oxigênio da carbonila da molécula 1, por apresentar o valor mais negativo de $V(r)$. Alternativamente, encontramos um valor máximo de 0.325 u.a. nos átomos de hidrogênio e enxofre nas regiões positivas de $V(r)$ indicando que este local pode ser provavelmente o mais envolvido em processos nucleofílicos. As análises do MEP ajudaram na compreensão do modelo QSAR devido a propriedade eletrostática ser a que mais contribuiu para o modelo. Então, há uma concordância do MEP e do QSAR-3D, quando feito uma análise da figura 4 gerada pelo MEP provando a deficiência de elétrons na região farmacofórica da molécula menos ativa, como foi verificado na figura 3 o campo eletrostático gerada pelo CoMFA do mesmo derivado.

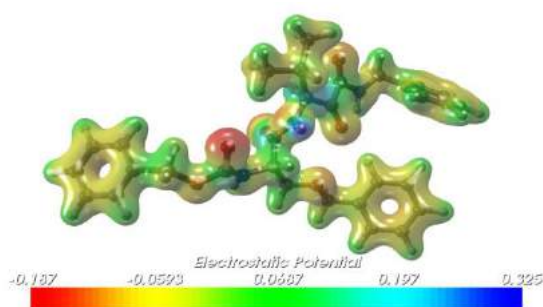


Figura 4. Mapa MEP da molécula.

Conclusões

Com os resultados da pesquisa teórica-computacional realizada por meio do estudo de QSAR-3D evidenciando que os modelos revelaram boa capacidade preditiva tanto interna, quanto externa, de acordo com os valores estatísticos de validação, tais como Q^2 , R^2 e R^2_{pred} . Por isso, com base nesses modelos e nos mapas de contornos gerados a partir deles, e com a análise do mapa de Potencial Eletrostático Molecular (MEP) que auxiliou na investigação de características chaves responsáveis pela atividade biológica dos derivados peptídicos apontando quais os átomos dentro da molécula tem maior capacidade para realizar ataques nucleofílicos e eletrofílicos, é possível planejar novos fármacos com atividades biológicas melhoradas, podendo contribuir para o tratamento da doença de Chagas.

Agradecimentos

Agradeço ao Instituto Federal de educação, ciência e tecnologia do Pará (IFPA), ao orientador Ricardo Moraes de Miranda, à Diretoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (DPPI) e ao grupo de química teórica e computacional do Laboratório de química computacional (LQC).

¹Youngechool Choe; Linda S. Brinen; Mark S. Price; Juan C. Engel; Meinolf Lange; Corinna Grisostomi; Scott G. Weston; Peter V. Pallai; Hong Cheng; Larry W. Hardy; David S. Hartsough; Marsha McMakin; Robert F. Tilton; Carmen M. Baldino; Charles S. Craik. Development of α -keto-based inhibitors of cruzain, a cysteine protease implicated in Chagas disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13 (2005) 2141–2156.

²COSTA. C. H. S.; OLIVEIRA. A. R. S.; PEREIRA, M. J. S.; FIGUEIREDO, A. F.; FERREIRA, J. E. V.; MIRANDA, R. M.; Quantum Chemistry, Quantitative Structure-Activity Relationship and Molecular Docking Study on Fenarimol Derivatives with Biological Activity Against Chagas Disease. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 2015.

³Simone Petroglia Kropf, Nara Azevedo, Luiz Otávio Ferreira; Doença de Chagas: A construção de um fato científico e de um problema de saúde pública no Brasil.

⁴Montanari, C. A. Química Medicinal: métodos e fundamentos em Planejamento de fármacos. São Paulo: Edusp, 2011.

⁵Ferreira, E. I. ;Planejamento de Fármacos na Área de Doença de Chagas: Avanços e Desafios *Rev. Virtual Quim.*, 2012, 4 (3), 225-246. Data de publicação na Web: 15 de junho de 2012;

⁶(DIAS, 2009; SIEWINSKI *et al*, 1994; IIK,KOMINAMI, HIRANO, 1993; MORT, BUTTLE, 1997; TANIGUCHI *et al*, 1993; DRENTH *et al*, 1968)

⁷Luque, F.J.; Lopez, J.M.; Orozco, M.: Perspective on “Electrostatic interactions of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects”.*Theor. Chem. Acc.* 103, 343–345 (2000);

⁸Amanda Fortes Francisco, Shiromani Jayawardhana, Michael D. Lewis¹, Karen L. White, David M. Shackleford, Gong Chen, Jessica Saunders, Maria Osuna-Cabello, Kevin D. Read, Susan A. Charman, Eric Chatelain & John M. Kelly. Nitroheterocyclic drugs cure experimental Trypanosoma cruzi infections more effectively in the chronic stage than in the acute stage. *Scientific RepoRts* 6:35351 DOI: 10.1038/srep35351.

⁹Fabiana S. Machado, Linda A. Jelicks., Louis V. Kirchhoff, Jamshid Shirani., Fnu Nagajyothi, , Shankar Mukherjee., Randin Nelson, Christina M. Coyle, , David C. Spray, Antonio C. Campos de Carvalho, Fangxia Guan, Cibele M. Prado, Michael P. Lisanti, Louis M. Weiss, Susan P. Montgomery and Herbert B. Tanowitz. Chagas Heart Disease: Report on Recent Developments. NIH Public Access Author Manuscript *Cardiol Rev.* Author manuscript; available in PMC 2013 March 1. *Cardiol Rev.* 2012 March; 20(2):53–65. DOI:10.1097/CRD.0b013e31823efde2

¹⁰Matthew O. Wiens, Steve Kanters, Edward Mills, Alejandro A. Peregrina Lucano, Silvia Gold⁵, Dieter Ayers, Luis Ferrero⁵, Alejandro Krolewiecki. PHARMACOKINETICS OF BENZNIDAZOLE IN CHAGAS DISEASE: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS. AAC Accepted Manuscript Posted Online 22 August 2016 *Antimicrob. Agents Chemother.* doi:10.1128/AAC.01567-16 2016, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

¹¹Katrien Brak, Patricia S. Doyle, James H. McKerrow, Jonathan A. Ellman. Identification of a New Class of Nonpeptidic Inhibitors of Cruzain. Published in final edited form as: *J Am Chem Soc.* 2008 May 21; 130(20): 6404–6410. doi:10.1021/ja710254m.

Calpaína I – análise estrutural por meio da plataforma Swiss-model

Lyvia Cilene Almeida da Rocha¹, Elivelton Jean Albuquerque dos Santos¹, Adonis de Melo Lima², Ronaldo Correia da Silva²

¹Universidade da Amazônia (UNAMA) (IC)

²Laboratório de Tecnologia Biomolecular, Universidade Federal do Pará (UFPA) (PG)

¹Av. Alcindo Cacela, 287 - Umarizal, Belém - PA, 66065-219

²Rua Augusto Corrêa 01, Guamá, Belém – PA, Brazil, Cep 66075-110

Palavras Chave: *Plataforma Swiss-mode., Calpaína. Modelagem estrutural.*

Introdução

As calpaínas estão envolvidas em amplo grupo de funções celulares. Atualmente se enquadram em dois grandes grupos: ubíquas e tecidos específicas. No grupo de isoformas ubíquas encontram-se aquelas amplamente distribuídas por apresentarem uma grande participação no organismo, porém, a diferença entre as de tecido-específica é a participação na quantidade de cálcio necessário para a sua ativação

Resultados e Discussão

O Swiss Model é um servidor dedicado à modelagem de proteínas através de processo automatizado, onde o usuário fornece apenas a sequência primária de seu alvo, e obtém como resultado, um modelo gerado por homologia baseado em moldes de estruturas cristalográficas do PDB, além de vários métodos de validação. Identidade, similaridade e resolução são alguns parâmetros para escolha do melhor modelo pelo servidor. Por meio da plataforma Swiss-Model analisou-se a subunidade catalítica da calpaína-1, gene CAPN1, onde foi feita uma análise dos seus cofatores que atuam na presença de Ca²⁺. Na atividade da enzima a regulação é através de concentrações micromolares de cálcio, e sua inibição é realizada pela calpastatina. Esta proteína é codificada essencial para a estabilidade e função tanto os heterodímeros de calpaína, cuja atividade proteolítica influencia várias funções celulares, incluindo a apoptose, proliferação, migração, adesão e autofagia. A comparação feita por sites especializados e pesquisas bibliográficas mostram a participação da calpaína em alguns organismos. Os dados fornecidos evidenciam diretamente a interação entre alfa-sinucleína e calpaína 1 em células neuronais. Demonstrou-se que a calpaína 1 interage com alfa-sinucleína no citoplasma das células. Portanto, a calpaína 1 forma um complexo com a proteína alfa-sinucleína e promove a

clivagem de alfa-sinucleína em condições patológicas.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos pela plataforma Swiss-Model verificou-se que a clivagem induzida por cofatores de proteína alfa-sinucleína através da ativação de calpaína e uma subsequente oligomerização da alfa-sinucleína, além disso, a inibição de calpaína pode reduzir parcialmente a lesão das células nervosas induzidas por Mn. Os resultados dão uma visão sobre as alterações neuroquímicas que ocorrem nas células nervosas durante a exposição elevada de Mn, onde a inibição da calpaína pode gerar um alvo terapêutico para melhorar as lesões neuronais.

Agradecimentos

Universidade da Amazônia – UNAMA.
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS.

Marco Biasini et al. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. *Nucleic Acids Research*, v. 1, n. 42, p. 252-58, 2014.

Bárbara V. Silva. (et.al). Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Quím. Nova* vol.32 no.2 São Paulo 2009
<http://www.uniprot.org/uniprot/P07384>

Desenvolvimento e caracterização de nanopartículas de Quitosana contendo Albendazol

Saulo Cardoso Carvalho¹ (IC), Natália de Farias Silva¹ (PQ) Ana Carolina da Silva Costa¹ (PQ) *José Otávio Carrera Silva Júnior¹ (PQ), Roseane Maria Ribeiro Costa¹ (PQ)

Saulo Cardoso Carvalho – farsaulo@gmail.com; Natália de Farias Silva – natyflavonas@yahoo.com.br; José Otávio Carrera Silva Júnior – carrera@ufpa.br; Roseane Maria Ribeiro Costa – rmrc@ufpa.br

Palavras Chave: Nanopartícula de Quitosana, Albendazol, Docking Molecular

Introdução

A fim de elucidar as interações intermoleculares estabelecidas entre carreador e o ativo foi realizado estudo de Docking Molecular com o software AutoDock Vina 4.2¹. Inicialmente as estruturas de Quitosana (QTS) e Albendazol (ABZ) foram obtidas banco de dados National Center for Biotechnology Information (NCBI) e posteriormente desenhadas tridimensionalmente e minimizadas através da mecânica clássica MM²⁺ no programa CHEM 3D ULTRA 12.2.0². A partir desses resultados, foram realizados cálculos para otimização da energia usando o funcional híbrido B3LYP no programa Gaussian 09³. As otimizações das estruturas foram baseadas no método da Teoria do Funcional de Densidade (TFD).

Por fim, será realizado estudo de dinâmica molecular com três modelos de misturas em diferentes proporções de QTS e ABZ no software Gromacs 5.0.7. Os modelos criados obedeceram às proporções reproduzidas experimentalmente.

Resultados e Discussão

Segundo Calvo et al (1997), a formação das nanopartículas por gelatinização ionotrópica, após adição da solução de TPP sobre a solução de QTS-FITC foi resultante das ligações intermoleculares que ocorreram entre o grupamento amino da quitosana e grupo fosfato do TPP, observando-se um composto de aspecto levemente turvo, e com pH final de síntese corrigido para 6,6.

Foram obtidos espectros de infravermelho (FT-IR) com grupos funcionais característicos dos componentes de (QTS, TPP, FITC) e nanoparticular fluorescente (NP-FITC) (Figura 1).

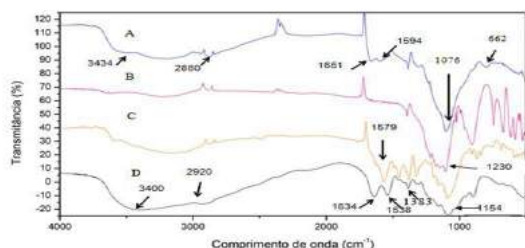


Figura 1. Espectros de FT-IR das QTS (A); TPP (B); FITC (C); NP-FITC (D)

Determinação da mobilidade eletroforética e tamanho de partícula foram realizados no equipamento Zetasizer Nano que apresentou um tamanho de 253,3 nm e Índice de Polidispersidade (PDI) 0,542. O potencial zeta $+22,5 \pm 8$ mV.

Na seção computacional, a partir das estruturas otimizadas (Tabela 1) foi realizado Docking Molecular onde a QTS como ligante e o ABZ receptor.

Tabela 1. Energias de otimização.

Moléculas	Energia (HF)
QTS	-1258.8982 Ha
ABZ	-1173.8215 Ha

Após a elucidação das forças intermoleculares atrativas entre receptor e ligante pode-se concluir que o polímero de quitosana é um eficiente carreador.

Foram criados três modelos de misturas com proporções distintas entre QTS e ABZ (Tabela 2), com isso, aplicar o estudo de Dinâmica Molecular para comparar os três sistemas através da Distribuição Radial.

Tabela 2. Número de moléculas em cada mistura

	M 01	M 02	M 03
QTS	84	168	252
ABZ	45	91	136

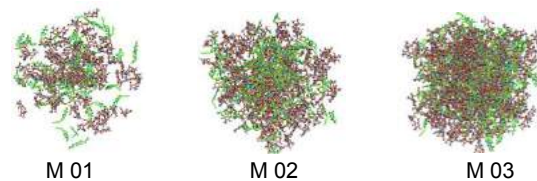


Figura 2. Modelos de misturas obtidos no Packmol

Conclusões

Foram obtidas nanopartículas de quitosana com tamanho de 253 nm. As interações intermoleculares entre QTS e ABZ ilustradas pela Docking Molecular demonstram que este sistema é promissor para carrear o ABZ.

Agradecimentos

¹ Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S.; Olson, A. J. J. *Comput. Chem.* 2009, 30 (16), 2785–2791.
² Cambridge Soft Corporation, Cambridge, MA.
³ M. J. Frisch. 2009.
⁴ Calvo et al., Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. *International Journal of Pharmaceutics*, v.153, p.41-50, 1997.

Análise Computacional de Inibidores da Enzima Tirosinase (TYR): Potenciais Quimioterápicos

Guelber C. Gomes¹(IC), Luciana M. Canavieira¹(PG), Edikarlos M. Brasil^{1,2}(PQ), Barbarella de Matos Macchi^{3,4}(PQ), José L. M. Nascimento^{3,4}(PQ), Jerônimo Lameira^{1,4}(PQ), José Rogério Araújo Silva¹(PQ), Cláudio N. Alves^{1,4}(PQ)*

¹Laboratório de Planejamento e Desenvolvimento de Fármacos, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, 66075-110, Belém, PA, Brazil.

²School of Chemistry and Molecular Biosciences, University of Queensland, Brisbane, 4072, Queensland, Australia.

³Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, 66075-110, Belém, PA, Brazil.

⁴Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Pará, 66075-110, Belém, PA, Brazil.

Palavras Chave: Câncer, Tirosinase, Inibição, ácido kójico, docking, tropolone

Introdução

Melanina é o componente celular majoritário em muitas espécies de animais, fungos, plantas e bactérias (Slominski et al., 2004). Em humanos, é responsável pela cor da pele e proteção contra radiação. Entretanto, sua acumulação anormal induz a desordens na pigmentação, dentre as quais se destaca o melanoma – a forma mais mortal de câncer de pele (Chen e Kubo, 2002). O melanoma desenvolve-se em células de pigmentação denominadas melanócitos, devido à superprodução de melanina (Slominski et al., 2004). A produção de melanina inicia-se com a conversão do aminoácido L-tirosina em L-3,4- diidroxifenilalanina (L-DOPA) catalisada pela Tirosinase (Hearing, 2011). Assim, a regulação da atividade desta enzima está diretamente relacionada à biossíntese de melanina. A enzima Tirosinase é classificada como uma proteína “cobre tipo-3”, na qual cada íon cobre (Cu^{2+}) do sítio ativo é coordenado por 3 (três) resíduos de histidina (Slominski et al., 2012). Em geral, o mecanismo de inibição desta enzima consiste tanto em inibidores, quanto em desativadores de Tirosinase (Chang, 2009). Neste contexto, um grande conjunto de inibidores de Tirosinase, tanto de fontes naturais, quanto sintéticas tem sido reportado nos últimos anos (Chang, 2009). Dentre os principais, destaca-se o ácido kójico (AK), um inibidor de Tirosinase, que é muito utilizado em cosméticos que objetivam o clareamento da pele. Entretanto, o AK mostrou baixa eficácia contra melanócitos intactos ou em ensaios clínicos (Hermanns et al., 2000). Neste estudo, análogos de derivados de produtos naturais – diidropirano[3,2-b]menadionas (DHPC) – foram utilizados nas simulações computacionais como inibidores da enzima TYR.

Resultados e Discussão

A técnica de docagem molecular tem sido utilizada com sucesso na descrição de sistemas biológicos

envolvendo a enzima TYR (Si et al., 2011; Lima, Silva, De Tassia Carvalho Cardoso, et al., 2014). Para que a teoria aplicada através do programa DOCK6 fosse validada para a TYR e os inibidores DHPCs, o procedimento de re-docagem foi aplicado. Este procedimento consiste em utilizar uma molécula que esteja complexada com a enzima, onde os dados foram obtidos experimentalmente. Desta forma, sendo considerada um ligante de referência. Neste estudo, o ligante selecionado foi o inibidor Tropolone (TRO), já complexado à enzima TYR. Os resultados obtidos pela re-docagem do inibidor TRO demonstram que o modo ligação deste, determinado pela técnica empregada pelo programa DOCK6, está em excelente concordância com seu modo de ligação determinado experimentalmente. Neste sentido, o mesmo procedimento foi utilizado para os demais inibidores. Para os resultados teóricos dos inibidores DHPCs, estes apresentaram modo de ligação semelhante ao inibidor TRO (Figura 2), uma vez que foram complexados no mesmo sítio do inibidor cristalográfico (sítio catalítico), portanto, apresentando assim um modo de inibição competitivo.

Figura 1. Estrutura 2D dos derivados DHPCs

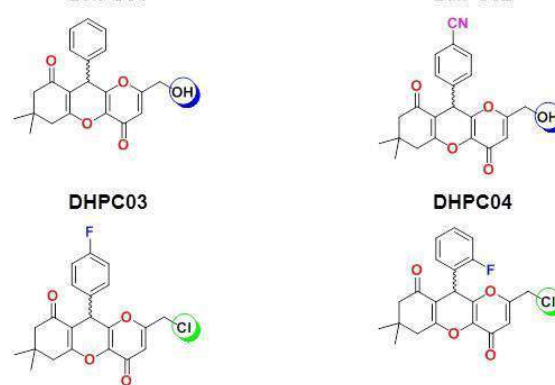
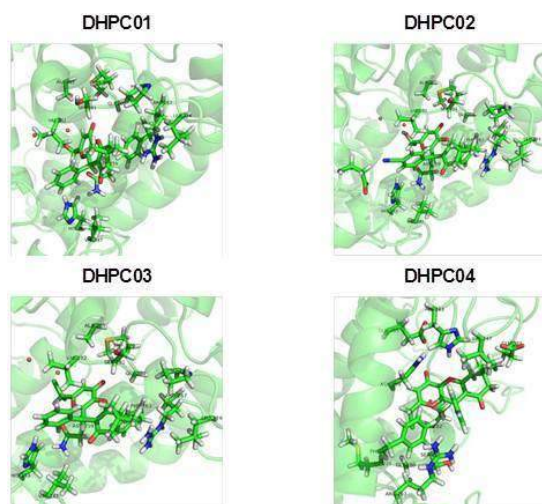


Figura 2. Modo de ligação dos derivados DHPCs obtidos por docagem molecular



Conclusões

Os resultados encontrados neste estudo corroboram com a proposta de competição existente entre os inibidores DHPCs e o substrato L-DOPA no sítio catalítico da enzima, como proposto na literatura (Si et al., 2011; Hu et al., 2012). Como se trata de uma área estratégica para o Brasil, os resultados determinados podem contribuir para o desenvolvimento e planejamento de fármacos, principalmente no desenvolvimento de moléculas com potencial terapêutico contra o câncer de pele.

Agradecimentos

À UFPA pela estrutura fornecida e as agências CNPQ e CAPES pelo auxílio financeiro.

Usar o espaço abaixo para referências, seguindo o estilo indicado (letra Times 8)

¹ Curtis, M. D.; Shiu, K.; Butler, W. M. e Huffmann, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3335.

² Curtis, M. D.; Shiu, K.; Butler, W. M. e Huffmann, J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3335.

CHANG, T. S. *Int J Mol Sci*, 2009, 2440-75.

CHEN, Q. X.; KUBO, I. *J Agric Food Chem*, 2002, 4108-12.

DENG, W.; VERLINDE, C. L. *J Chem Inf Model* 2008, 2010-20.

HEARING, V. J. *J Invest Dermatol*, 2001, E8-E11.

HERMANN, J. F.; PIERARD-FRANCHIMONT, C.; PIERARD, G. E..

Int J Cosmet Sci, 2000, 67-71.

HU, W. J. et al. *Int J Biol Macromol*, 2012, 694-700.

ISMAYA, W. T. et al. *Biochemistry* 2011, 5477-86.

Estudo in silico da enzima tirosinase humana por meio de ferramentas de bioinformática

Lilian K. O. Lima^{1,6}(IC), Raquel A. Alves⁵(IC), Adonis M. Lima^{2,3}(PQ), Nelson A. Alencar^{2,4}(PQ), Ronaldo C. da Silva^{2,3}(PQ)

¹Programa de Iniciação Científica Laboratório de Modelagem em Sistemas Biológicos – LMSB

²Laboratório de Planejamento de Fármacos, ³Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, ⁴Programa de Pós-Graduação em Química, ⁵Universidade Paulista – UNIP

⁶Faculdade Integrada Brasil Amazônia – FIBRA, CEP 66040-174 Belém, PA, Brasil

*E-mail: profronaldocorreia@gmail.com

Palavras Chave: *tirosinase, modelagem, homologia estrutural.*

Introdução

A tirosina é um aminoácido polar ativado pelo complexo tirosinase, presente no interior dos melanócitos, células da pele que realizam a síntese de melanina, com comprometimento de sua função em indivíduos portadores de albinismo. A inativação desse complexo causa danos no processo de formação deste pigmento protetor.

Métodos

A técnica de Modelagem por homologia foi utilizada para prever a estrutura terciária da tirosinase humana com base na estrutura primária, disponível no Banco de Dados de Genes (GenBank). Utilizou-se o software Modeller9v8 para predição e construção de modelos tridimensionais. A validação foi feita por meio da interpretação do gráfico ANOLEA e Ramachandran, construídos pelo servidor SWISS-MODEL, que analisa a energia livre do sistema e a qualidade estereoquímica, respectivamente.

Resultados e Discussão

A estrutura 3D selecionada como molde é a tirosina da bactéria *Bacillus megaterium*, a qual possui código 4HD4 possui identidade de 36,73% e 50% de similaridade com a

sequência alvo. Durante o alinhamento, foram identificados os resíduos que apresentaram maior afinidade pelo sítio ativo, Ile154, His203 e His 212. Houve substituição de His42 (no modelo de referência) pelo resíduo de isoleucina (modelo alvo). Essa mutação que ocorreu poderia contribuir para diferentes funções em diferentes organismos. ¹

Conclusões

O modelo obtido da enzima tirosinase humana através de modelação de homologia sugere que o sítio ativo desta enzima possui mutações que podem influenciar na atividade da enzima. Mais estudos precisam ser realizados para confirmar essa hipótese, o que pode contribuir para a compreensão da função biológica da tirosinase

Agradecimentos

Ao meu Deus e a Faculdade Integrada Brasil Amazônia – FIBRA por me proporcionar grandes oportunidades.

¹ M. Goldfeder *et al.* / Biochimica et Biophysica Acta 1834 (2013) 629-633

V Simpósio de Simulação Computacional e Avaliação Biológica de Biomoléculas na Amazônia

Planejamento *in silico* que apontam a ação inibidora do ácido kójico contra glioxalase I combatendo a leishmaniose

Rutelene N. B. de Sousa¹, Jéssica de O. Araújo¹, Renan P. da P. Valente¹, Amanda R. S. Oliveira², Clauber H. S. da Costa², João E. V. Ferreira³, Antonio F. Figueiredo⁴, Ricardo M. de Miranda^{5*}

¹Instituto Federal de educação, Ciência e Tecnologia do Pará. Campus Belém-PA, Amazônia, Brasil. (IC)

²Universidade Federal do Pará, Campus Belém- PA, Amazônia, Brasil. (PG)

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará Campus Tucuruí-PA, Amazônia, Brasil. (PQ)

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará Campus Castanhal-PA, Amazônia, Brasil. (PQ)

⁵ Instituto Federal de educação, Ciência e Tecnologia do Pará. Campus Belém-PA, Amazônia, Brasil. (PQ)

Av. Alm. Barroso, 1155 - Marco, Belém - PA, 66093-020

Rua Augusto Corrêa, 1 - Guamá, Belém - PA, 66075-110

Rua Porto Colombo, 12 - Vila Permanente, Tucuruí - PA, 68455-695

BR 316, Km 61 - Saudade II - Cristo Redentor, Castanhal - PA, 68740-970

Av. Alm. Barroso, 1155 - Marco, Belém - PA, 66093-020

Palavras Chave: ácido Kójico, Glutathione, Glioxalase I, Leishmania.

Introdução

Doença causada pelos protozoários do gênero *Leishmania* sp, a leishmaniose é transmitida por mosquitos flebotomíneos; o protozoário, em sua forma flagelada (promastigota), ataca diretamente células macrófagas do hospedeiro enquanto que se reproduz voltando a fase amastigota (não-flagelada). A doença se apresenta principalmente em 2 diferentes tipos: (1) cutânea ou tegumentar e a (2) visceral ou Calazar.

Segundo o programa Médicos Sem Fronteira (MSF), atualmente a leishmaniose é considerada a segunda doença parasitária que mais mata no mundo perdendo somente para a malária.¹ A doença afeta principalmente as pessoas pobres da África, Ásia e América Latina, e está associada à desnutrição, deslocamento da população, condições precárias de habitação, sistema imunológico fraco e falta de recursos. Uma análise recente mostra que mais de 98 países e territórios são endêmicas para leishmaniose.²

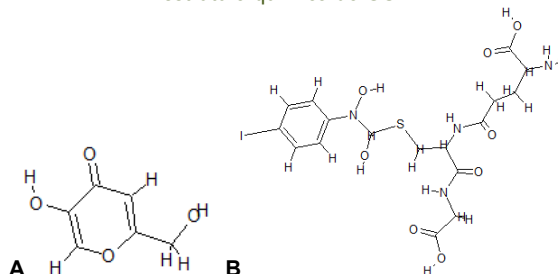
Assim, sabendo-se que vias metabólicas alternativas com ponto de acolhimento são pontos de partida lógico para a descoberta de novos medicamentos, a via glioxal é vista como uma possibilidade de via inibitória, dando foco à metaloproteína Glioxalase I. A mesma age como inibidora da via glioxal, responsável pelo processo de glicação que acarreta inúmeros problemas para a saúde do organismo. A Glioxalase I é uma enzima homodímera com duas cadeias idênticas, onde cada cadeia possui um sítio ativo composto por dois Zn²⁺ complexados com dois GLU (172 e 99), uma GLN (33) e uma HIS (126) além de duas águas. O Zinco é um essencial cofator presente no sítio ativo com importante ação estrutural e catalítica³, estes funcionam como portas para a interação.

Devido a algumas propriedades químicas do ácido Kójico (KOJ), fármaco usado atualmente na

dermatologia, ele é um possível inibidor da enzima por sua semelhança estrutural com o substrato presente na enzima, a Glutathione (GSH). O ácido Kójico possui um grupo -HC₂-OH (grupo ceto) e um grupo hidroxil, assim como a GSH⁴. Sendo assim, o KOJ tem possibilidades de obter uma interação estável com a proteína imitando a GSH e inibindo sua ação de desintoxicante.

Para isso, neste trabalho foram utilizados métodos computacionais como o de dinâmica Molecular para simular o comportamento do ligante dentro da metaloproteína. As simulações de dinâmica molecular foram feitas com auxílio do conjunto de programas AMBER 12⁵. Foi utilizado o campo de força ff99SBildn^{6,7} para a descrição da proteína e do solvente usado. Por ser uma metaloproteína foi necessário criar uma parametrização específica para os átomos de Zinco com ajuda do software Leap^{6,7} do pacote AMBER, além de incluir na formação do complexo as interações que o metal faz com os resíduos catalíticos e com o ligante substituindo a GSH pelo ácido Kójico (figura 1). Após ser formado, contraíons foram adicionados (Na⁺) e o complexo foi solvatado.

Figura 1: (A) estrutura química do ácido Kójico. (B) estrutura química do GSH.

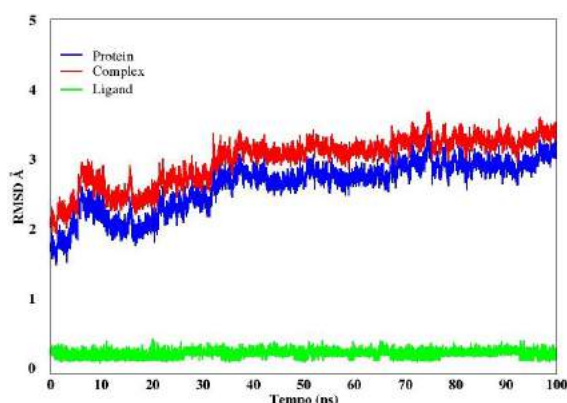


V SSCABBA – Universidade Federal do Pará

Resultados e Discussão

Foram simulados exatos 100 ns de produção onde o comportamento do KOJ dentro do sítio ativo da Glioxalase I humana foi minunciosamente observado. Ao fim da produção foram gerados gráficos de (desvio quadrado médio) RMSD e flutuação para o sistema. No gráfico 1 temos o comportamento de todo o sistema representado pelo RMSD. O RMSD é um estratégia usada para analisar principalmente o comportamento de macromoléculas; ligantes geralmente são estruturas pequenas sendo mais fácil de controlar diferente de proteínas, assim com o RMSD é maior a possibilidade de conseguir controlar o sistema pela visão dos desvios sofridos ao longo da produção. É notável que receptor e complexo possuem um desvio quadrado médio (RMSD) abaixo de 3Å em alguns pontos até chegar a estabilidade, alcançada acima de 3Å, enquanto que o ligante tem um desvio bem próximo a 0 o que significa que seu desvio da estrutura inicial foi pouco ao decorrer da simulação.

Gráfico 1: RMSD do complexo, proteína e ligante.



A fim de analisar o quanto este desvio afetaria as interações no sítio ativo (figura 2) foi gerado gráfico de flutuação dos aminoácidos ao longo dos 100ns. O gráfico de flutuação (gráfico 2) é utilizado para analisar o grau de movimentação por aminoácido durante a produção

Figura 2: sítio ativo com o ácido kójico complexado com o Zn^{2+} .

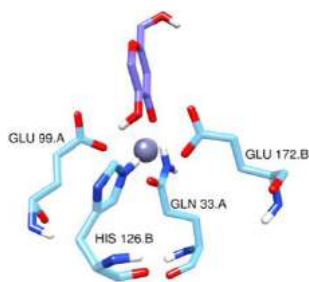
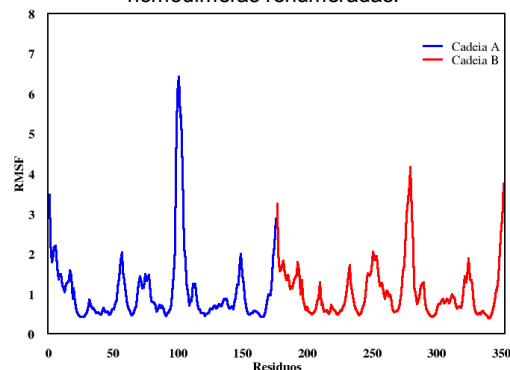


Gráfico 2: gráfico de flutuação com as duas cadeias homodímeras renumeradas.



Para fazer a produção foi necessário renumerar as duas cadeias onde o aminoácido Gln 33.A mudou para Gln 26, o Glu 99.A para Glu 92, o His 126.A (His protonada na posição Epsilão) para His 295 e o Glu 172.B para Glu.341. Assim foram observados, sob a nova numeração, os aminoácidos catalíticos no gráfico de flutuação onde se pôde perceber que o sítio ativo teve uma baixa flutuação acusando uma maior estabilidade do mesmo, mostrando por meio destas primeiras análises preliminares que existe a possível ação inibitória do KOJ na glioxalase I, estudos de energia livre de ligação serão realizados para dar mais consistência a essa proposta.

Conclusões

Com base nas análises de gráfico, pode-se observar um RMSD relativamente alto para a proteína, contudo com base no RMSF, onde os aminoácidos do sítio ativo tiveram baixa flutuação, e no RMSD do ligante, onde o mesmo se mostrou estável durante todos os 100 ns, foi possível concluir que o ácido Kójico demonstrou bom comportamento ao complexar com o Zn^{2+} . Possibilitando a ação do mesmo como nova droga no combate à Leishmaniose através da via glioxal.

Agradecimentos

Agradecimentos ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará campus Belém; ao Laboratório de química Teórica e computacional (LQC) do IFPA por propiciar subsídios necessários para a realização da pesquisa em questão. Ao Laboratório de planejamento e desenvolvimento de Fármacos (LPDF) da Universidade federal do Pará-campus Belém, onde o professor Cláudio Nahum Alves permitiu a interação com o aluno de Iniciação Científica Guelber Cardoso Gomes, interação

crucial para a conclusão do trabalho. Além de agradecer ao Professor Ricardo Moraes de Miranda e a toda a equipe do LQC que auxiliaram na conclusão deste.

¹ Programa Médicos Sem Fronteiras. Disponível em: <<http://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/leishmaniose>>. Acesso em 5 de outubro de 2016.

² World Healthy Organization. Disponível em: <http://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/>. Acesso em 5 de outubro de 2016

³Cameron A D, Ridderström M, Olin B, Kavarana M J, Creighton D J, Mannervik C, 1999. **Reaction Mechanism of Glyoxalase I Explored by an X-ray Crystallographic Analysis of the Human Enzyme in Complex With a Transition State Analogue**. American Society Chemistry.

⁴ KAKKAR, R. SINGH, C. Theoretical Study of the Kojic Acid Structure in Gas Phase and Aqueous Solution. International Journal of Quantum Chemistry. Vol 111, 4318-4329 (2011).

⁵ Case DA, Cheatham TE 3rd, Darden T, Gohlke H, Luo R, et al. (2005) The Amber biomolecular simulation programs. J Comput Chem 26: 1668-1688.

⁶ M.Kolar,K.Berka,P.JureckaandP.Hobza, ChemPhysChem, 2010, 11,2399–2408.

⁷K.Lindorff-Larsen,S.Piana,K.Palmo,P.Maragakis, J.L.Klepeis,R.O.DrorandD.E.Shaw, Proteins,2010, 78,1950–1958.

Estudo in silico de espectroscopia de ^{13}C RMN e UV-Vis combinado com química quântica para molécula inibidora da enzima CYP51

Renan P. P. Valente (IC)¹, Ádria P. B. Saraiva(IC)¹, Antonio F. Florêncio(PQ)², João E. V. Ferreira(PQ)³, Ricardo Morais de Miranda(PQ)*,¹

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – Campus Belém

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – Campus Castanhal

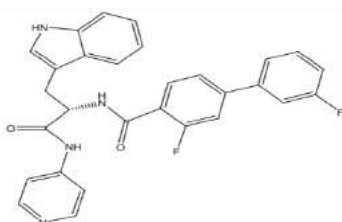
³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará – Campus Tucuruí

Palavras Chave: ^{13}C RMN, UV-Vis, Homo e Lumo

Introdução

A doença de Chagas, tripanossomíase americana, é uma doença causada pelo protozoário parasita *Trypanosoma cruzi*. Segundo a Organização Mundial da Saúde, em sua última atualização, 2016, cerca de 6 a 7 milhões de pessoas foram cogitadas para ter a doença. As drogas disponíveis para o tratamento no mundo, atualmente, são nifurtimox e benznidazol, todavia são limitadas, pois apresentam bons resultados apenas na fase aguda da doença. As ações dessas drogas dentre todas as outras, são extremamente dependentes de suas propriedades eletrônicas, pois estas modelam as ligações tanto intra, quanto intermoleculares, que por sua vez estão relacionadas às suas atividades biológicas. Na tentativa de levantar novas drogas para atender ao tratamento adequado para a doença, estudos recentes identificaram que a molécula 2-flúor-4-(3-flúor-fenil)-N-[(2S)-1-(4-aminopiridina)-1-oxo-3-indol-propil]benzamida (figura 1), análoga ao LP10, um inibidor do parasita, têm estável atividade contra a enzima α -demetilase (CYP51) presente no organismo do *Trypanosoma cruzi*.

Figura 1. Estrutura bidimensional do 2-flúor-4-(3-flúor-fenil)-N-[(2S)-1-(4-aminopiridina)-1-oxo-3-indol-propil]benzamida



Fonte: Choi, J. Y e col. 2013.

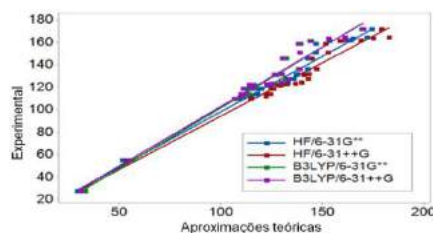
Contudo na literatura consta somente sinais de RMN para ela, por isso, no presente estudo, procurou-se encontrar um método eficaz para reproduzir esses sinais e, em seguida, com esse mesmo método gerar dados ainda não dispostos para ela, tais como espectro de absorção de UV-Vis, cálculo de potencial eletrostático e orbitais moleculares, com ênfase nos de fronteira que foram analisados quimicamente. Em outras palavras, combinou-se espectroscopia de ^{13}C RMN e UV-Vis com estudos quânticos a fim de se explorar mais sobre a estrutura eletrônica dessa molécula

V SSCABBA – Universidade Federal do Pará

antichagásica. O passo inicial foi a otimização geométrica da estrutura molecular. A princípio, no banco de dados de proteína, RCSB – PDB: Protein Data Bank, havia disponível resultados de cristalografia de raios-x do complexo da molécula com seu alvo, a enzima CYP51, da super família dos citocromos P450. Dessa forma, isolou-se a molécula de seu alvo para realizar os cálculos, mas como nesse banco de dados as estruturas não contêm hidrogênios, foi necessário os adicionar e otimizar para estabilizar a molécula. Como critério, usou-se a DFT com funcional B3LYP, junto a função de base gaussiana 6-31G e duas funções polarizadas (d,p). Cabe ressaltar que esse cálculo e os demais, como RMN, UV-Vis, MEP e energia dos orbitais, foram todos realizados com programa Gaussian 03. No passo seguinte, realizou-se os cálculos de RMN, a nível de teoria Hartree-Fock e DFT-B3LYP, com método GIAO – *Gauger Independent Atomic Orbital*, padrão para esse tipo de investigação no Gaussian, com conjunto de base variando, 6-31G (d,p) e 6-31++G, esses cálculos foram validados estatisticamente por meio do coeficiente de determinação de regressão linear (R^2), e aquele melhor validado foi usado para a reprodução de dados ainda não disponíveis para a molécula como citado anteriormente. Portanto, junto ao nível/conjunto base do cálculo validado, usou-se a técnica TD, *time dependent*, para realização dos cálculos de UV-Vis com a molécula no estado de singleto, já para os de potencial eletrostático, usou-se como base cargas do método RESP. As imagens de MEP e orbitais de fronteira homo e lumo foram geradas com programa Molekel 5.1, e os cálculos estatísticos de regressão linear com o minitab, os gráficos também foram gerados com este programa.

Resultados e Discussão

Figura 2. Gráfico de correlação entre os cálculos de ^{13}C RMN



Fonte: próprio autor

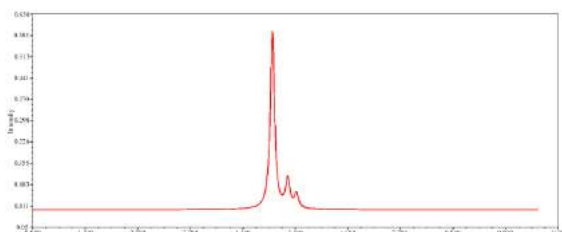
Considerando que coeficientes de determinação (R^2) ideais são aqueles mais próximos de 1, pois demonstram boa concordância e baixos desvios, os resultados tanto a nível HF, quanto DFT-B3LYP, mostraram-se satisfatórios conforme o gráfico de correlação (figura 2) e a tabela 1.

Tabela 1. Nível de teoria/conjunto base e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2)

Dados	Hartree-Fock		DFT-B3LYP	
Conj. base	6-31G(d,p)	6-31++G	6-31G(d,p)	6-31++G
R^2	0.9746	0.9673	0.9638	0.9591

Quanto aos resultados de UV-Vis (Figura 3), os picos medidos em (eV, Intensidade) foram respectivamente 5.026-0.591, 5.344-0.009 e 5.534-0.045. Essa variação indica que a molécula absorve na região ultravioleta média, que tem comprimento de onda entre 300-200 nm e energia de 2.7 a 6.2 eV.

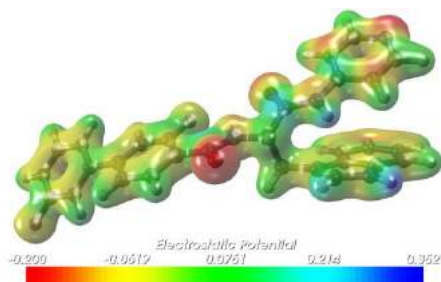
Figura 3. Espectro de UV-Vis



Fonte: próprio autor

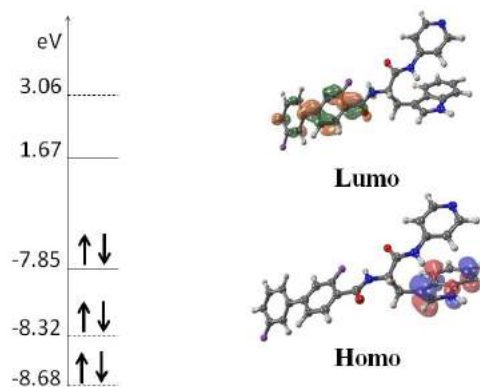
Já em relação ao potencial eletrostático da molécula, o qual está ilustrado em forma de mapa (figura 4), chamou atenção a existência de uma proeminência de cargas negativas no nitrogênio do grupo 4-aminopiridina, parte que compõe a região farmacofórica da molécula, responsável pela interação e, por conseguinte, inibição da enzima CYP51, fundamental para a sobrevivência do parasita *Trypanosoma cruzi*.

Figura 4: mapa do potencial eletrostático da molécula, regiões de cores vermelhas indicam potenciais mais negativos $-V(r)$, o restante são potenciais crescentes no sentido do mais positivo $+V(r)$, ilustrado pela cor azul.



Fonte: próprio autor

Figura 5: diagrama de energia dos orbitais moleculares



Fonte: próprio autor

O estudo químico-quântico mostrou que o homo, o orbital molecular de mais alta energia ocupado por pelo menos um elétron¹, tem uma considerável diferença de energia em relação ao lumo, aquele de mais baixa energia não ocupado por elétrons¹ conforme a figura 5, onde o primeiro está ocupado por 2 elétrons e tem energia de -7.85 eV, já o lumo não contém elétron e tem energia positiva de 1.67 eV, melhor dizendo, é uma região instável comparada ao homo.

Conclusões

De maneira geral, houve coerência entre o estudo químico-quântico e o espectroscópico. Visto que de acordo com os cálculos há a possibilidade de o elétron saltar quanticamente do orbital molecular homo para o orbital lumo, pois a diferença de energia dos orbitais está exatamente na região ultravioleta média cuja molécula absorve. E o potencial eletrostático negativo proeminente no nitrogênio do grupo 4-aminopiridina explica sua ligação coordenada com o ferro²⁺ do grupo heme, pois ao interagirem há uma estabilização de cargas para o ligante e o ion e isso desencadeia a inibição do parasita.

Agradecimentos

Agradeço ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará. A Diretoria de pesquisa, pós graduação e inovação. Ao professor e orientador Ricardo Moraes de Miranda e ao grupo de Química Teórica e Computacional do Laboratório de Química Computacional do IFPA/ Campus Belém.

¹ ATKINS, P.W.; JONES, Loretta. Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 5ª ed. Editora Bookman, Porto Alegre, 2011

²BORKOWSKI, E. J. e col. Correlation Between Experimental and DFT/GIAO Computed ¹³C NMR Chemical Shifts of Organic

Compounds. Effects of Asymmetry The Open Natural Products Journal, **2012**..

³Choi, J. Y e Col. Rational Development of 4- Aminopyridyl-Based Inhibitors Targeting Trypanosoma cruzi CYP51 as Anti-Chagas Agents. Estados Unidos, **2013**.

⁴CYP51. Instituto Oswaldo Cruz (IOC), disponível em: <http://www.fiocruz.br/> (Acessado em Junho de **2016**).

⁵ MONTANARI, C. A. Química Medicinal: métodos e fundamentos em Planejamento de fármacos. São Paulo: Edusp, **2011**.

⁶Viana J. D. M.; Fazzio A. ; Canuto S. Teoria quântica de Moléculas e Sólidos. Editora: livraria da fisica, São Paulo, **2014**.

⁷World Health Organization. Chagas disease (American trypanosomiasis), Disponível em: www.who.int/ (Acessado em Junho de **2016**).

⁸J. J. Pedroso de Lima. Biofísica Médica (3.^a edição). Editora: Imprensa da Universidade de Coimbra, março de 2014.

Um mecanismo proposto para a toxicidade do *trans*-desidrocrotonina, o principal constituinte químico de *Croton cajucara*

Paulo Alexandre Panarra Ferreira Gomes das Neves (PG)*, Rosivaldo dos Santos Borges (PQ)

Núcleo de Estudos e Seleção de Moléculas Bioativas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, PA, Brasil. paulo.panarra@gmail.com

Palavras Chave: *Trans*-desidrocrotonina, DFT, Derivados simplificados, oxidação, metabolismo, toxicidade.

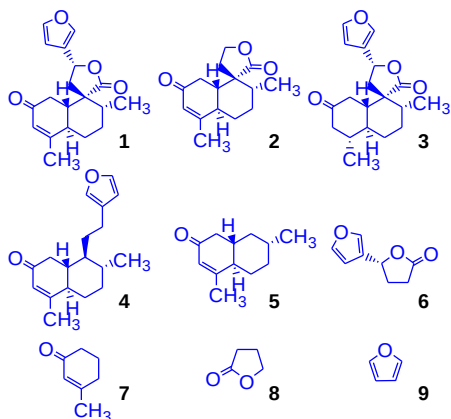
Introdução

O *Croton cajucara* Benth, conhecida como sacaca, pertence à família Euphorbiaceae¹. Ela é usada no combate à diabetes, diarreia, malária, febre, problemas estomacais, inflamações do fígado, rins, vesícula e no controle de índices elevados de colesterol². A *trans*-desidrocrotonina (DCT) é o diterpeno mais abundante, com rendimento de 1,4%. Apesar de suas ações biológicas, seu uso indevido na medicina alternativa acarreta hepatite tóxica.³ Partindo deste contexto, o presente trabalho tem como objetivo selecionar o possível grupamento toxicofórico, através do estudo de simplificação molecular relacionado com a reatividade química.

Resultados e Discussão

Para identificar os possíveis grupos responsáveis pelo mecanismo de transferência de elétrons, uma simplificação molecular foi realizada, formando oito compostos a partir da DCT (**1**) por remoção do anel furano como grupo dador de elétrons (**2**), porção alceno (**3**), γ -lactona (**4**), ciclo-hexano (**5**), *trans*-decalina (**6**), e as porções mais simples, tais como a metil-ciclo-hexenona (**7**), lactona (**8**), e furano (**9**), como mostrado na Figura 1.

Fig. 1. Estrutura dos derivados da *trans* desidrocrotonina



As características estruturais e eletrônicas da *trans*-desidrocrotonina e derivados, tais como potencial de ionização (PI), as energias do orbital molecular de mais alta energia (HOMO) e o do orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO), foram determinadas usando a Teoria do funcional de densidade (DFT). Os cálculos semi-empírico PM3 geometria⁴ e de química quântica foram realizados com o pacote molecular Gaussian

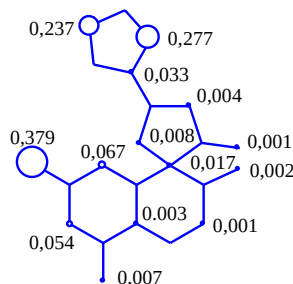
04.⁵ As propriedades eletrônicas descritas na Tabela 1 mostram que os valores de energia dos orbitais moleculares e potencial de ionização indicam um sinergismo entre os anéis ciclo-hexenona e furano para o maior caráter elétron doador da DCT. Enquanto que o anel lactona aumenta estas propriedades tanto individual quanto coletivamente.

Table 1. Propriedades eletrônicas teóricas dos derivados.

Compound	HOMO	LUMO	GAP	PI
1	-6,37	-1,21	5,15	180,48
2	-6,35	-1,19	5,16	191,12
3	-6,44	-0,41	6,02	182,04
4	-5,98	-1,17	4,80	174,85
5	-6,23	0,50	5,15	189,26
6	-6,47	0,08	6,56	193,63
7	-6,29	-1,16	5,13	195,58
8	-7,21	0,33	7,55	222,40
9	-6,12	0,50	6,62	196,27

Os resultados indicaram maior contribuição de spin para o anel furano, o que pode explicar um possível sítio de oxidação aromática preferencial na DCT, para a produção de intermediários do tipo epóxido. Essas características estruturais podem ser responsáveis pela ação tóxica da molécula DCT.

Fig. 1. Densidade de Spin da *trans* desidrocrotonina



Conclusões

As contribuições de densidade de spin mostraram as posições preferenciais mais reativas após uma transferência de elétrons. Um sinergismo molecular foi encontrado. Estes resultados podem auxiliar na proposição de derivados mais seguros por modificações moleculares.

¹ Maciel MAM et al. (2006) Revista Fitos, 2(3): 54-73

² Maciel MAM et al. (2002) Quim Nova, 25(3):429-438

³ Costa MP, et al. (2007) Rev. Bras. Farmacogn, 17(2): 275-286

⁴ Stewart JJP (1989) J Comput Chem 10:209

⁵ Parr RG, Yang W (1989) Density Functional Theory of Atoms and Molecules, Oxford University Press, New York.

ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE DA ENZIMA 21-HIDROXILASE POR MEIO DE MODELAGEM COMPUTACIONAL.

Autores: Ciro J. da Conceição¹ (IC), Ronaldo C. da Silva (PQ), Adonis de M. Lima¹ (PQ), Tarcísio A. A. Carvalho¹ (PQ), *Nelson A. N. Alencar¹ (PQ).

¹ FIBRA-(Faculdade Integrada Brasil Amazônia)

Enderço: Avenida Gentil Bittencourt, 1144 - Nazaré, Belém - PA, 66040-174.

Palavras chaves: 21hidroxilase, hiperplasia, mutações, homologia.

Introdução

A hiperplasia adrenal congênita (HAC) é uma das doenças hereditárias metabólicas, autossômicas recessivas mais comuns envolvendo diversas situações clínicas, que têm em comum a deficiência total ou parcial de enzimas envolvidas na síntese de cortisol. A deficiência da enzima 21-hidroxilase (21OH) é responsável por 95% dos casos^{1,3}. A duplicação de genes por meio do mecanismo evolucionário associado a mutações, gera divergências moleculares e consequente formação de famílias proteicas com estruturas relacionadas. As proteínas homólogas são aquelas que derivam de um ancestral comum, com isso a utilização da modelagem de proteínas por homologia é um método inovador utilizado para identificar proteínas de mesma similaridade, sendo um processo empírico baseado no alinhamento realizado entre as sequências que serão modeladas e sequências de proteínas evolutivamente relacionadas que apresentem estruturas tridimensionais resolvidas por técnicas como raio-X ou ressonância magnética nuclear – RMN^{2,3}.

Resultados e Discussão

Resultados E Discussão: foram encontradas muitas mutações, para comparação por homologia foram utilizadas P30L, I236N, V281L E Q318X. As estruturas tridimensionais geradas bem como o alinhamento do acoplamento da progesterona com cada mutação resultaram em modelos com boa conformação e elucidação. A mutação I236N é a mais próxima da Arg 234, (figura 1) importante ligante no sítio ativo da enzima, a interação entre elas mostra que I236N não causa alteração na relação enzima-substrato. Todos os acoplamentos mostraram bom alinhamento com as mutações em relação a enzima selvagem.

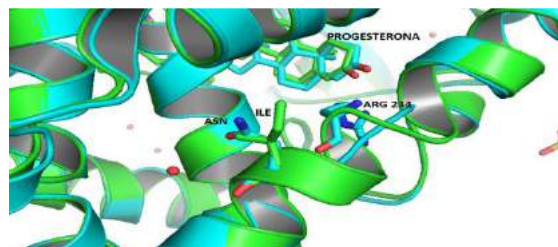


Figura 1: Localização e apresentação da mutação I236N em relação a Arg 234 (ILE verde e ASN azul).

Conclusões

Todos os modelos estudados podem ser utilizados para estudo de dinâmica molecular, no intuito de melhorar e avaliar a interação enzima-mutação, por ser a dinâmica molecular um método mais preciso de modelagem por homologia.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pela oportunidade, aos meus familiares e amigos pela ajuda nas horas de dificuldades, aos meus professores, em especial, o professor Nelson Alencar, por me incentivar a cada dia.

Referências :

- ¹ Bachega, T. A. S. Madureira, G. Brelha. M. L. Ueti, R. C. *et al* (2001). Tratamento da hiperplasia suprenal congênita por deficiência da 21-hidroxilase. *Arq Bras Endocrinol Metab.* vol 45, nº 1, p. 64-72, Fevereiro.
- ² Mello, M. P. Bachega T. A. Santos, M. C. *et al* (2002). Bases Moleculares da Hiperplasia Adrenal Congênita. *Arq Bras Endocrinol Metab* vol 46 nº 4, p. 457-477 agosto
- ³ Pradeep S. Pallan, Chunxue Wang, Li Lei, *et al* (2015). Human Cytochrome P450 21A2, the Major Steroid 21-Hydroxylase structure of the enzyme progesterone substrate complex and rate-limiting c-h bond cleavage. *The journal of biological chemistry* VOL. 290, NO. 21, pp. 13128–13143, May 22.

Análise *in silico* da glutathione S-transferase classe delta em *Anopheles darlingi* resistentes ao diclorodifeniltricloroetano (DDT).

Marina L. S. Möller^{1,2} (IC), Rafael Sousa³ (PG), Nelson A. Alencar^{1,2} (PQ), Ronaldo. C. Silva^{1,2} (PG) e Adonis M. Lima^{*1,2} (PG)

¹Universidade de Federal do Pará, ²Faculdade Integrada Brasil Amazônia, ³Instituto Evandro Chagas.

Palavras Chave: *Anopheles darlingi*, glutathione S-transferase, classe Delta, diclorodifeniltricloroetano (DDT), modelagem molecular.

Introdução

Na década de 50 o inseticida organoclorado diclorodifeniltricloroetano (DDT) foi utilizado ostensivamente para o controle vetorial da malária, resultando no aparecimento de anophelinos resistentes ao DDT². A classe delta da glutathione S-transferase (GST) está presente no *Anopheles darlingi*, e atua no processo de desintoxicação do organismo contra inseticidas organoclorados¹. O entendimento metabólico desta proteína torna-se estratégico para a elaboração de novas abordagens de combate a este vetor. Para tanto foi utilizado o método de modelagem comparativa com o programa Modeller 9.15 a partir da sequência de 221 aminoácidos da GST classe delta do *Anopheles darlingi* (Genebank ID: ETN63518.1), usou-se como molde a proteína de código 1JLV disponível no servidor *Protein Data Bank*³. O programa Molegro Virtual Docking foi empregado para acoplar a proteína ao seu cofator GSH. O pacote de programas AMBER12 foi utilizado para simular 210 ns de dinâmica molecular. O Cpptraj foi usado para calcular o desvio quadrático médio (RMSD), a flutuação dos carbonos alfas (RMSF) e a medida das ligações de hidrogênio. A verificação da contribuição energética de cada resíduo⁴ foi executada pelo servidor ABS-scan (<http://proline.biochem.iisc.ernet.in/absan>).

conformacionais, confirmando assim a qualidade das análises realizadas. A conservação dos resíduos do sítio G permitirá o estudo das interações entre a enzima e o inseticida DDT.

Agradecimentos

À Faculdade Integrada Brasil Amazônia pelo suporte financeiro e a Universidade Federal do Pará pelo suporte estrutural.

¹ R. Udomsinprasert, S. Pongjaroenkit, J. Wongsantichon, A. J. Oakley, L. Prapanthadara, M. C. J. Wilce, and A. J. Ketterman, "Identification, characterization and structure of a new Delta class glutathione transferase isoenzyme," vol. 771, pp. 763–771, 2005.

² O. Marinotti, G. C. Cerqueira, L. G. P. de Almeida, M. I. T. Ferro, E. L. D. S. Et al, "The genome of *Anopheles darlingi*, the main neotropical malaria vector.," *Nucleic Acids Res.*, vol. 41, no. 15, pp. 7387–400, Aug. 2013.

³ M. S. Madhusudhan, M. a Marti-renom, N. Eswar, U. Pieper, R. Karchin, M. Shen, and A. Sali, "Comparative Protein Structure Modeling"

⁴ Cornell WD, Cieplak P, Bayly CI, Gould IR, Merz KM Jr, Ferguson DM, Spellmeyer DC, Fox T, Caldwell JW, Kollman PA (1995). "A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules". *J. Am. Chem. Soc.* **117**: 5179–5197.

Resultados e Discussão

Pôde-se verificar no modelo construído a forma canônica das GST's. Seis alfa-hélices e quatro beta-folhas. Um domínio N-terminal com 78 aminoácidos e um domínio C-terminal com 132 aminoácidos. O desvio quadrático médio (RMSD) e o desvio de flutuação média (RMSF) se mantiveram abaixo de 3 Å durante toda a simulação. Notou-se que o cofator GSH interagiu através de ligações de hidrogênio com os aminoácidos SER9, HIS50, VAL52, GLU64, SER65, ARG66, constituintes do sítio ativo conhecido na literatura como sítio G¹. O servidor ABS-scan atribuiu valor positivo a SER9, o que confere ao resíduo maior contribuição energética, portanto, conferindo a ele uma grande importância para a estabilidade do cofator GSH no sítio ativo.

Conclusões

Durante os 210 ns de dinâmica molecular, o sistema não demonstrou grandes alterações
V SSCABBA – Universidade Federal do Pará

Planejamento de Derivados do Benzonidazol por Modelagem Molecular

Fernanda Menezes Costa¹ (PG), Joyce K. L. Vale (PG)², Rosivaldo S. Borges (PQ)^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Química Medicinal e Modelagem Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade de Federal do Pará. ²Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade de Federal do Pará. E-mail: lqfmed@gmail.com

Palavras-chave: Benzonidazol, Derivados, Toxicidade, Modelagem Molecular.

Introdução

O benzonidazol (BZN) ou *N*-benzil-2-nitroimidazol-1-acetamida é um medicamento que foi lançado em 1980 e começou a ser comercializado pela Roche, com o nome Rochagan®.¹ Sua molécula possui a função amida, um grupo fenil e um grupo nitro ligado a um anel imidazólico (Figura 1). Atualmente, é utilizado em diversos tratamentos no Brasil, como leishmaniose e Doença de Chagas.²

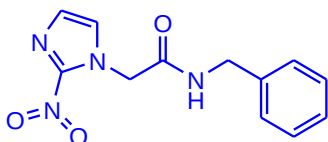


Figura 1. Benzonidazol.

Apesar de ser o único medicamento utilizado no tratamento de doença de Chagas no Brasil, o BZN possui certa toxicidade, que pode ser atribuída a alguns fatores, como por exemplo, a ação do radical nitro sobre moléculas tais como o DNA, geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) ou inibição de enzimas¹. Assim, o objetivo do trabalho foi planejar derivados do BZN para diminuir a toxicidade da molécula, iniciando pela modificação molecular do anel nitro-azólico.

Resultados e Discussão

As moléculas derivadas (Figura 2) tiveram suas geometrias otimizadas utilizando o método semi-empírico PM3, empregado também na obtenção de parâmetros eletrônicos, métodos teóricos para caracterização de parâmetros moleculares não eletrônicos usando softwares computacionais como Chem Draw, Hyper Chem e Gaussian 09.

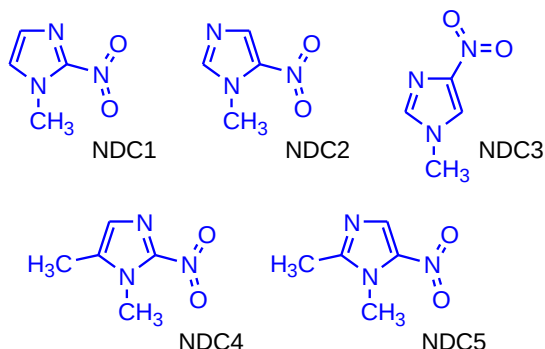


Figura 2. Derivados do benzonidazol.

Os resultados teóricos (Tabela 1) mostraram que a molécula NDC4 possui o menor valor de Potencial de Ionização (PI) e o segundo maior valor de Afinidade Eletrônica (AE), portanto, teoricamente, este derivado pode apresentar uma toxicidade mais baixa que os demais. O que difere a molécula NDC4 da NDC2 é apenas a presença do radical metil, que por ser doador de elétrons, tem a capacidade de diminuir sua toxicidade³.

Tabela 1. Propriedades teóricas dos derivados.

Composto	HOMO (eV)	LUMO (eV)	GAP (eV)	PI (kcal/mol)	AE (kcal/mol)
1	-7,11	-2,38	4,72	216,10	-0,94
2	-7,26	-2,42	4,84	219,24	-2,10
3	-7,14	-1,93	5,21	216,37	9,94
4	-6,80	-2,25	4,55	205,79	0,04
5	-6,93	-2,27	4,66	209,06	-0,59

O mesmo ocorre com os valores dos orbitais de fronteira, onde pode-se observar que NDC4 possui o maior valor de HOMO e menor valor de GAP, confirmando que este derivado apresenta a menor toxicidade^{3,4}. A introdução do grupo metila altera consideravelmente estes parâmetros e pode se tornar uma importante alternativa de modificação molecular do benzonidazol.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, é possível concluir que a presença do radical metil foi determinante para a diminuição da toxicidade das moléculas derivadas. O efeito deste radical ficou evidente ao comparar NDC1 e NDC2 com NDC4 e NDC5 respectivamente, tendo em vista que os valores sofreram uma mudança significativa.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESPA pelo apoio financeiro.

¹ Barbosa, V. S. A.; Holanda, C. M. C. X.; Silva, R. P.; Oliveira, D. P.; Silva Júnior, M. F.; Oliveira, E. H.; Spyrides, M. H. C.; Medeiros, A. C. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **2008**, 51, 1.

² Pontes, V. M. O.; Souza Júnior, A. S.; Cruz, F. M. T.; Coelho, H. L. L.; Dias, A. T. N.; Coelho, I. C. B.; Oliveira, M. F. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **2010**, 2, 43.

³ Borges, R. S.; Oliveira, J. P.; Matos, R. F.; Chaves Neto, A. M. J.; Carneiro, A. S.; Monteiro, M. C. J. *J. Mol. Model.* **2015**, 21, 166.

⁴ Borges, R.S.; Nagurniak, G.R.; Queiroz, L.M.D.; Maia, C.S.F.; Barros, C.A.L.; Orestes, E.; Silva, A.B.F. *Med. Chem. Res.* **2016**, 25, 2.



Estudo químico de derivados do nitrofeniletano

Maritza Echevarría Ordoñez (PG), Joyce K. L. Vale (PG), Rosivaldo S. Borges (PQ)

Programa de pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia, Pro-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade Federal Do Pará.
Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais. Universidade Federal Do Pará
Perimetral, SN -Bairro do Guamá, Belém-PA, CEP 66075-110.



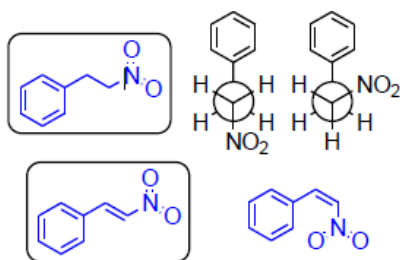
Introdução

O nitrofeniletano (1-nitro-2-feniletano) é o principal componente do óleo essencial da *Aniba canelilla* (H.B.K.) Mez., conhecida no estado do Pará como casca-preciosa. As partes da planta tem indicações como afrodisíaco, analgésico, anticonvulsivo, antidepressivo, cefálico, antimicrobiano, anti-séptico, bactericida, carminativo, desodorizante, digestivo, estimulante, peitoral, tônico. O percentual de no óleo chega a 95% de nitrofeniletano no período chuvoso, e em épocas secas atinge valores diminuídos, em torno de 39%.¹ É o único nitro derivado odorífero que se conhece, responsável pelo cheiro de canela das cascas desta planta.²



Estudos sugerem que o nitrofeniletano apresenta ação antinociceptiva e anti-inflamatória, com provável origem periférica. O valor da DL50 correspondente a 712 ± 17 mg/kg, classificando esta substância como pertencente aos agentes xenobióticos de classe 4 (pouco tóxica). O nitrofeniletano apresenta muitas conformações, sendo duas de menor energia (Figura 1).⁴ Os primeiros derivados foram obtidos a partir da modificação molecular do grupamento etileno pela introdução de um grupo alceno, preferencialmente com o isomerismo *trans*, usando métodos teóricos de modelagem molecular.⁵ Assim este projeto prossegue na busca de novos derivados.

Fig. 1 Estrutura dos derivados do nitrofeniletano



Resultados e Discussão

O nitrofeniletano foi obtido através de extração hidro alcoólica das cascas de da *Aniba canelilla* (H.B.K.) Mez. e pela síntese a partir de três metodologias. Em seguida, as modificações moleculares foram realizadas para a obtenção de derivados híbridos através da reação de condensação aldólica (Figura 2), usando o nitrofeniletano como

Reagente, que contém o grupo -carbonílico, capaz de reagir com aldeídos aromáticos substituídos em metanol e solução aquosa de hidróxido de sódio a 10%.

Fig. 2. Estrutura dos derivados do nitrofeniletano

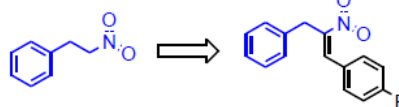
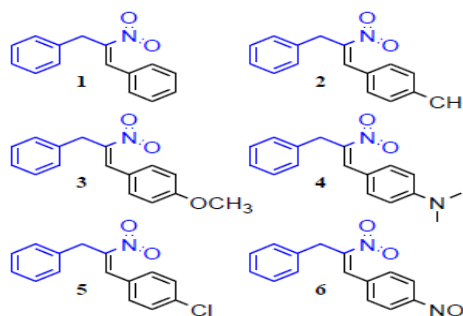


Fig. 3. Estrutura dos derivados do nitrofeniletano



Conclusão

O nitrofeniletano foi obtido através de fonte natural e por síntese química. Os derivados foram obtidos através de condensação aldólica.

Agradecimentos

Ao CNPq e FAPESPA.



- 1 Taveira, F.S.N., Lima, W.N. De, Andrade, E.H.A., Maia, J.G.S. *Biochem. System. Ecol.*, **2003**, 31,69-75.
- 2 Gottlieb, O.R., Magalhães, M.T. *Perf. Essent. Oil Rec.*, **1960**, 51, 18.
- 3 Lima, A. B. *Estudo da ação antinociceptiva e antiinflamatória do 1- nitro-2- feniletano, principal constituinte da Aniba canelilla*. **2008**.
- 4 Vale, K.J.L., Borges, R.S. et al, *Planta Medica*, **2013**, 79, 628-633.
- 5 Vale, J.K.L. *Estudo do mecanismo do nitrofeniletano na prostaglandina-endoperoxído sintase e relação estrutura-propriedade de nitroderivados*. **2011**.