



Universidade de Brasília



Universidade de Brasília - UnB

Instituto de Química - IQ

Curso de Bacharelado em Química Tecnológica

Estudo de estrutura eletrônica, ADMET, docking molecular e o desenho de novas moléculas híbridas derivadas da tacrina e de carbamatos

Estudante: Júlia Gabriela Bezerra dos Santos

Orientadora: Prof. Dra. Érica Cristina Moreno Nascimento

Coorientador: Prof. Dr. João Batista Lopes Martins

**Brasília, DF
2022**

Júlia Gabriela Bezerra dos Santos

Estudo de estrutura eletrônica, ADMET, docking molecular e o desenho de novas moléculas híbridas derivadas da tacrina e de carbamatos

Monografia apresentada ao curso de Graduação em de Bacharelado em Química Tecnológica da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso.

Orientadora:

Profa. Dra. Érica Cristina Moreno Nascimento

Coorientador:

Prof. Dr. João Batista Lopes Martins

Brasília – DF

2022

Júlia Gabriela Bezerra dos Santos

Apresentação em 27 de setembro de 2022

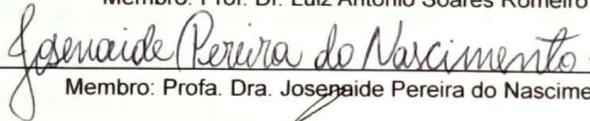
Banca Examinadora:



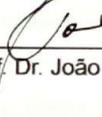
Presidente: Profa. Dra. Erica Cristina Moreno Nascimento



Membro: Prof. Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro



Membro: Profa. Dra. Josefaide Pereira do Nascimento



Membro: Prof. Dr. João Batista Lopes Martins

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus por ser tão bom comigo, me amando mesmo eu não merecendo e me proporcionando momentos únicos vividos neste período de graduação.

Aos meus pais, Evaldo e Janai, pelo amor incondicional, incentivo aos estudos e apoio em todos os momentos pois eu não seria metade do que sou sem eles.

Ao meu filho querido, Júlio Carlos Oto, por existir e me fazer tão feliz. Por ajudar com seu sorriso e carinho, a ter forças para concluir esse trabalho. Amo-te.

Ao meu irmão, Júlio Bernard e sua namorada Érica, pelo exemplo, por me incentivarem e me ajudarem a chegar até aqui.

À minha orientadora, a Professora Dra. Érica Moreno, pela orientação, dedicação, paciência, me apoiando nas decisões e escolhas e aconselhando com sabedoria nos momentos em que estive errada. Com certeza, um dos maiores ganhos durante a graduação foi ter conhecido essa pessoa ímpar que contribuiu imensamente no meu crescimento científico e pessoal.

Ao meu coorientador, o Professor Dr. João Batista pela oportunidade de usar os equipamentos do LQC.

A minha tia Juliana e meu padrinho Mário que partiram antes de me ver realizando esse sonho, mas que de onde estão, guiaram os meus passos para que eu chegasse até aqui.

Por último, repito: agradeço a Deus por tudo.

No princípio era o Verbo, e o Verbo estava com Deus, e o Verbo era Deus. Ele estava no princípio com Deus. Todas as coisas foram feitas por ele, e sem ele nada do que foi feito se fez.

(João 1: 1-3)

“A senda da virtude é muito estreita e o caminho do vício é largo e espaçoso. No entanto, seus fins são muito diferentes, porque o caminho do vício fácil leva à morte, e a via da virtude, restrita e trabalhosa, termina em vida, e não em uma vida que se acaba, mas na vida que não terá fim”.

Miguel de Cervantes

ÍNDICE

Capítulo 1-----	1
1. Introdução-----	1
Capítulo 2-----	3
2. Fundamentação Teórica-----	3
2.1 Teoria do Funcional de Densidade (DFT)-----	3
2.2 Métodos Teóricos para solvatação-----	4
2.3 Método ChelpG-----	5
2.4 ADMET-----	5
2.5 Docking Molecular-----	5
2.6 Modelagem molecular-----	5
Capítulo 3-----	6
3. Metodologia-----	6
3.1 Estudo de estrutura eletrônica-----	7
3.2 Estudo ADMET-----	9
3.3 Estudo de Docking-----	10
3.3.1 Preparo da proteína-----	10
3.4.2 Preparo dos ligantes-----	11
Capítulo 4-----	12
4. Resultados e Discussão-----	12
4.1 Desenho racional das moléculas híbridas-----	12
4.1.1 Molécula híbrida 1 (MH1)-----	13
4.1.2 Molécula híbrida 2 (MH2)-----	13
4.1.3 Molécula híbrida 3 (MH3)-----	14
4.1.4 Molécula híbrida 4 (MH4)-----	15
4.1.5 Molécula híbrida 5 (MH5)-----	16
4.2 Estudo de estrutura eletrônica-----	17
4.2.1 Energia e distribuição dos orbitais moleculares de fronteira-----	17
4.2.2 Estudo das cargas ChelpG-----	27
4.3 Estudo ADMET-----	29
4.4 Estudo de Docking-----	32
Capítulo 5-----	38
5. Conclusão-----	38
Capítulo 6-----	40
6. Referências Bibliográficas-----	40

Capítulo 1

1. Introdução

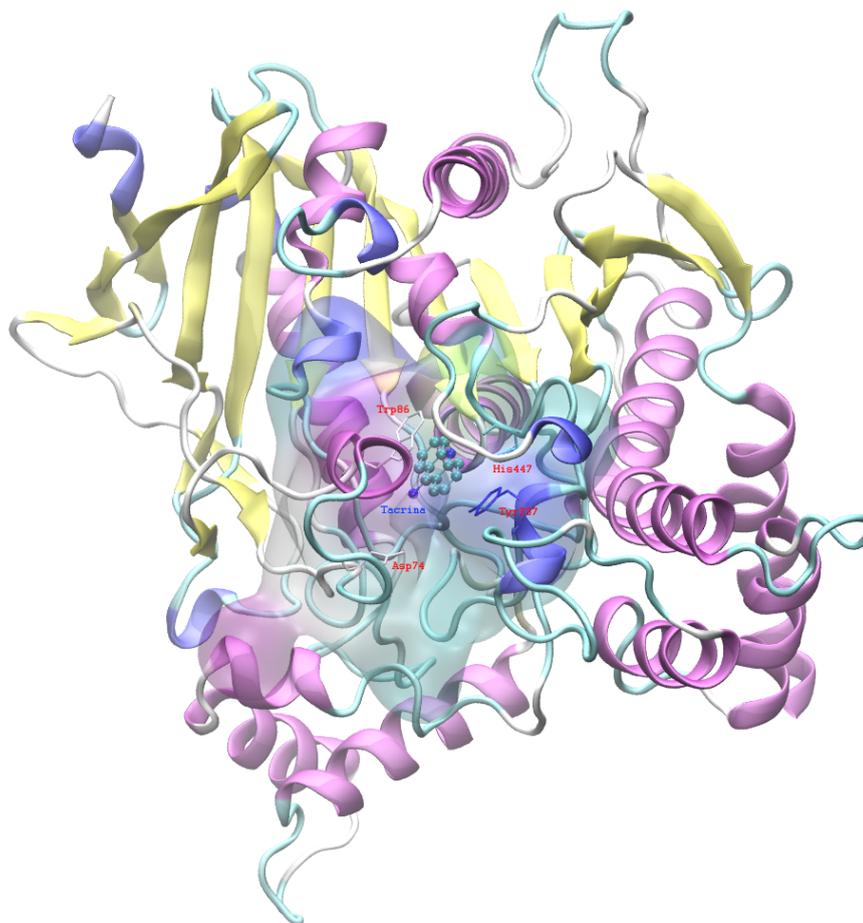
Em 1907, a Doença de Alzheimer (DA) foi descrita pela primeira vez na literatura pelo psiquiatra alemão Alois Alzheimer. Após realizar centenas de autópsias nos cérebros de seus pacientes, ele pôde observar que em muitas delas havia a diminuição da massa encefálica, manchas escuras e aglomerados fibrilares.

A Doença de Alzheimer não tem cura e sua ocorrência aumenta com o aumento da idade dos indivíduos. É uma doença neurodegenerativa e progressiva. Entre os vários sintomas manifestados, os principais são: a perda gradual de memória e senso crítico, desorientação temporal e espacial e dificuldade de aprendizado e memorização. A causa da DA ainda é desconhecida, suspeita-se de fatores genéticos, fatores ambientais e dos hábitos intelectuais praticados no decorrer da vida (NASCIMENTO, 2009, p.17).

A DA é acompanhada por disfunção precoce e perda de sinapses, afetando principalmente a transmissão excitatória no hipocampo e no córtex cerebral. Essas alterações podem contribuir com a perda da memória (Greenberg, 2014 p.115). Na tentativa de solucionar esta disfunção, vários fármacos foram usados, com a intenção de inibir a ação da AChE sobre o neurotransmissor. Estes fármacos são conhecidos como inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChEIs). Desde a introdução do primeiro fármaco anticolinesterásico, em 1997, estes representam as melhores e mais específicas opções terapêuticas farmacológicas na atualidade para o tratamento da DA (CAIXETA, 2012 p.395).

Neste trabalho foram desenvolvidas e propostas cinco novas moléculas, derivadas da tacrina e de carbamatos galantamina e fisostigmina com potencial ação inibitória frente a AChE humana (hAChE), Figura 1. Estas moléculas foram então modeladas computacionalmente por meio do estudo de suas propriedades eletrônicas e estruturais. Também foram classificadas qualitativamente por um estudo ADMET para prever suas viabilidades e indicações farmacológicas. E, por meio de um estudo de ancoragem molecular, buscou-se a predição da interação entre as novas entidades químicas e a enzima acetilcolinesterase humana (hAChE).

Figura 1 – Estrutura 3D da hAChE complexada com a tacrina. Em destaque a área do sítio ativo (gorge) e os principais resíduos que interagem com o inibidor, Trp86, Tyr337, His447 e o resíduo de reconhecimento, Asp74 representados em modelos de varetas. Estrutura cristalográfica retirada do PDB depositada sob o código 6O4X.



Capítulo 2

2. Fundamentação Teórica

Este estudo teve como objetivo compreender como ocorre o processo de funcionamento e de reconhecimento molecular da enzima que atua na doença de Alzheimer é fundamental para o desenvolvimento de fármacos que possam atuar de maneira a inibi-la. Neste trabalho, foram desenvolvidas e estudadas cinco moléculas híbridas, possíveis candidatas a AChEIs, por meio do estudo dos mecanismos de atuação destas moléculas em seus alvos bioquímicos usando cálculos de estrutura eletrônica e modelagem molecular.

2.1 Teoria do Funcional de Densidade (DFT)

A Teoria do Funcional de Densidade (DFT) foi desenvolvida para descrever um problema de muitos corpos em sistemas multieletrônicos. O intuito é calcular por a energia de um sistema polieletrônico e prever propriedades físicas e químicas de um determinado composto, usando a densidade eletrônica do sistema ao invés da função de onda diretamente, e essa teoria gerou implicações tecnológicas diversas. A DFT possibilita a economia de gastos computacionais, pois entre diversas opções, a modelagem computacional pode analisar e classificar quanto a vantagens e desvantagens antes de sua implementação. A DFT possui grande sucesso em termos de predição de propriedades, pois são informações úteis sobre comportamento de moléculas e seu possível uso com facilidade e consistência. É uma ferramenta versátil capaz de estudar uma vasta gama de materiais (FERREIRA, 2008; GUILHON,2018).

Segundo Guilhon (2018), a idéia principal da DFT é possibilitar que se trabalhe com um sistema, não usando a função de onda como principal grandeza, mas sim a densidade eletrônica. Portanto, nesse aspecto o DFT traz uma considerável simplificação do sistema. A consequência imediata é que diversas outras propriedades do estado fundamental do sistema também dependem exclusivamente da densidade eletrônica de partículas.

2.2 Modelos teóricos para solvatação (Solvatação implícita)

O solvente tem importante papel no processo de reconhecimento molecular, sendo participante ativo da função biológica resultante no ambiente intracelular. Moléculas de água são identificadas nas estruturas de Raios-X, resultantes na cristalização dos complexos receptor-ligante (R-L, onde R são geralmente as enzimas do sistema bioquímico em estudo, e L são moléculas de baixa massa molecular como substratos naturais, fármacos e pequenos peptídeos), salientando a importância da água na interação da enzima com seu ligante. Portanto, é relevante levar em consideração as moléculas de água nos estudos das interações de reconhecimento molecular e como as propriedades dos ligantes podem ser modificadas na presença do solvente (NASCIMENTO, 2014, p.88). A influência da solvatação nas reações químicas pode ser decisiva para direcionar qual produto será obtido e influenciar a cinética reacional. Dessa forma, considerando a importância da solvatação, para melhor descrever um sistema computacionalmente, se faz necessário o uso de modelos que a simulem. Existem duas grandes vertentes desses modelos: a solvatação explícita e a implícita.

A complementaridade molecular necessária para a interação do ligante com a biomacromolécula (receptora) pode ser simplificada ilustrativamente pelo modelo receptor-ligante. Neste modelo, proposto pelo químico alemão Emil Fischer para explicar a especificidade da interação enzima-substrato (BARREIRO, 2015, p.3).

Os modelos teóricos de solvatação implícita, também chamados de contínuos, reconhece que o soluto, com todos os seus átomos, esteja numa cavidade envolvida pela constante dielétrica do solvente, o que determina a separação entre solvente e soluto. Dessa maneira, o solvente não é estruturalmente representado, constituindo um meio contínuo e uniforme, em que se fixa o valor da constante dielétrica (ϵ), uma medida do quanto polar ou não é um solvente. Quanto maior for a constante, maior a polaridade (BARREIRO, 2015 p.249).

Entre os modelos implícitos, o SMD se destaca nesse trabalho. O SMD considera a tensão superficial na interface soluto-solvente e, no que concerne a variação de energia livre, são levadas em consideração as interações de curto alcance entre solvente e soluto, constituindo a primeira camada de solvatação e o SMD como um modelo implícito moderno e acurado (BARREIRO, 2015, p.242).

2.3 Método ChelpG

Um parâmetro considerável na modelagem de sistemas biológicos é a obtenção das cargas parciais dos átomos desse sistema. Para o estudo das cargas das moléculas citadas neste trabalho foi utilizado o método ChelpG que apresenta menor dependência da função de base na determinação das cargas atômicas parciais. O ChelpG é um método que deriva as cargas por meio do potencial eletrostático do sistema. Este método reproduz de maneira satisfatória o momento dipolar obtido pelos cálculos SCF (NASCIMENTO, 2014, p.90).

2.4 ADMET

O estudo de Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade (ADMET) é um aerógrafo muito utilizado nos estudos de farmacocinética e na farmacologia, e descreve a disposição de um fármaco em um organismo. Todos os critérios influenciam os níveis e a cinética da exposição dos tecidos à droga e, portanto, influenciam no rendimento e na atividade farmacológica dos compostos.

2.5 Docking Molecular

Um dos procedimentos que mais se popularizou nos últimos anos em estudos de química medicinal foi o Docking molecular (DM). O DM, também conhecido como atracamento ou docagem, é uma metodologia *in silico* essencial no estudo de fármacos, uma vez que fornece o prognóstico dos modos de ligação moléculas ao interagirem com um sítio receptor. As poses (conformações e orientações) do ligante são encontradas por algoritmos de busca, enquanto a classificação dessas soluções é conduzida em termos de afinidade pelo sítio de ligação via funções de pontuação (ou funções de score) (BARREIRO, 2015, p.246).

2.6 Modelagem molecular

O conceito da mecânica quântica representa hoje um novo instrumento de estudo da química, principalmente no âmbito teórico. No objetivo de prever propriedades e parâmetros moleculares, as aproximações da mecânica quântica são de grande aplicabilidade (FERREIRA, 2008; GUILHON, 2018).

A modelagem molecular é uma das mais importantes ferramentas, oriunda do desenvolvimento tecnológico, no planejamento de fármacos. Ela é considerada uma indispensável ferramenta no desenvolvimento de fármacos e na otimização dos

protótipos que já existem. Podendo ser utilizada tanto a estrutura eletrônica quanto a mecânica clássica (BARREIRO, 2015, p.245) .

A modelagem molecular é capaz de fornecer importantes informações sobre o alvo de estudo, permitindo que se obtenha propriedades específicas de uma molécula, como as que podem influenciar na interação entre fármaco e proteína. Como exemplos, a ferramenta é capaz de fornecer: mapa de potencial eletrostático, o contorno da densidade eletrônica, a energia e os coeficientes dos orbitais de fronteira HOMO (do inglês, orbital molecular ocupado de mais alta energia) e LUMO (do inglês, orbital molecular desocupado de mais baixa energia). Também é possível a visualização tridimensional da molécula e coletar informações sobre os requisitos estruturais dessa (BARREIRO, 2015, p.243).

Capítulo 3

3. Metodologia

A primeira etapa do projeto foi desenhar as moléculas que posteriormente foram propostas. Para isso realizou-se uma ampla revisão bibliográfica para elencar os híbridos combinados dos inibidores tacrina, galantamina e fisostigmina, moléculas com conhecida atividade inibitória frente a hAChE.

Para realização deste projeto também foram feitos cálculos computacionais baseados em métodos de mecânica quântica, mecânica clássica, e modelagem molecular. Para caracterização e obtenção das principais propriedades eletrônicas e estruturais, foram realizados estudos tanto no vácuo quanto em meio solvatado, usando o modelo de solvatação contínua implícita SMD (do inglês, Modelo de solvatação baseado na densidade).

A otimização das geometrias das moléculas estudadas foi realizada usando coordenadas redundantes para o cálculo de frequências a fim de caracterizar a energia de mínimo global da estrutura de cada molécula. Todos os cálculos foram realizados com base na teoria do funcional de densidade, usando o funcional híbrido B3LYP e a função de base 6-311+g(d,p) por meio do pacote computacional Gaussian16 (FRISCH et al., 2016).

Sequencialmente foi realizado o estudo teórico qualitativo de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade – ADMET, para caracterização dos novos potenciais inibidores. A fim de classificar qualitativamente a viabilidade da indicação farmacológica de cada molécula. Serão utilizados os programas

SwissADMET, OSIRIS e Molinspiration para a modelagem das propriedades que caracterizam um estudo ADMET, como por exemplo, o logP, propriedades moleculares como a massa molecular, o tamanho, o número de hidrogênios doadores e aceptores, a toxicidade, a quantificação do poder de mutagênese, e o poder de permeabilidade de membranas celulares humanas (DAINA et al., 2017; MCKEE et al., 2020)

Como descrito no esquema da Figura 2, a última etapa foi a caracterização e quantificação dos tipos de interação e a energia de ligação entre as moléculas propostas e a hAChE. Para o estudo de reconhecimento molecular a técnica de docking molecular foi aplicada e para este estudo foi usado o algoritmo do AutoDock 4.2.6 (MORRIS et al., 2009) usando a interface do pacote computacional AutoDock Tools.

Figura 2 - Esquema e planejamento da metodologia do projeto.

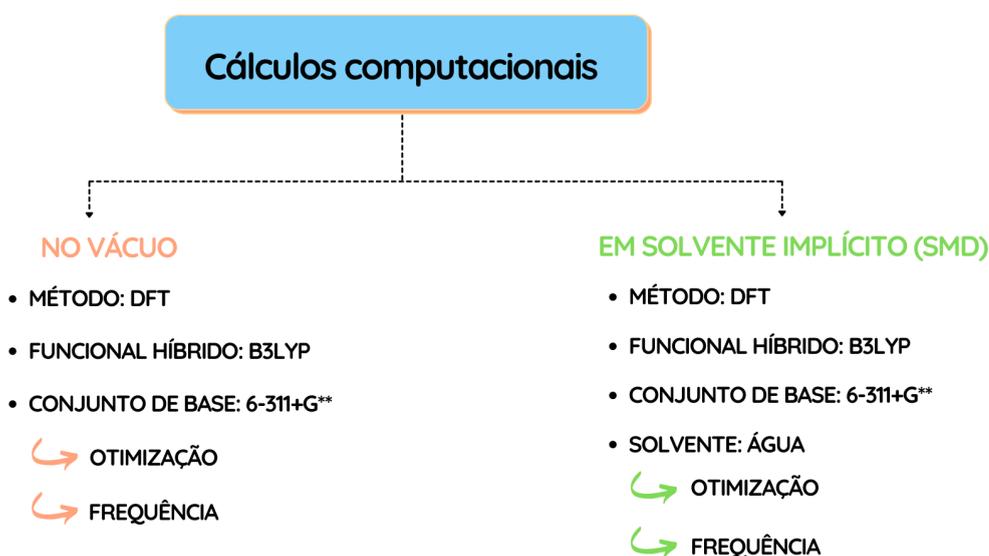


3.1 Estudo de estrutura eletrônica

Os cálculos computacionais, descritos de maneira esquemática na Figura 3, foram realizados empregando o programa Gaussian16 por meio do método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) com o funcional híbrido B3LYP aliado ao conjunto de bases 6-311+G(d,p). As geometrias de todas as moléculas estudadas foram otimizadas em coordenadas redundantes com otimização completa de todos os parâmetros geométricos (distâncias, ângulos e diedros). Foi realizada a análise de frequência vibracional para garantir que todas as moléculas atingissem seus

estados fundamentais, comprovando os mínimos globais. Consideramos a carga da molécula à pH fisiológico, na performance dos cálculos, para as moléculas de referência, a saber a tacrina (THA+) (DRUGBANK, Código: DB00382) galantamina (GNT+) (DRUGBANK, Código: DB00674) e fisostigmina (PHYSO+) (DRUGBANK, Código: DB00981), todas apresentam carga igual a 1 em meio fisiológico, e para as novas entidades químicas consideramos as cargas de acordo com os grupos extraídos das moléculas originais.

Figura 3 - Cálculos computacionais utilizados para estudo de estrutura eletrônica apresentado de forma esquemática.



Cálculos no vácuo e em meio solvatado no nível *ab initio* foram realizados para determinação de parâmetros estruturais e eletrônicos dos sistemas estudados neste trabalho.

Os cálculos de solvatação foram realizados por meio do método contínuo de solvente implícito, SMD. Foi estudada a influência do solvente sobre as propriedades eletrônicas e estruturais das moléculas com o solvente água.

Para analisar a atividade das moléculas neste estudo, consideraram-se descritores (Figura 4) eletrônicos, geométricos e estruturais. Todas as propriedades foram determinadas, para cada molécula, utilizando os mesmos métodos quânticos. O método ChelpG (do inglês, Charges from Electrostatic Potentials using a Grid based method) foi utilizado para os cálculos das cargas.

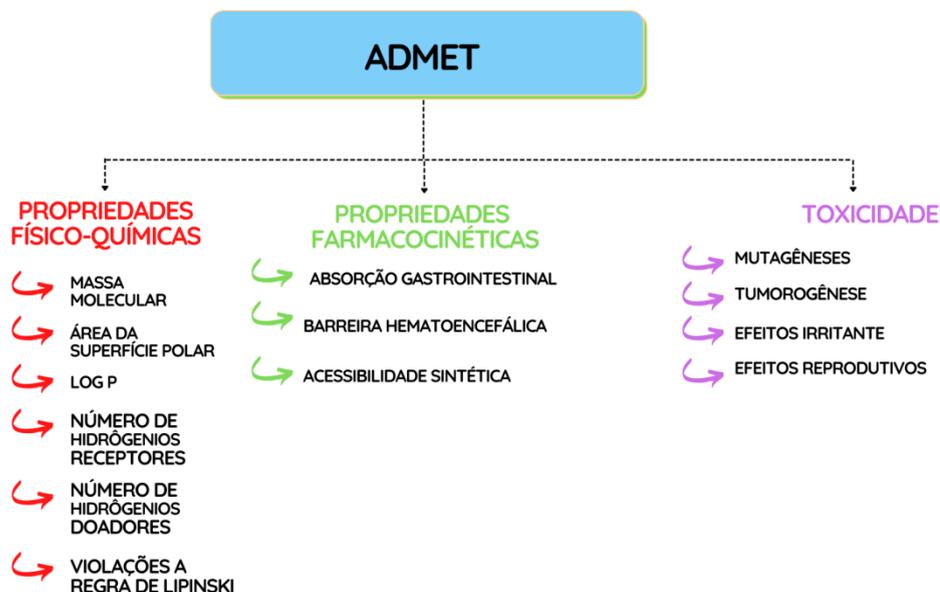
Figura 4 - Principais propriedades eletrônicas estudadas.



3.2 Estudo ADMET

O estudo teórico qualitativo de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade – ADMET, esquema apresentado na Figura 5, para caracterização dos novos potenciais inibidores, foi realizado a fim de classificar qualitativamente a viabilidade da indicação farmacológica de cada molécula. Foram utilizados os programas SwissADMET, OSIRIS e Molinspiration para a modelagem das propriedades que caracterizam um estudo ADMET, como por exemplo, o coeficiente de partição, logP, a solubilidade, logS, propriedades moleculares como a massa molecular, o volume, o tamanho, o número de hidrogênios doadores e aceptores, o número de ligações rotacionáveis, a toxicidade, a quantificação do poder de mutagênese, o druglikeness, e o poder de permeabilidade de membranas celulares humanas.

Figura 5 - Propriedades ADMET estudadas.



3.3 Estudo de Docking

A estrutura geométrica tridimensional da hAChE foi obtida por meio do banco de dados *Protein Data Bank* (PDB) (BERMAN et al., 2000), sendo resultante de cristalografia de raios X. (código PDB: 6O4X) (Gerlits et al., 2019), sendo oriunda da espécie *Homo sapiens*. A resolução da estrutura cristalográfica depositada no PDB é de 2,30 Å. O estudo de docagem foi realizado por meio do pacote AutoDock Tools (MORRISON et al., 2009) considerando o algoritmo *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) (WILEY et al., 2011). O LGA foi aplicado buscando 100 soluções no software AutoDock 4.2.6. As dimensões do gridbox foram de XYZ (76 64 76) em Å, e o centro da caixa (98,14 48,41 -10,24) foi fixado nas coordenadas do átomo de nitrogênio do anel piridinico da THA+. Para validação do nosso estudo de docking, foi realizado o redocking do ligante THA+, que se encontra complexado à estrutura da hAChE escolhida para o estudo, 6O4X, observando as mesmas condições e parâmetros durante todo o estudo, obtivemos um valor de RMSD igual 0,03 Å, o que os garante que o protocolo escolhido assegura uma boa representatividade.

3.3.1 Preparo da proteína

Em geral, os arquivos advindos do *Protein Data Bank* não estão prontos para o docking, pois geralmente apresentam em sua estrutura moléculas de água,

moléculas de estabilizantes e agentes de cristalização, ligantes, entre outras. Sendo assim, a proteína foi submetida a uma correção, onde foram removidas as moléculas de água, e dos agentes de estabilização, sequencialmente foram adicionados à proteína átomos de hidrogênio, para este estudo somente os hidrogênios polares foram considerados, em seguida foram corrigidas as cargas de todos os aminoácidos, seguindo o protocolo do AutoDock 4.2.6, onde as cargas do tipo Kollman foram as escolhidas para assignar a cada resíduo sua carga previamente parametrizada no programa. Em seguida, as coordenadas geométricas proteína foram salvas na extensão “pdbqt”.

3.3.2 Preparo dos ligantes

Para o preparo dos ligantes no programa AutoDock 4, selecionamos a detecção dos possíveis pontos de rotação, em seguida, decidimos que todas as ligações fossem mantidas rígidas, e o ligante é salvo em “pdbqt”.

Capítulo 4

4. Resultados e Discussão

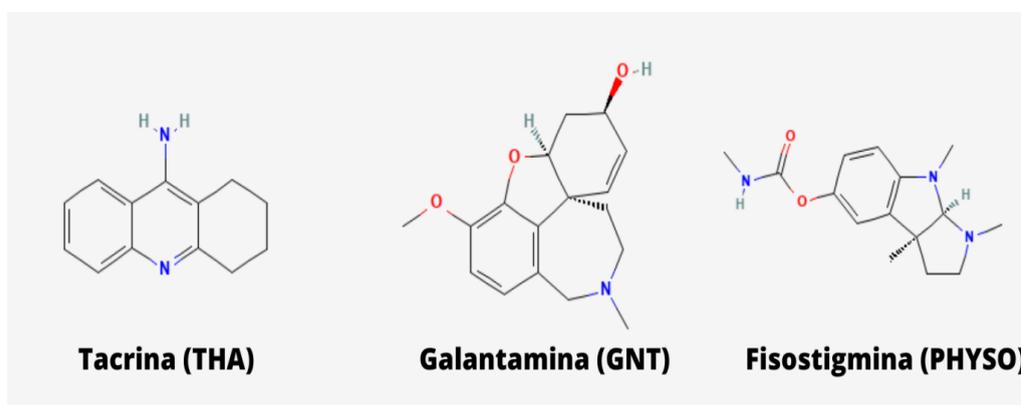
A primeira etapa do projeto foi a realização de uma extensa revisão bibliográfica para elencar os híbridos combinados dos inibidores: Tacrina (THA), Galantamina (GNT) e Fisostigmina (PHYSO) que já foram propostos. Para esse fim foi utilizada a ferramenta CDDI (do inglês, Cortellis Drug Discovery Intelligence) da Clarivate disponível no portal de Periódico da Capes. A partir da lista obtida, foram propostas cinco novas moléculas híbridas entre THA, GNT e PHYSO.

4.1 Desenho racional das moléculas híbridas

Considerando todo processo multifatorial envolvido na DA, é evidente a necessidade de uma estratégia mais ampla na pesquisa com o objetivo de se obter um fármaco capaz de bloquear a evolução da doença em diferentes vias patológicas.

Com base na estrutura tridimensional da hAChE (pdb: 6O4X), e na análise das interações moleculares entre os resíduos da enzima e os fármacos tacrina, galantamina e fisostigmina, cujas estruturas moleculares são mostradas na Figura 6, foi possível planejar compostos híbridos com potencial afinidade pelo sítio ativo da enzima.

Figura 6 - Descrição das estruturas químicas dos fármacos de referência.

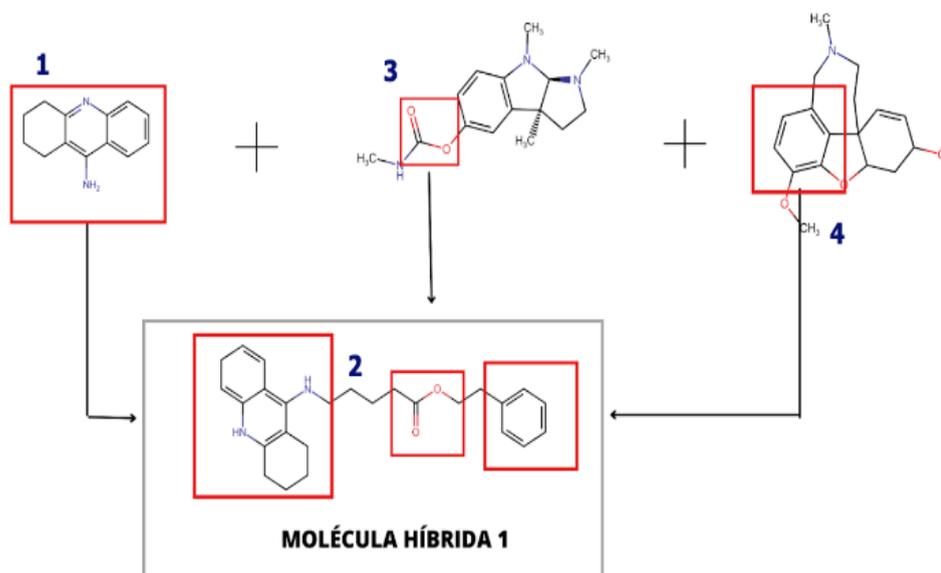


Neste caso, o processo de hibridação molecular, representado pela conjugação das principais características estruturais dos fármacos em uma única substância bioativa, pode ser aplicado para melhorar as propriedades farmacodinâmicas de compostos inibidores da hAChE.

4.1.1 Molécula Híbrida 1 (MH1)

A MH1, Figura 7, foi desenvolvida a partir da combinação de grupos que compõem os AChEIs THA, GNT e PHYSO. Utilizou-se toda a estrutura da THA, foi realizada a substituição de um dos átomos de hidrogênio ligado a amina secundária por um espaçador composto por um grupo butila. Conseqüentemente ligando-se ao grupo butila, a carbonila é retirada da PHYSO. Após a carbonila foi inserido um espaçador com um grupo metila ligado a um anel benzênico extraído da GNT. A carga na MH1 ficou localizada no nitrogênio do grupo imino da tacrina.

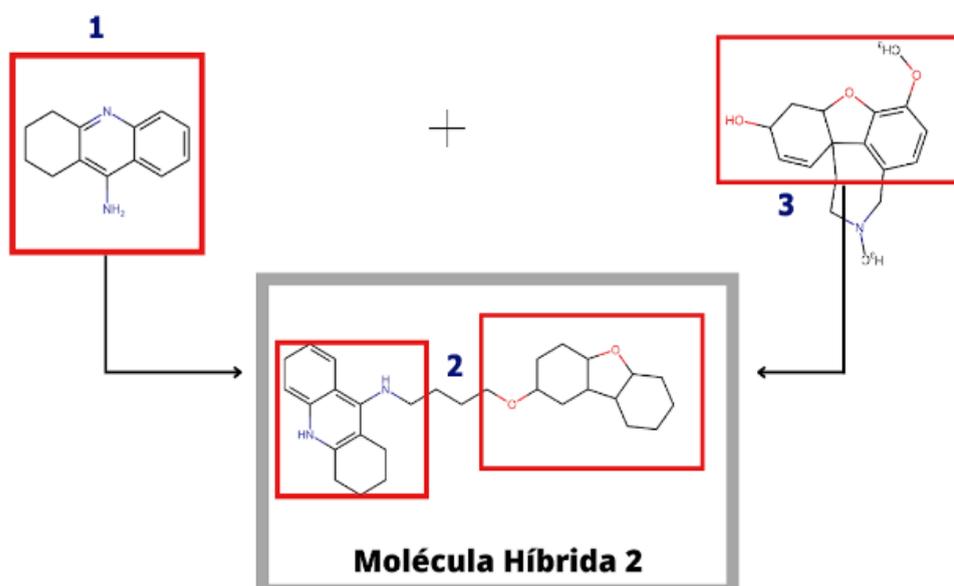
Figura 7 - Esquema de hibridação para o desenho racional da molécula híbrida 1, MH1+.



4.1.2 Molécula híbrida (MH2)

A MH2 foi desenhada a partir da combinação entre a THA e GNT. Utilizou-se toda a estrutura da THA, houve a substituição do hidrogênio ligado a amina secundária por um espaçador, um grupo butila. Parte da GNT, 3 anéis condensados e com átomos de oxigênio na sua composição, foi ligada ao espaçador por meio da troca do hidrogênio da sua hidroxila, sua estrutura completa é apresentada na Figura 8.

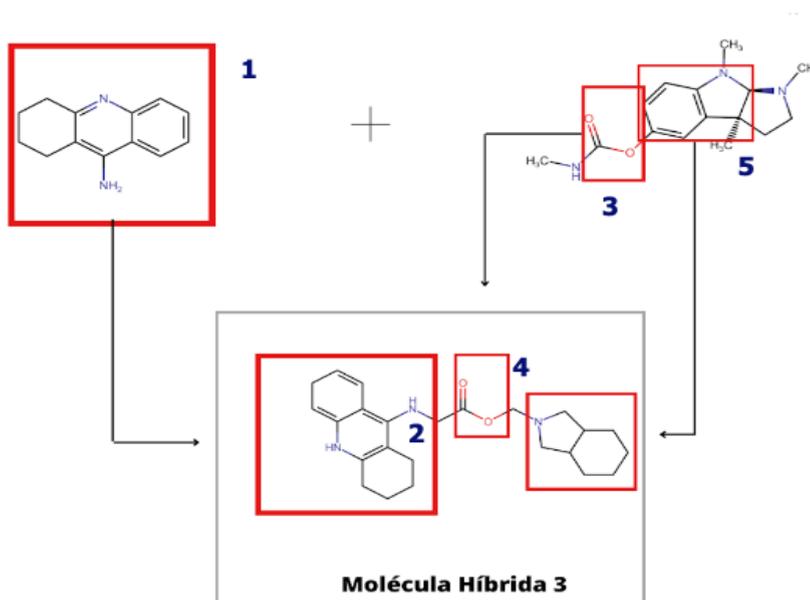
Figura 8 - Esquema de hibridação para o desenho racional da molécula híbrida 2, MH2+.



4.1.3 Molécula híbrida 3 (MH3)

A NQE, MH3 foi desenhada, Figura 9, a partir da combinação da THA e da PHYSO. Utilizou-se toda a estrutura da THA, houve a substituição do hidrogênio ligado a amina secundária por um espaçador do grupo metila. Ligando-se a metila, à carbonila retirada da PHYSO. Após a carbonila foi inserida parte da estrutura da PHYSO.

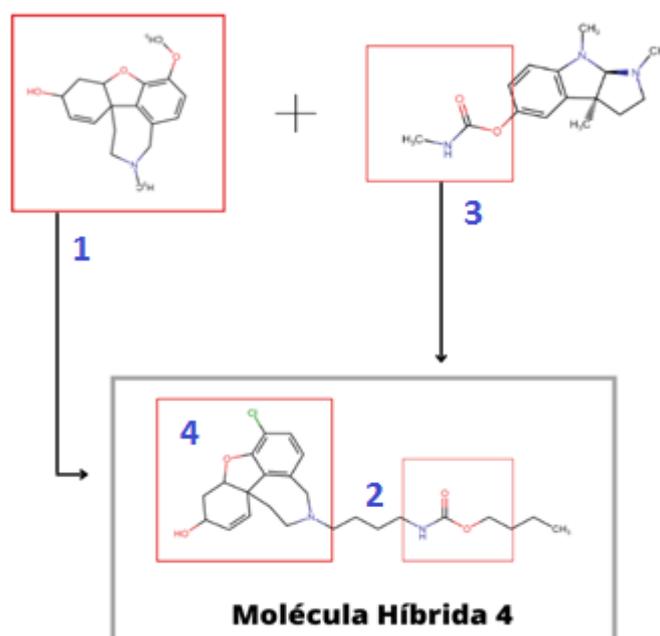
Figura 9. Esquema de hibridação para o desenho racional da molécula MH3+.



4.1.4 Molécula híbrida (MH4)

A MH4 foi desenhada a partir da combinação entre a GNT e PHYSO. Utilizou-se toda a estrutura da GNT, ligado a ela um espaçador de grupo butila conectando o grupo amina e carbonila da PHYSO. Para a parte da GNT foi feita a troca do grupo metoxi por um átomo de cloro.

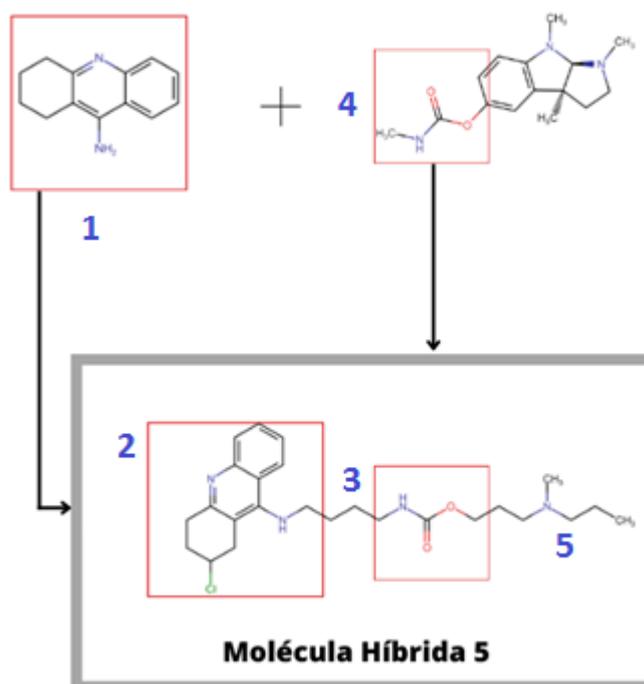
Figura 10 - Esquema de hibridação para o desenho racional da molécula MH4+.



4.1.5 Molécula híbrida (MH5)

A MH5 foi feita a partir da combinação da THA com a PHYSO. Utilizou-se a THA inteira e adicionou-a uma ligação com cloro. Um espaçador de grupo butila foi acrescentado e nele ligado um grupo amino e a carbonila da PHYSO. Em seguida foi acrescentado mais espaçador.

Figura 11 - Esquema de hibridação para o desenho racional da molécula MH5+.



4.2 Estudo de estrutura eletrônica

4.2.1 Energia e distribuição dos Orbitais Moleculares de Fronteira

O valor da energia e a localização dos orbitais moleculares de fronteira nos fornecem informações importantes para a reatividade e a interação das moléculas, como ligantes e fármacos. Na Tabela 1, são mostrados os valores das energias dos orbitais de fronteira ocupados (HOMO até HOMO-2), e desocupados (LUMO até LUMO+2).

Pode ser observado que de maneira geral as energias dos orbitais de fronteira dos NQEs propostos seguem a tendência energética das moléculas de

referência. Os seus valores para a série dos HOMOs estão dentro da faixa -11,28 eV (THA+v) e -9,91 eV (PHYSO+v), e para a série dos LUMOs. O efeito do solvente aumenta em módulo os valores das energias dos orbitais e do GAP. Comparadas aos ligantes de referência, a MH1, que é um híbrido entre as três moléculas de referência, que as energias dos orbitais HOMO-2 a HOMO estão dentro do intervalo de valores da PHYSO+, tanto para os valores no vácuo e no solvente. E para os orbitais LUMO a LUMO+2 apresentaram valores dentro do intervalo encontrado para a THA+, também para os cálculos no vácuo e no solvente.

A MH2, um híbrido da THA e GNT, apresentou valores da energia do HOMO menores que os dois de referência para os cálculos no vácuo e solvente e valores da energia do LUMO no mesmo intervalo que a THA+, e menores que os dois de referência quando a molécula está solvatada. A MH3+, híbrido da THA e PHYSO, apresentou valores da energia dos seus orbitais HOMO na faixa da PHYSO+ para as duas situações, vácuo e solvente, e energia dos orbitais LUMO na faixa da THA+ para os cálculos no vácuo, e menores que os valores das energias dos de referência para os cálculos no meio solvatado.

O híbrido da GNT e PHYSO, a MH4+, apresentou valores de HOMO no vácuo na faixa da PHYSO+, e solvente entre os dois de referência e LUMO na faixa da GNT para vácuo e solvente. A MH5, híbrido THA e PHYSO, apresentou valores de HOMO no vácuo na faixa da PHYSO+, no solvente apresentou menor que os dois de referência e LUMO na faixa da PHYSO+ para os dois meios estudados.

Tabela 1. Valores das energias dos orbitais de fronteira HOMO-2 até LUMO+2 e GAP (em eV), das moléculas em estudo, no vácuo e solvatado (SMD), otimizadas com o método B3LYP/6-311+g(d,p).

	HOMO-2	HOMO-1	HOMO	LUMO	LUMO+1	LUMO+2	GAP
MH1+(v)	-9,45	-8,36	-8,23	-5,43	-4,30	-3,71	2,80
MH1+(s)	-7,6	-6,88	-6,28	-2,01	-0,95	-0,47	4,28
MH2+(v)	-8,17	-8,10	-7,91	-5,42	-4,29	-3,93	2,49
MH2+(s)	-6,40	-6,27	-6,24	-2,02	-1,78	-1,21	4,22
MH3+(v)	-9,78	-8,37	-7,94	-5,48	-4,34	-3,81	2,45
MH3+(s)	-6,48	-6,38	-6,02	-2,08	-1,01	-0,81	3,93
MH4+(v)	-9,29	-9,24	-9,05	-4,28	-3,91	-3,38	4,80
MH4+(s)	-7,27	-7,00	-6,43	-1,13	-0,55	-0,18	5,31
MH5+(v)	-9,42	-9,15	-7,30	-3,78	-3,22	-3,04	3,51
MH5+(s)	-6,76	-6,62	-4,75	-1,07	-0,51	-0,03	3,68
THA+(v)	-11,28	-10,97	-10,23	-5,80	-4,60	-3,92	4,42
THA+(s)	-7,63	-7,35	-6,49	-2,08	-0,99	-0,31	4,41
GNT+(v)	-10,18	-9,51	-8,77	-4,39	-3,90	-3,34	4,83
GNT+(s)	-7,33	-6,85	-6,28	-0,94	-0,44	-0,13	5,33
PHYSO+(v)	-9,91	-9,57	-8,85	-3,74	-3,59	-3,20	5,10
PHYSO+(s)	-7,44	-7,15	-5,87	-0,72	-0,25	0,08	5,15

A partir da observação do gráfico (a) da Figura 12 e os valores da tabela 1, pode-se concluir que em relação ao HOMO-2 todas as moléculas híbridas apresentaram valores de energias mais próximas ao da PHYSO+. Quanto ao HOMO-1, todas as moléculas híbridas convergiram seus valores de energia ao da GNT+. Em relação aos valores de HOMO, a MH1+, MH2+ e MH3+ apresentaram energias próximas a THA+, a MH4+ a GNT e a MH5+ a PHYSO+.

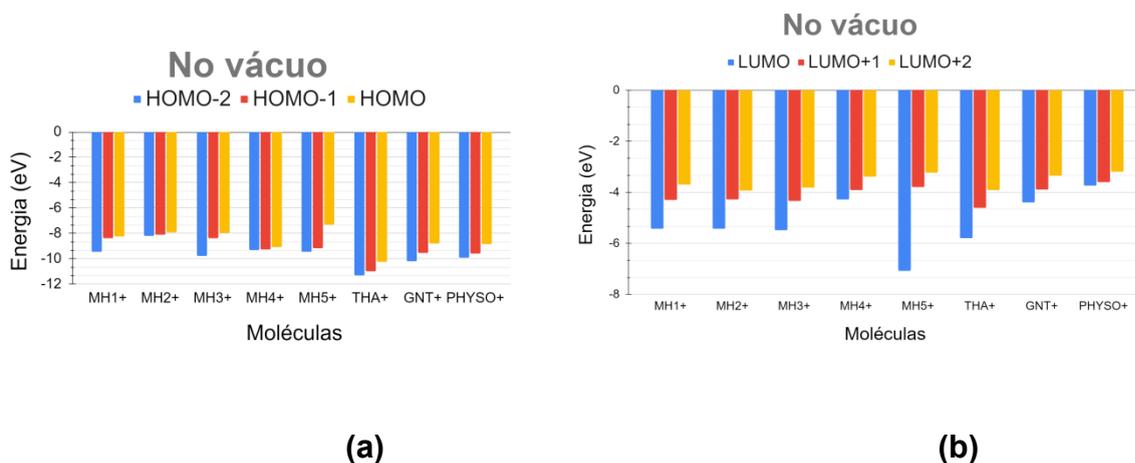
Por meio da análise do gráfico (b) da Figura 12 e os valores apresentados na tabela 1, é possível concluir que em LUMO, LUMO+1 e LUMO+2 a MH1+, MH2+,

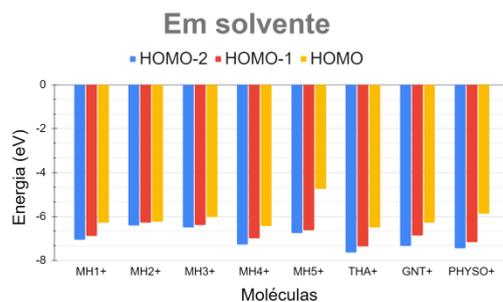
MH3+ apresentaram valores de energia próximos ao da THA+, a MH4+ apresentou similaridades a GNT+ e a MH5+ a PHYSO+.

A partir da observação do gráfico (c) da Figura 12 e os valores da tabela 1, pode-se concluir que em relação ao HOMO-2 apenas MH1+ e MH4+ apresentaram valores parecidos ao da GNT+. Quanto a HOMO-1 a MH1+, MH2+, MH3+ e MH5+ apresentaram semelhanças à GNT+ e a MH4+ a PHYSO+. Em relação ao HOMO, a MH1+, MH2+, MH3+ apresentaram semelhança à GNT+ e MH4+ à PHYSO+.

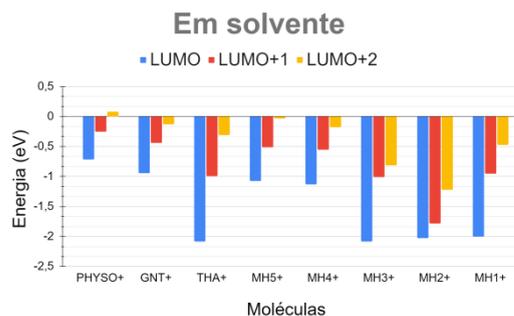
Por meio da análise do gráfico (d) da Figura 12 e os valores apresentados na tabela 2, é possível concluir que em LUMO, LUMO+1 e LUMO+2 a MH1+, MH2+, MH3+ apresentaram valores de energia próximos ao da THA+, a MH4+ e MH5+ apresentaram similaridade a GNT+.

Figura 12 - Gráficos comparativos das energias de HOMO-2 até LUMO+2. O gráfico (a) representa HOMO-2, HOMO-1 e HOMO no vácuo. O gráfico (b) descreve LUMO, LUMO+1 e LUMO+2 no vácuo. (c) representa HOMO-2, HOMO-1 e HOMO em solvente. (d) LUMO, LUMO+1 e LUMO+2 em solvente.





(c)



(d)

Comparando os gráficos (a) e (c) da Figura 12 e os valores da tabela 1, é possível observar que os valores de energia em HOMO-2, HOMO-1 e HOMO, em diferentes meios, apresentam valores e comportamentos distintos.

Observando os gráficos (b) e (d) da Figura 12 e os valores da tabela 1, é possível verificar que os valores de energia em LUMO, LUMO+1 e LUMO+2, em diferentes meios, apresentam valores e comportamentos distintos.

As Tabelas 2 e 4 trazem respectivamente o mapa de distribuição dos orbitais moleculares de fronteira HOMO-2, HOMO-1, HOMO, LUMO, LUMO+1 e LUMO+2 das moléculas de referência e das novas moléculas calculadas com o método B3LYP/6-311+G(d,p) no vácuo.

As Tabelas 3 e 5 trazem respectivamente o mapa de distribuição dos orbitais moleculares de fronteira HOMO-2, HOMO-1, HOMO, LUMO, LUMO+1 e LUMO+2 das moléculas de referência e das novas moléculas calculadas com o método B3LYP/6-311+G(d,p) no solvente.

Em todas as NQEs desenvolvidas neste estudo, observou-se que de maneira geral os orbitais de fronteira estão distribuídos sobre as mesmas regiões, onde estão localizados os orbitais nas moléculas de referência de forma individual.

Tabela 2 - Distribuição dos orbitais de fronteira HOMO-2 até HOMO das moléculas em estudo, no vácuo, otimizadas com o método B3LYP/6-311+g(d,p).

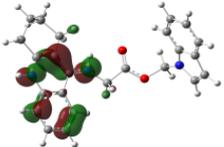
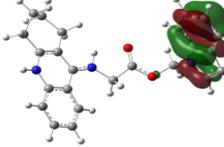
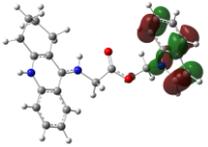
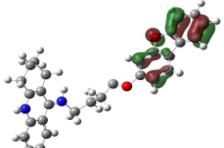
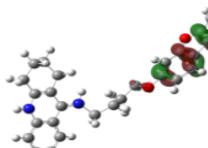
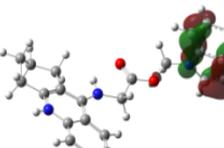
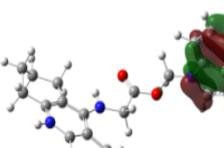
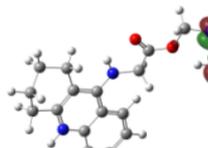
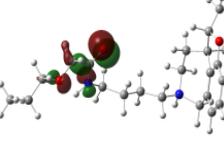
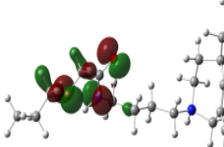
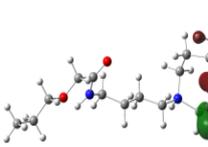
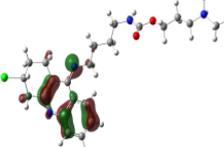
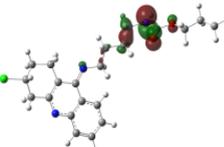
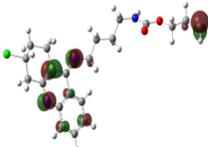
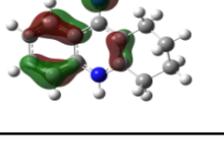
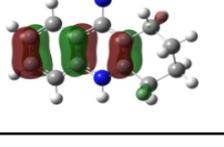
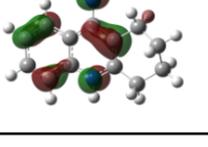
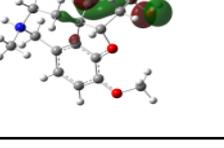
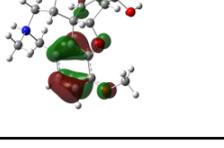
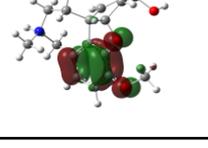
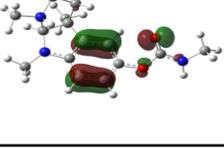
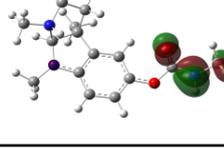
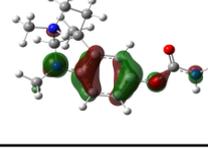
	HOMO-2	HOMO-1	HOMO
MH1+			
MH2+			
MH3+			
MH4+			
MH5+			
THA+			
GNT+			
PHYSO+			

Tabela 3 - Distribuição dos orbitais de fronteira HOMO-2 até HOMO das moléculas em estudo, no solvente, otimizadas com o método B3LYP/6-311+g(d,p).

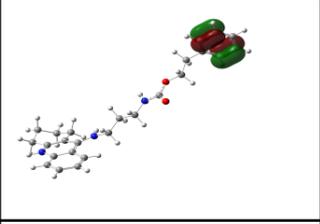
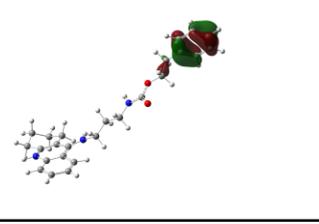
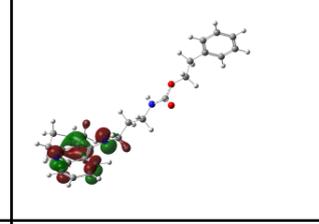
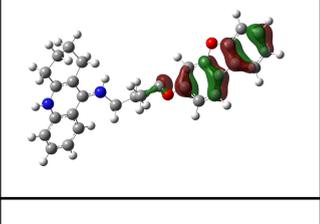
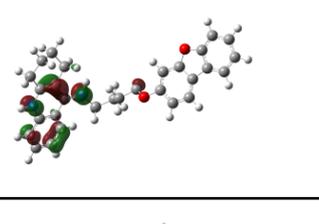
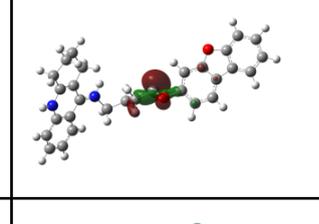
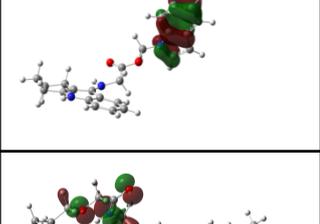
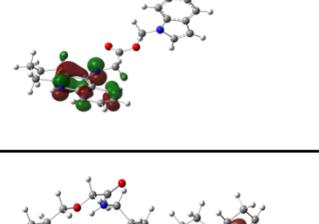
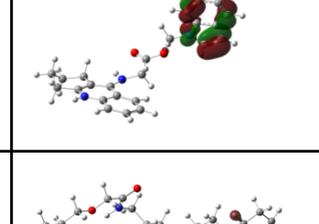
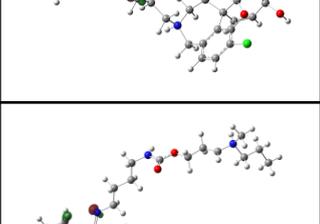
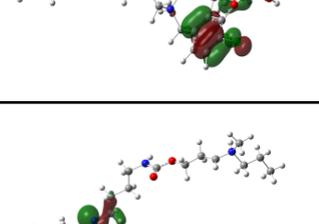
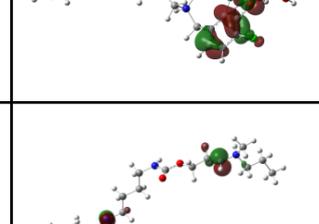
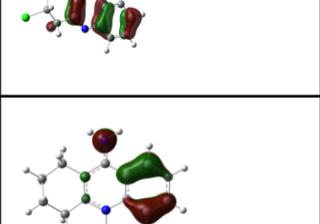
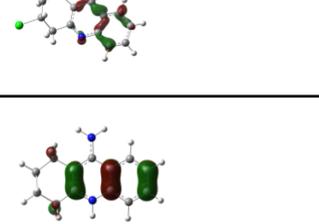
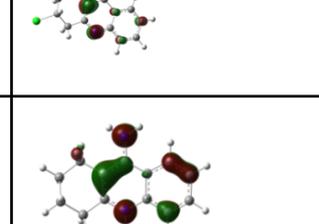
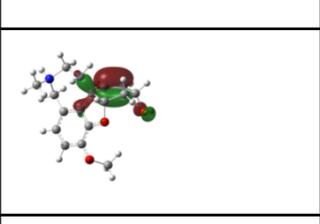
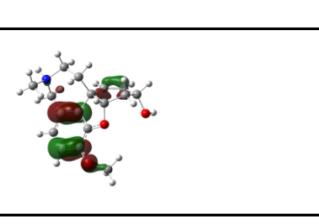
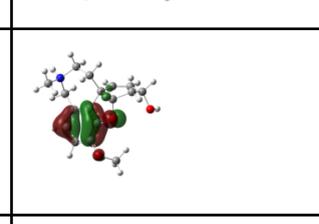
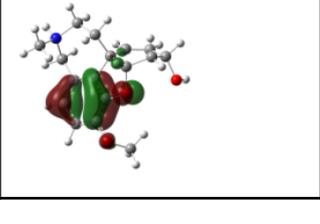
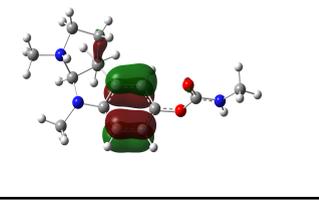
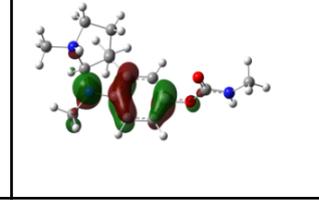
	HOMO-2	HOMO-1	HOMO
MH1+			
MH2+			
MH3+			
MH4+			
MH5+			
THA+			
GNT+			
PHYSO+			

Tabela 4 - Distribuição dos orbitais de fronteira LUMO até LUMO+2 das moléculas em estudo, no vácuo, otimizadas com o método B3LYP/6-311+g(d,p).

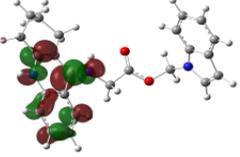
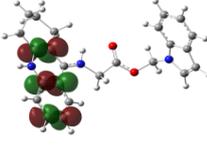
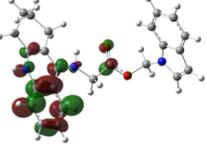
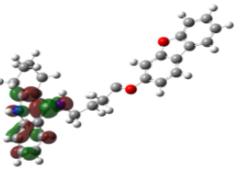
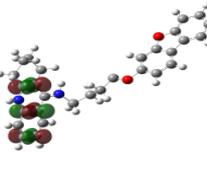
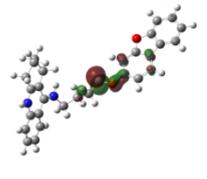
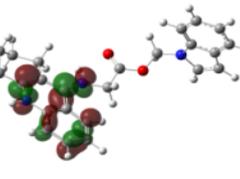
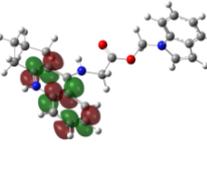
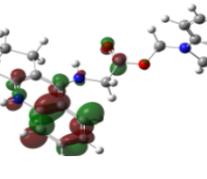
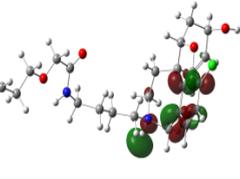
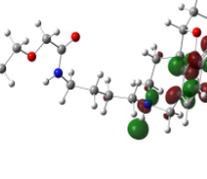
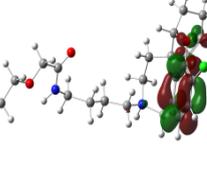
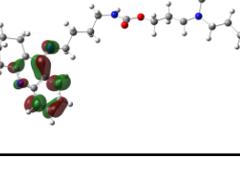
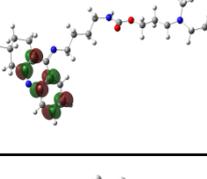
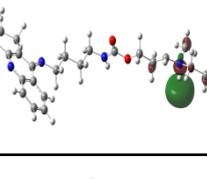
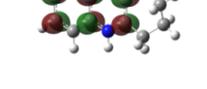
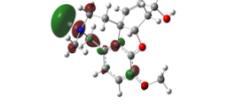
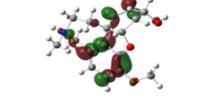
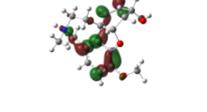
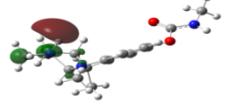
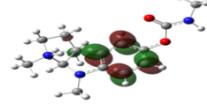
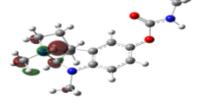
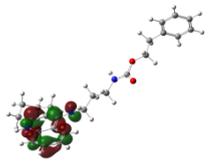
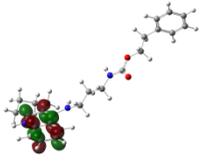
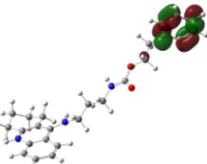
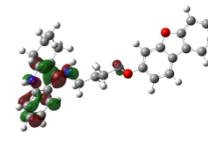
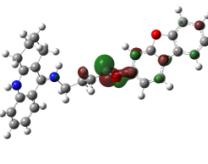
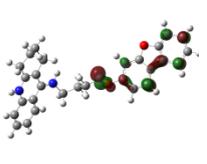
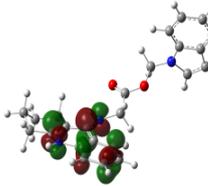
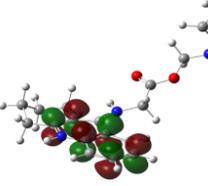
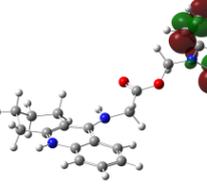
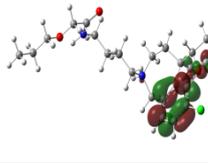
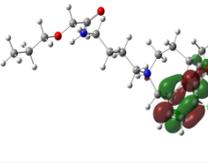
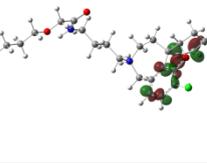
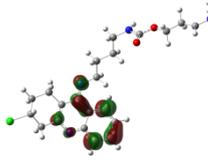
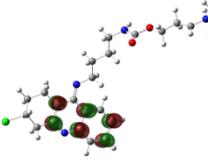
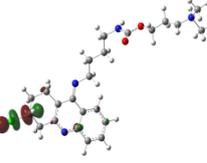
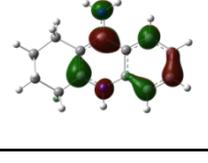
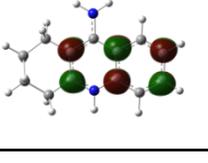
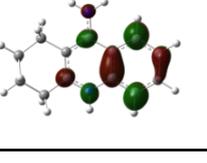
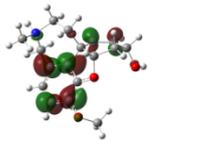
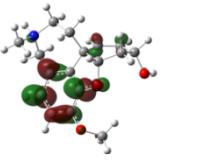
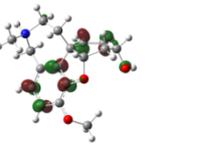
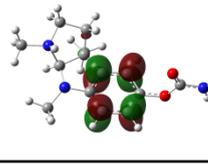
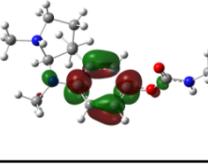
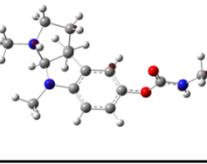
	LUMO	LUMO+1	LUMO+2
MH1+			
MH2+			
MH3+			
MH4+			
MH5+			
THA+			
GNT+			
PHYSO+			

Tabela 5 - Distribuição dos orbitais de fronteira LUMO até LUMO+2 das moléculas em estudo, no solvente, otimizadas com o método B3LYP/6-311+g(d,p).

	LUMO	LUMO+1	LUMO+2
MH1+			
MH2+			
MH3+			
MH4+			
MH5+			
THA+			
GNT+			
PHYSO+			

Na molécula MH1 observou-se que a distribuição está localizada da seguinte forma: os orbitais HOMOs estão localizados nas regiões oriundas da THA+ e da GNT+ e os orbitais LUMO nas mesmas regiões extraídas da THA+ e da PHYSO+. Para a MH2 observou-se que os orbitais HOMOs (GNT+), LUMOs (GNT+ e THA+). A MH3 HOMOs (PHYSO+) e LUMOs THA, e LUMO+2 THA+ e PHYSO+.

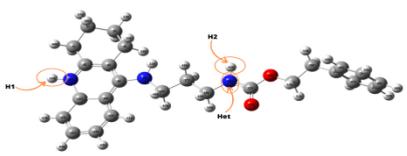
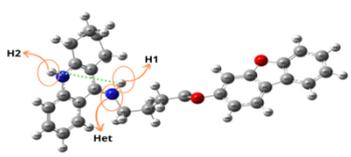
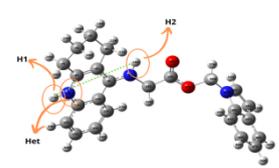
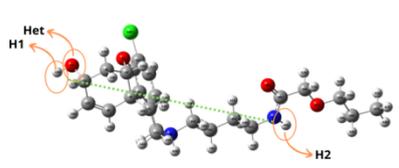
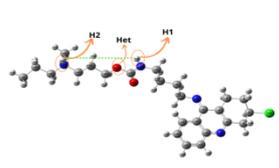
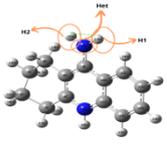
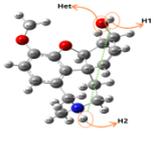
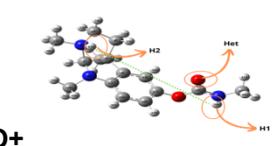
A distribuição dos orbitais da MH4 têm os orbitais HOMOs localizados sobre a região oriunda da PHYSO+, exceto o HOMO que está sobre a parte da GNT+. E os LUMOS estão todos distribuídos sobre a parte advinda da GNT+. A molécula de MH5 tem seus orbitais HOMOs distribuídos de forma espalhada sobre as partes provenientes da THA+ e da PHYSO+, já os orbitais LUMOs estão distribuídos sobre a parte da THA+, exceto o LUMO+2 que está completamente distribuído sobre a região da PHYSO+.

4.2.2 Estudos das Cargas ChelpG

Em relação às propriedades de distribuição da carga eletrônica das moléculas MH1+, MH2+ e PHYSO+ é possível observar, nos dados disponíveis na Tabela 6, que ao mudar o meio o qual as moléculas se encontram, a densidade de carga do primeiro hidrogênio mais ácido e do heteroatomo mais negativo migram para outros átomos.

A distância entre os hidrogênios mais ácidos também é alterada, no meio solvatado, essa distância é diminuída pela metade na molécula de MH2+. A molécula MH3+ apresenta modificações apenas na posição da carga do heteroatomo mais negativo, assim como podemos observar na molécula de MH5+. Em relação a MH4+, praticamente não apresentou mudança quando comparamos os resultados dos meios vácuo e solvente.

Tabela 6 - Valores das cargas parciais ChelpG (em u.a) das moléculas em estudo, otimizadas com o método B3LYP/6-311+g(d,p) no vácuo e com solvente SMD.

Molécula	Propriedades (vácuo)	Propriedades (solvente)
 <p>MH1+</p>	<p>H1 (31): 0,391 H2 (55): 0,382 d_{H1-H2}: 10,458Å Het (N21): -0,843</p>	<p>H1 (34): 0,445 H2 (55): 0,377 d_{H1-H2}: 9,679Å Het (O23): -0,814</p>
 <p>MH2+</p>	<p>H1 (34): 0,358 H2 (54): 0,311 d_{H1-H2}: 10,085 Å Het (N1): -0,738</p>	<p>H1 (54): 0,445 H2 (34): 0,419 d_{H1-H2}: 5,578 Å Het (N33): -0,610</p>
 <p>MH3+</p>	<p>H1 (17): 0,379 H2 (18): 0,226 d_{H1-H2}: 5,586 Å Het (N1): -0,554</p>	<p>H1 (17): 0,438 H2 (18): 0,292 d_{H1-H2}: 5,585 Å Het (O34): -0,663</p>
 <p>MH4+</p>	<p>H1 (33): 0,406 H2 (48): 0,294 d_{H1-H2}: 13,302 Å Het (O2): -0,689</p>	<p>H1 (33): 0,479 H2 (48): 0,325 d_{H1-H2}: 13,595 Å Het (O2): -0,885</p>
 <p>MH5+</p>	<p>H1 (59): 0,417 H2 (68): 0,190 d_{H1-H2}: 6,857 Å Het (O61): -0,690</p>	<p>H1 (59): 0,463 H2 (68): 0,290 d_{H1-H2}: 6,700 Å Het (N58): -0,969</p>
 <p>THA+</p>	<p>H1 (27):0.403 H2 (26): 0.410 d_{H1-H2}: 1.713 Å Het (N2):-0.803</p>	<p>H1 (26):0.450 H2 (27): 0.447 d_{H1-H2}: 5,717 Å Het (N2):-0.850</p>
 <p>GNT+</p>	<p>H1 (39): 0,417 H2 (43): 0,207 d_{H1-H2}: 8,337 Å Het (O2):-0,714</p>	<p>H1 (39): 0,417 H2 (43): 0,207 d_{H1-H2}: 8,337 Å Het (O2):-0,714</p>
 <p>PHYSO+</p>	<p>H1 (38): 0,339 H2 (42): 0,228 d_{H1-H2}: 8,435Å Het (O2): -0,588</p>	<p>H1 (34): 0,445 H2 (55): 0,377 d_{H1-H2}: 9,679Å Het (O23): -0,814</p>

4.3 Estudo ADMET

O estudo da predição de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade de moléculas com potencial aplicação em farmacologia, é uma importante ferramenta na indicação da viabilidade de uma molécula ter sua utilização no tratamento de doenças. Nas Tabelas 7, 8 e 9 elencamos as principais propriedades e descritores que podem auxiliar na classificação das moléculas propostas como possíveis AChEIs.

Tabela 7 - Propriedades físico-químicas das moléculas em estudo obtidas com o SwissADME.

	Massa mol. (g/mol)	logP	PSA (Å ²)	nº de H receptor	nº de H doador	Violações a regra de Lipinski
MH1+	409,56	4,31	62,39	2	3	0
MH2+	448,64	5,79	42,52	2	2	1
MH3+	407,55	3,90	53,60	2	2	0
MH4+	430,92	5,03	74,94	5	2	0
MH5+	465,07	3,81	65,63	4	3	0
THA+	198,26	3,12	38,91	1	1	0
GNT+	287,35	2,03	41,93	4	1	0
PHYSO+	275,35	0,93	44,81	3	1	0

De uma forma geral, as propriedades físico-químicas das moléculas propostas são parecidas com as moléculas de referência. Observamos diferenças nos valores das propriedades de massa molecular e logP, os quais para todos os NQEs propostos são maiores que os das moléculas de referência. A molécula de MH2+ apresenta a área de superfície topológica (PSA) na mesma ordem de grandeza do GNT+ e da PHYSO+, por exemplo. Excetuando a MH2+, todas as outras moléculas propostas não violam a regra dos 5 de Lipinski, o que nos indica, num primeiro momento, que os NQEs propostos podem ser bons candidatos a fármacos.

Como descrito na Tabela 8, excetuando a MH2+, todas NQEs e as moléculas de referência, a princípio podem atravessar a barreira hematoencefálica, característica fundamental para um bom candidato a AChEI.

Tabela 8 - Dados das principais propriedades farmacocinéticas das moléculas em estudo obtidas pelo SwissADME.

	Absorção gastrointestinal	Barreira Hematoencefálica	Acessibilidade sintética
MH1+	Alta	Sim	4,98
MH2+	Alta	Não	5,66
MH3+	Alta	Sim	4,69
MH4+	Alta	Sim	3,40
MH5+	Alta	Sim	5,02
THA+	Alta	Sim	2,08
GNT+	Alta	Sim	4,57
PHYSO+	Alta	Sim	3,38

Em relação aos efeitos de toxicidade, podemos inferir pelos dados constantes da Tabela 9, que de forma geral as moléculas estudadas apresentam baixa toxicidade, como é caso da GNT+, MH2+, MH3+ e MH5+. Toxicidade moderada como é o caso das moléculas MH1+ e MH5+, e alta toxicidade como é o caso da THA+ e PHYSO+. O desenho racional das NQEs propostas, tiveram uma boa resposta no que tange eliminar os altos riscos de toxicidades de suas moléculas de referência (THA+ e PHYSO+).

Tabela 9 - Dados toxicológicos das moléculas em estudo obtidos através do programa OSIRIS.

	Mutagenese	Tumorigênese	Efeitos irritantes	Efeitos Reprodutivos
MH1+	Baixo risco	Baixo risco	Risco intermediário	Baixo risco
MH2+	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
MH3+	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
MH4+	Baixo risco	Alto risco	Risco intermediário	Baixo risco
MH5+	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
THA+	Alto risco	Alto risco	Baixo risco	Baixo risco
GNT+	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco
PHYSO+	Baixo risco	Baixo risco	Baixo risco	Alto risco

4.4 Estudo de Docking molecular

A partir dos cálculos de docking molecular, foram obtidos valores de energias de ligação entre os ligantes e a proteína para diversas posições. O algoritmo genético fez uma busca de ao todo 100 posições assumidas pelos ligantes no sítio ativo da proteína. As conformações da estrutura do complexo formado entre as NQEs e a AChE foram selecionadas em conformidade com as melhores energias de ligação (valores mais negativos) e foram consideradas apenas as conformações de maior energia de ligação de cada molécula de estudo.

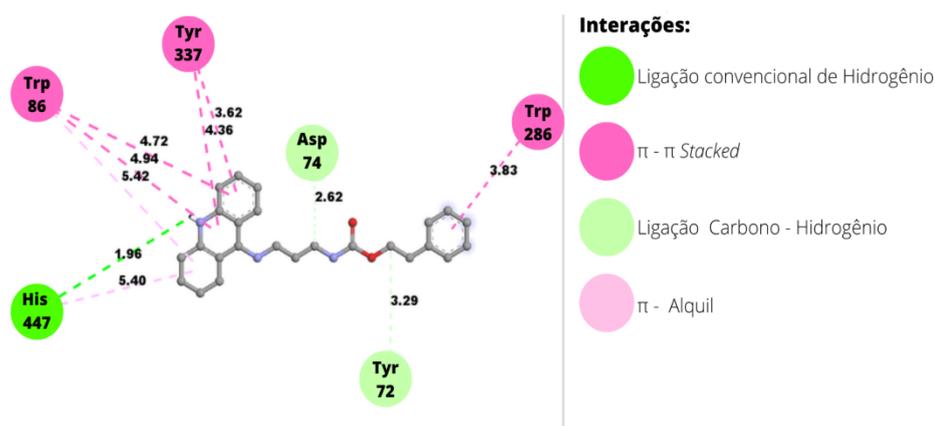
As interações que um bom candidato a AChEI precisam fazer com os resíduos do GORGE da hAChE são aquelas de curto alcance, com valores de distância menores que 4 Å, que se dão entre o inibidor e os resíduos da tríade catalítica, como por exemplo ligações de hidrogênio com o resíduo His447 e Ser203, (Nascimento, 2017; Nascimento, 2022), interações de forças atrativas com o resíduo de reconhecimento molecular Asp74 (Nascimento, 2017), interações do tipo pi, pi-pi com os resíduos do sítio PAS como o Trp86 e o Tyr337, e interações do tipo ligação de hidrogênio com os resíduos da cavidade do sítio oxaniônico como o Glu202. Além destas interações, aquelas de médio alcance que estão localizadas na faixa até 6 Å, com os resíduos do GORGE também são relevantes para uma eficiente inibição da hAChE.

Tabela 10 - Energia de ligação (score) dos complexos AChEI-hAChE, valores de score em kcal.mol⁻¹.

	Score	RMSD
MH1+	-8,25	0,16
MH2+	-9,50	0,16
MH3+	-8,43	1,46
MH4+	-5,88	0,29
MH5+	-7,89	0,10
THA+	-7,65	0,01
GNT+	-8,95	0,01
PHYSO+	-7,32	0,23

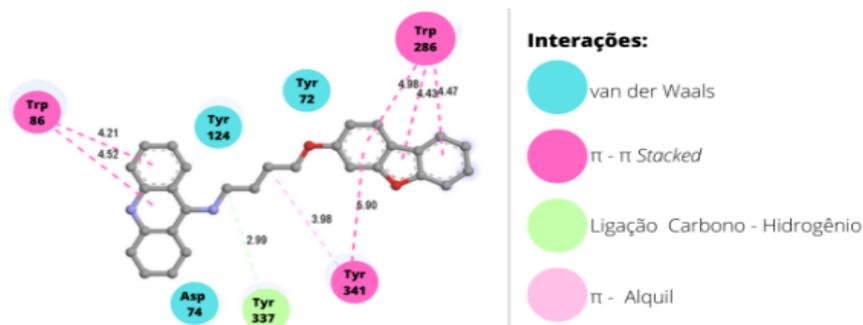
No estudo de docking realizado com a MH1+ e a hAChE, foram observadas a na parte da molécula que carrega a estrutura molecular da THA, formação de interações do tipo pi-pi stacking entre os resíduos Trp86 e Tyr337, uma interação clássica de bons inibidores da enzima, além da formação de uma ligação de hidrogênio forte, 1,96 Å, entre o átomo de oxigênio da cabonila do backbone do resíduo His447 e o átomo de hidrogênio mais ácido (H31) da MH1+. Este NQE forma um complexo com a hAChE realizando as principais interações clássicas dos AChEIs conhecidos.

Figura 13 - Principais interações para o complexo MH1+ - hAChE (código PDB: 6O4X) e valores das distâncias (em Å).



O estudo de docking e as análises de interações entre a NQE MH2+ e a hAChE, mostraram que esta molécula realiza várias das interações clássicas para um bom candidato a inibidor desta enzima. Uma vez que a MH2+ tem na sua estrutura química uma das suas partes formadas pela estrutura da tacrina, era de se esperar que a interação com o resíduo His447 ocorresse, porém ela não foi observada em nenhuma das conformações encontradas no estudo de docking, Figura 14.

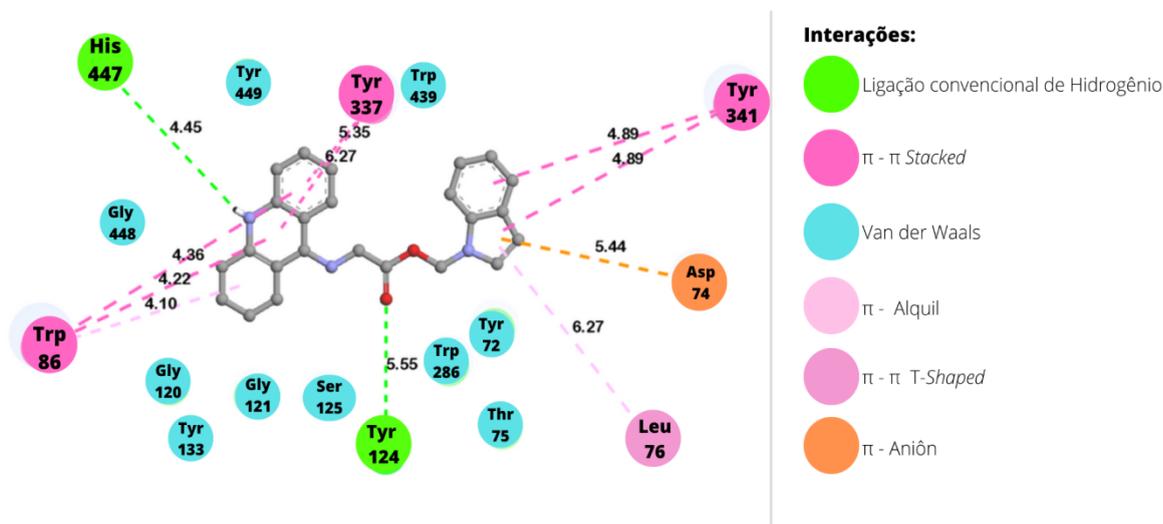
Figura 14 - Principais interações para o complexo MH2+ - hAChE (código PDB: 6O4X) e valores das distâncias (em Å).



Ainda assim, devido às fortes interações do tipo pi e pi-pi com os resíduos aromáticos do PAS e do GORGE, essa molécula foi a que apresentou o maior valor de energia de interação, $-9,50 \text{ kcal.mol}^{-1}$. As interações do tipo van der Waals, para o sistema AChEI-AChE são relevantes e respondem por quase 50% de participação efetiva na energia ligação do complexo (Nascimento, 2017).

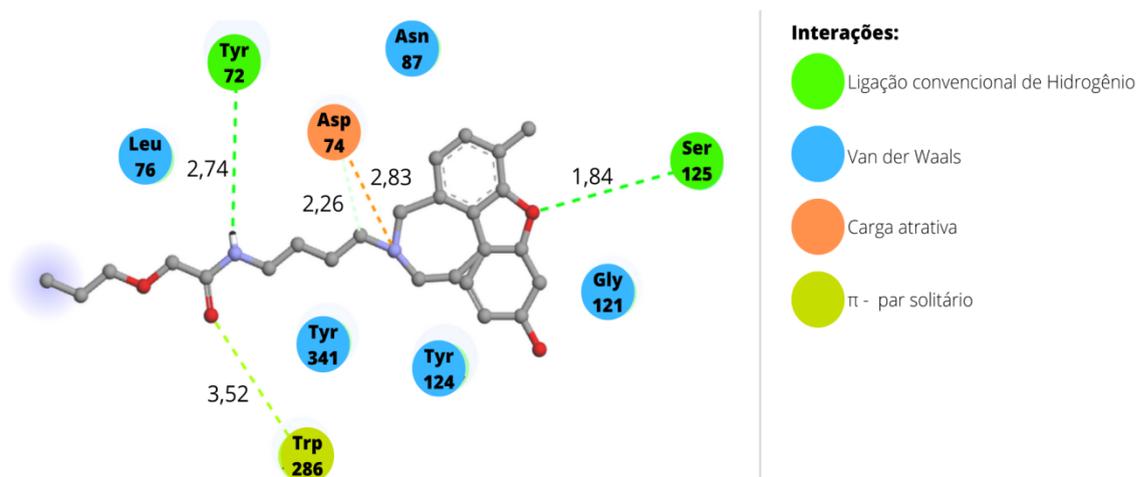
A MH3+, dentre todas as NQEs é a que interage com a maior quantidade de resíduos do sítio ativo da hAChE, ver Figura 14. Sua energia de ligação é da mesma ordem de grandeza da GNT+, sendo um excelente candidato a AChEI. Essa NQE foi capaz de realizar as interações clássicas, com os resíduos: His447, Tyr337, Trp86, Try341 e Tyr124.

Figura 15 - Principais interações para o complexo MH3+ - hAChE (código PDB: 6O4X) e valores das distâncias (em Å).



Assim como observado na molécula de MH2+, a NQE MH4+ não apresentou interações importantes com os resíduos da hAChE, Figura 16. Como por exemplo interações com os resíduos Trp86, Glu202, Tyr337, Phe338, His447. A sua energia de ligação foi a menor, dentre todas as moléculas estudadas.

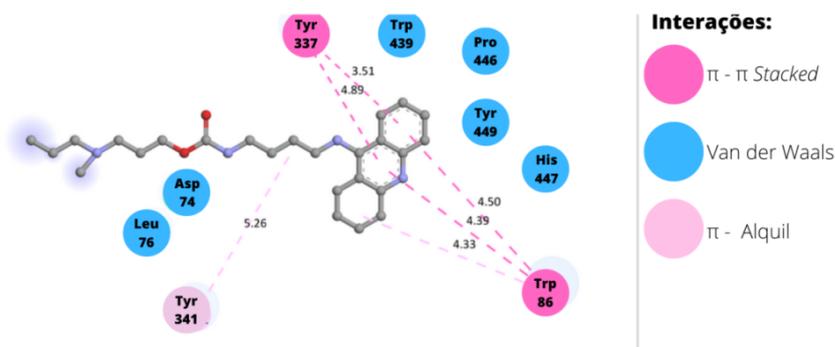
Figura 16 - Principais interações para o complexo MH4+ - hAChE (código PDB: 6O4X) e valores das distâncias (em Å).



A MH5+, interage com alguns de resíduos do sítio ativo da hAChE, ver Figura 17. Sua energia de ligação é da mesma ordem de grandeza da THA+, sendo um

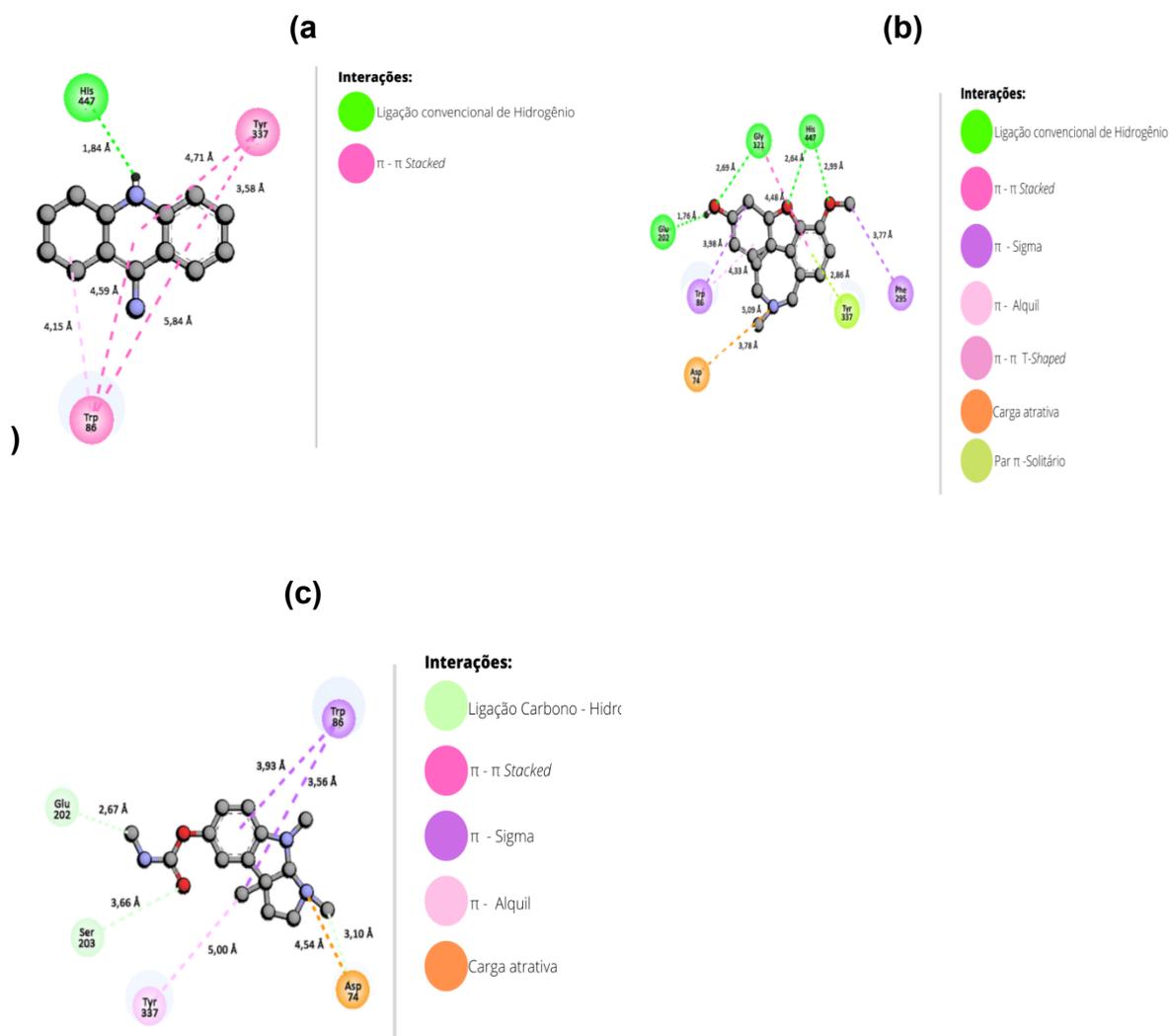
candidato mediano a AChEI. Essa NQE foi capaz de realizar as interações clássicas, com os resíduos: His447, Tyr337, Trp86 e Try341.

Figura 17 - Principais interações para o complexo MH5+ - hAChE (código PDB: 6O4X) e valores das distâncias (em Å).



Para efeitos comparativos, e a fim de validar nosso estudo de docking, realizamos o redocking com o inibidor THA (que estava complexado com a hAChE na estrutura 3D da proteína utilizada para os estudos). Além do redocking, foi feito o estudo de docking com as moléculas de referência GNT+ (Figura 18.b) e PHYSO+ (Figura 18.c). As principais interações observadas foram esperadas e já bem estabelecidas na literatura, como as interações com os resíduos Asp74, Glu202, Ser203, Trp86 e Tyr337.

Figura 18 - Principais interações para os complexos (a) THA+hAChE; (b) GNT+hAChE; (c) PHYSO+hAChE; e valores das distâncias (em Å).



Para uma representação mais geral de todas as interações realizadas pelas moléculas estudadas, foi montada uma tabela de referência qualitativa, para confrontar como cada molécula interage com os resíduos do GORGE. A Tabela 11, mostra de forma representativa essas interações.

Tabela 11 - Aminoácidos da proteína (Código PDB: 6O4X) que pertencem a região do GORGE e indicação de interação com as moléculas em estudo.

Resíduo	MH1+	MH2+	MH3+	MH4+	MH5+	THA+	GNT+	PHYSO+
Tyr 72	van der Waals até 6 Å	π-Solitário	Ligação de Hidrogênio convencional					
Tyr 341		π-Sigma	π-π Stacking	van der Waals até 4 Å	π-Alquil			
Asp 74	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 4 Å	Carga atrativa		van der Waals até 4 Å		Carga atrativa	
Asn 87				van der Waals até 4 Å				
Tyr 124		van der Waals até 4 Å		van der Waals até 4 Å				
Tyr 337	π-Sigma	van der Waals até 6 Å	π-Sigma		π-Sigma		π-Solitário	π-Alquil
Trp 86	π-Sigma	π-Sigma	π-Sigma		π-Sigma		π-Solitário	π-Solitário
Ser 125			van der Waals até 4 Å	Ligação de Hidrogênio convencional				
Gly 120			van der Waals até 4 Å					
Tyr 133			van der Waals até 4 Å					
Gly 121			van der Waals até 4 Å	van der Waals até 4 Å			Ligação de Hidrogênio convencional	
Glu 202	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	Ligação de Hidrogênio convencional	van der Waals até 6 Å
Ser 203	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å	van der Waals até 6 Å
His 447	Ligação de Hidrogênio convencional		Ligação de Hidrogênio convencional		van der Waals até 4 Å	Ligação de Hidrogênio convencional		

*Legenda: código de cores para cada tipo de interação

Ligação de Hidrogênio convencional	π-Sigma	π-π Stacking
van der Waals até 4 Å	Carga atrativa	Ligação Carbono - Hidrogênio
van der Waals até 6 Å	π-Alquil	Par π-Solitário

5. Conclusão

Os programas computacionais vieram para agregar, efetivamente, ainda mais, o desenvolvimento e o processo de estudos no desenvolvimento de fármacos, como o caso do docking molecular, que permite prever qualitativamente o modo de interação de proteína-ligante. Vale destacar que todas as moléculas propostas apresentaram bons resultados no processo de ancoramento, onde obtiveram energias negativas, que se traduz em um menor gasto energético na formação do complexo.

O estudo de estrutura eletrônica revelou uma boa correlação entre as propriedades, como os valores de energia e a localização dos orbitais moleculares de fronteira entre os NQEs e os AChEIs de referência. A distribuição de carga, para os hidrogênios mais ácidos e os heteroátomos mais negativos, também seguiram a mesma tendência das moléculas de referência, que são inibidores clássicos da hAChE. O que nos permite afirmar que, estas novas moléculas possuem características eletrônicas que permitem que as regiões de maior e menor densidade eletrônica de suas estruturas moleculares possuem potencial para interagirem de forma similar aos AChEIs de referência.

A MH4⁺ apresentou menor energia livre de ligação, em módulo, de -5,88 Kcal/mol, enquanto a MH2⁺ obteve o maior resultado, em módulo, de -9,5 Kcal/mol. As forças intermoleculares envolvidas, na formação dos complexos ligante-enzima foram do tipo ligações de hidrogênio, interações de van der Waals, interações atrativas entre cargas de sinais opostos e interações do tipo pi-sigma, pi-alkil e pi-pi stacking.

De acordo com os estudos realizados, e comparando com as moléculas de referência, as NQEs MH1⁺ e MH3⁺ são os melhores candidatos a inibidor da hAChE, considerando o estudo ADMET, ambas apresentaram baixo risco toxicológico, alta absorção gastrointestinal e alta permeabilidade da barreira hematoencefálica. Apresentaram energia de ligação de -8,25 e -8,43 Kcal/mol respectivamente. A MH3⁺ apresentou capacidade de interagir com todos os resíduos clássicos do sítio ativo GORGE. A MH1⁺ também demonstrou boa interação com os resíduos do GORGE interagindo com His447, Tyr337, Trp86, Trp286.

6. Referências bibliográficas

- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal**. Porto Alegre - Grupo A, 2015. E-book. ISBN 9788582711187. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582711187/>. Acesso em: 10 out. 2022.
- CAIXETA, L. **Doenças de Alzheimer**. Porto Alegre - Grupo A, 2012. E-book. ISBN 9788536327020. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536327020/>. Acesso em: 10 out. 2022.
- DAINA, A., MICHIELIN, O. and ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 2017, 7(1), 42717. <http://dx.doi.org/10.1038/srep42717>
- FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; LI, X.; CARICATO, M.; MARENICH, A. V.; BLOINO, J.; JANESKO, B. G.; GOMPERS, R.; MENNUCCI, B.; HRATCHIAN, H. P.; ORTIZ, J. V.; IZMAYLOV, A. F.; SONNENBERG, J. L.; WILLIAMS-YOUNG, D.; DING, F.; LIPPARINI, F.; EGIDI, F.; GOINGS, J.; PENG, B.; PETRONE, A.; HENDERSON, T.; RANASINGHE, D.; ZAKRZEWSKI, V. G.; GAO, J.; REGA, N.; ZHENG, G.; LIANG, W.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; THROSELL, K.; MONTGOMERY, J. A., JR.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M. J.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E. N.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KEITH, T. A.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A. P.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; ADAMO, C.; CAMMI, R.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; FARKAS, O.; FORESMAN, J. B.; FOX, D. J. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016. Gaussian 16, Revision B.01.
- GREENBERG, D. A.; AMINOFF, M. J.; SIMON, R. P. *Neurologia clínica* Porto Alegre - Grupo A, 2014. E-book. ISBN 9788580553550. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788580553550/>. Acesso em: 10 out. 2022.
- GUILHON, I.; KODA, D.S.; FERREIRA, L.G; MARQUES, M.; TELES, L.K. Approximate quasiparticle correction for calculations of the energy gap in two-dimensional materials. *Physical Review B* 97 (4), 045426 (2018).

- FERREIRA, L.G; MARQUES, M.; TELES, L.K. Approximation to density functional theory for the calculation of band gaps of semiconductors. *Physical Review B* **78**, 125116 (2008).
- MCKEE S; MEEKHOF B; KISSEL E; KEEN A, MERZ K.M.J; THOMPSON M. OSiRIS: A Distributed Storage and Networking Project Update. EPJ Web Conf. 245 04012 (2020). DOI: 10.1051/epjconf/202024504012
- MORRIS G.M, HUEY R, LINDSTROM W, SANNER M.F, BELEW R.K, GOODSSELL DS, OLSON, A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*. 2009;30(16):2785–91.
- NASCIMENTO, Érica Cristina Moreno. Determinação teórica de propriedades relevantes para a atividade de inibidor da acetilcolinesterase. 2009. 119. f. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- NASCIMENTO, Érica Cristina Moreno. Estudo do mecanismo de ação das moléculas agonistas e antagonistas para o tratamento do mal de Alzheimer e da depressão. 2014. xvii, 191 f., il. Tese (Doutorado em Química)—Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- NASCIMENTO LA, Nascimento ECM, Martins JBL. In silico study of tacrine and acetylcholine binding profile with human acetylcholinesterase: docking and electronic structure. *J Mol Model*. 2022;28(9):252. Published 2022 Aug 10. doi:10.1007/s00894-022-05252-2

