



III Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal

21 a 24 de agosto de 2023

Anais do Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal: III SIMQFAM

PATROCINADORES:



APOIO:



REALIZAÇÃO



SIMPÓSIO DE QUÍMICA FARMACÊUTICA & MEDICINAL

**ANAIS DO SIMPÓSIO DE QUÍMICA
FARMACÊUTICA & MEDICINAL: III SIMQFAM**

Marcelle Bispo
(Organizadora e Coordenadora)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)

Simpósio de Química Farmacêutica & Medicinal
(3. : 2023 : Londrina, PR)
Anais III SIMQFAM [livro eletrônico] /
organização Marcelle Bispo. -- 1. ed. --
Londrina, PR : Ed. dos Autores, 2023.
PDF

Vários autores.

Bibliografia.

ISBN 978-65-00-89874-3

1. Medicina - Congressos 2. Química
farmacêutica - Congressos 3. Química medicinal -
Congressos I. Bispo, Marcelle. II. Título.

23-187351

CDD-338.476151

Índices para catálogo sistemático:

1. Indústria farmacêutica : Simpósio : Economia
338.476151

Aline Grazielle Benitez - Bibliotecária - CRB-1/3129

ÍNDICE

RESUMOS EXPANDIDOS (TRABALHO COMPLETO, NÍVEL: GRADUAÇÃO)

C-G-1	Planejamento E Avaliação <i>In Silico</i> De Novos Análogos Do Peficitinibe.....	6
C-G-2	Abordagem <i>In Silico</i> Para A Descoberta De Novos Fármacos Inibidores Da Glicoproteína D Do Herpes Simplex Virus.....	9
C-G-3	Planejamento E Avaliação <i>In Silico</i> De Novos Derivados Indólicos Com Potencial Atividade Antitripanossômica	12
C-G-4	Síntese E Aumento De Escala De <i>Building-Blocks</i> Quinolínicos, Intermediários-Chave Na Busca Por Protótipos Contra A Tuberculose.....	15
C-G-5	Avaliação Toxicológica Do Tratamento De Camundongos BALB/C Machos Com Benzoiltiouréia 1p: Parâmetros Bioquímicos E Fisiológicos.....	18
C-G-6	Arilação Fotoquímica Para A Síntese Regiosseletiva De 2-Aril-Indóis.....	21
C-G-7	Avaliação <i>In Silico</i> De Possíveis Inibidores Da Quinase CK1 Para O Combate À <i>Candida auris</i>	24
C-G-8	Avaliação <i>In Silico</i> De Possíveis Inibidores Do Capsídeo Viral De HIV-1.....	27
C-G-9	Planejamento De Análogos Do Fármaco Ibuprofeno E Análise <i>In Silico</i> De Suas Propriedades.....	30
C-G-10	Estratégias De Modelagem Molecular De Análogos Da Curcumina Visando A Otimização Farmacocinética Do Processo Absortivo Pelos Enterócitos.....	33

RESUMOS EXPANDIDOS (TRABALHO COMPLETO, NÍVEL: PÓS-GRADUAÇÃO)

C-PG-1	Triagem Virtual De Cumarinas Como Potenciais Inibidores Da Enzima Enoil-ACP-Redutase De <i>Streptococcus agalactiae</i>	36
C-PG-2	Síntese E Avaliação Da Atividade Fotoprotetora De Derivados Cumarina-Ácido Vanílico.....	39
C-PG-3	Afinidade Dos Antidepressivos Pelo Transportador De Dopamina Da <i>Drosophila melanogaster</i> . Estudos <i>In Silico</i>	42
C-PG-4	Avaliação <i>In Silico</i> De Derivados De Imidazopiridinas Como Potenciais Inibidores De Arginase De <i>Leishmania amazonensis</i>	45
C-PG-5	Estratégias De Triagem Virtual Para A Identificação De Inibidores De Histona Desacetilases (HDACs).....	48

RESUMOS EXPANDIDOS (REVISÃO, NÍVEL: GRADUAÇÃO)

R-C-G-1	Atividades Biológicas Da Flavona Cirsimarina.....	51
R-C-G-2	Fármacos Multi-Alvos: Uma Estratégia No Planejamento Racional De Moléculas Para O Tratamento Da Doença De Alzheimer.....	54

RESUMOS EXPANDIDOS (REVISÃO, NÍVEL: PÓS-GRADUAÇÃO)

R-C-PG-1	Maresina-2 (MaR2): novo mediador lipídico pró-resolução especializado.....	57
----------	--	----

RESUMOS SIMPLES (TRABALHO COMPLETO, NÍVEL: GRADUAÇÃO)

S-G-1	Síntese De Derivados Cumarínicos Com Potencial Atividade Fotoprotetora.....	60
S-G-2	Investigação Inibitória De Tirosinase De Derivados Cumarínicos.....	61
S-G-3	Síntese De Novos Ligantes De Receptores Nicotínicos Através De Reações De O-Arilação Catalisadas Por Cobre.....	62

RESUMOS SIMPLES (TRABALHO COMPLETO, NÍVEL: PÓS-GRADUAÇÃO)

S-PG-1	Síntese Total De Uniflorol-B Derivado De Calea Uniflora Com Potencial Ação Leishmanicida.....	63
S-PG-2	Novos Derivados 4-Oxo-Quinolínicos Com Possíveis Mecanismos De Ação Multialvos Contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	64
S-PG-3	Análise Da Energia Livre De Ligação Dos Inibidores Da TcDHODH Pelo Método MM/PBSA.....	65
S-PG-4	Modelagem Molecular De Oxindolilideno Como Potenciais Inibidores Da Enzima Mpro Do SARS-CoV-2	66
S-PG-5	Busca Por Inibidores De ODC De <i>L. donovani</i> Via Modelagem Molecular.....	67
S-PG-6	Estratégias De Modelagem Molecular Integradas Visando A Identificação De Potenciais Substâncias Multialvo Contra A Doença De Alzheimer.....	68
S-PG-7	Papel Da Sinalização De GDF11 Na Miogênese: Potencial Biofármaco No Processo Regenerativo.....	69
S-PG-8	Estudos De Dinâmica Molecular Das Enzimas Anidrase Carbônica Humana E Do Parasita <i>Schistosoma mansoni</i>	70

RESUMOS SIMPLES (REVISÃO, NÍVEL: GRADUAÇÃO)

R-S-G-1	Propriedades E Efeitos Do Mediador Lipídico Pró-Resolução Maresina 1 (Mar1) Na Mediação De Dor E Inflamação.....	71
R-S-G-2	Análise Da Hepatotoxicidade Do Paracetamol.....	72

RESUMOS SIMPLES (REVISÃO, NÍVEL: PÓS-GRADUAÇÃO)

R-S-PG-1	O potencial terapêutico da Protectina DX na dor e inflamação.....	73
----------	---	----

RESUMOS SIMPLES (PROJETO, NÍVEL: PÓS-GRADUAÇÃO)

P-PG-1	Triagem Virtual Para Identificação De Inibidores De Proteassoma De <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Com Potencial Atividade Antimicobacteriana.....	74
P-PG-2	Síntese E Avaliação Do Potencial Antiplasmodial De Triazóis E Triazinas.....	75

Categoria: Trabalho Completo (C-G-1)

Planejamento e avaliação *in silico* de novos análogos do peficitinibeElen P. Lima¹ (GD), Elisa T. Stickling¹ (GD), Flavia Deduch² (PG), Marcelle L. F. Bispo² (PQ)*. mlfbispo@uel.br

1 - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

2 - Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras-Chave: Docking molecular, ADME, JAK3, Artrite reumatoide.

Introdução

A Artrite Reumatoide (AR) é uma doença autoimune crônica, caracterizada por inflamação articular, que pode levar a complicações como destruição da cartilagem, erosão óssea e danos em outros órgãos sistêmicos.¹

O aparecimento da AR está associada a fatores genéticos e ambientais, que desencadeiam a produção de autoanticorpos e perda da tolerância imunológica. O dano à cartilagem se inicia com a migração e proliferação de células do sistema imune para o tecido sinovial, com produção de citocinas pró-inflamatórias e metaloproteínas, ocasionando a destruição progressiva da cartilagem e, em fases tardias, perda óssea periarticular e sistêmica.²

A AR é mais frequente em mulheres na faixa etária de 30 a 50 anos. O tratamento da doença inclui o uso de anti-inflamatórios não esteroidais, glicocorticoides, imunossupressores e medicamentos modificadores do curso da doença (MMCD), sintéticos e biológicos. Dentre os MMCD sintéticos estão os inibidores de Janus Kinase (JAK).³

As Janus Kinases são uma família de proteínas citosólicas de tirosina quinase envolvidas na sinalização imune. Todos os quatro membros da família (JAK1, JAK2, JAK3 e TYK2) associam-se aos domínios intracelulares dos receptores de citocina I e II, atuando em diferentes combinações como homo ou hetero di e trímeros, e sinalizam através da via JAK/STAT. Esta via regula a sinalização e produção de citocinas, tendo assim um papel importante na patogênese da AR, visto que a superativação desta via, mediada principalmente por JAK1 e JAK3, induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias.⁴

As quatro enzimas da família JAK são altamente homólogas e possuem sete regiões distintas que podem ser divididas em quatro domínios estruturais, sendo eles o domínio FERM, domínio Src (SH2), domínio pseudo-quinase (JH2) e domínio quinase (JH1) (**Figura 1**). JH1 é um domínio catalítico de proteína tirosina quinase (sítio

de ligação do ATP), enquanto JH2 apresenta um papel regulatório. Os domínios FERM e Src medeiam a interação da enzima com os receptores de citocina.⁴

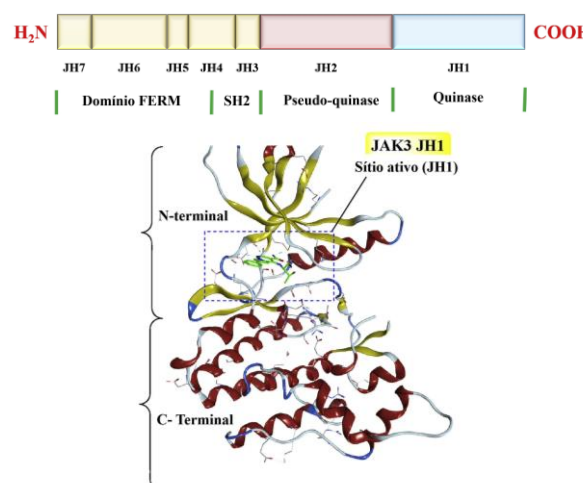


Figura 1. Visão esquemática da sequência primária e estrutura da JAK3. Adaptado de Xu, P. et al., 2020.

Até o momento, dois inibidores de JAK são utilizados para o tratamento da AR, tofacitinibe (inibidor pan-JAK) e baricitinibe (inibidor de JAK1 e JAK2). Contudo, estes medicamentos apresentam efeitos adversos associados principalmente à inibição da JAK2, como anemia e maior suscetibilidade a infecções.⁵ Dessa forma, a busca por inibidores de JAK mais seletivos tornou-se importante.

A JAK3 é expressa principalmente em células linfoides, como células *natural killer* (NK), linfócitos B e T, enquanto os outros membros da família JAK são expressos de forma ubíqua. Além disso, diferente de outras JAKs, JAK3 emparelha-se exclusivamente a JAK1 para associar-se a receptores de citocinas. Outro ponto importante que distingue a JAK3 dos membros da família JAK, é a presença de um resíduo de cisteína (Cys 909) ao invés de serina no bolso de ligação do ATP. Com base na distribuição específica, características funcionais e estruturais, JAK3

tornou-se um alvo interessante para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da AR,⁵ a exemplo do peficitinibe, um inibidor moderadamente seletivo para JAK3.⁶

Objetivos

Diante da importância da JAK3 na fisiopatologia da AR, o presente trabalho teve como objetivo planejar e avaliar *in silico* as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas de 11 análogos inéditos na literatura do fármaco peficitinibe, um inibidor conhecido desta enzima, visando identificar substâncias-protótipo com potencial atividade inibitória frente a JAK3.

Metodologia

Inicialmente, realizou-se a busca da estrutura da JAK3 complexada com peficitinibe no banco de dados do Protein Data Bank (PDB),⁷ utilizando como palavras-chave *JAK3* e *peficitinib*. Dentre as estruturas apresentadas nesta pesquisa, escolheu-se o complexo que apresentava a enzima e o inibidor desejados (PDB ID: 6AAK, resolução: 2,67 Å).

Para a análise das propriedades farmacodinâmicas do peficitinibe e dos análogos propostos, validou-se um protocolo de *docking* molecular por *redocking*. Para isso, utilizou-se o programa GOLD (versão 2022), definindo o sítio de ligação de acordo com as coordenadas do ligante previamente obtidas. Além disso, o tamanho do espaço de ligação foi ajustado para um raio de 15 Å. As águas 1302 e 1309 foram deixadas flexíveis, visto que possuem um papel importante para a interação do inibidor com a enzima (parâmetros: toggle "on", spin "trans spin", distance "1 Å").⁶ Após a validação (RMSD = 0,9536 Å), a função de pontuação escolhida foi a ChemPLP. Em seguida, foi realizado o *docking* molecular dos 11 análogos propostos com a JAK3. Para a realização do *docking* molecular os análogos foram preparados levando em consideração o seu estado de protonação e tautomeria em pH 7,4, condição ótima para o funcionamento da enzima.⁶ A análise das interações dos análogos com a enzima foi realizada no programa Discovery Studio (versão 2020) e PyMOL (versão 2.6.0). Por fim, as propriedades farmacocinéticas (ADME) dos análogos que obtiveram maior valor de *fitness score* (FS) foram analisadas na plataforma online de predição *in silico* SwissADME⁸.

Resultados e discussão

Após uma busca no banco de dados do PDB, optou-se por trabalhar com o complexo sob o código PDB 6AAK, formado por quatro cadeias proteicas com 287 aminoácidos, correspondente a JAK3, e pelo inibidor Peficitinibe (**Figura 2**).

Peficitinibe atua como inibidor moderadamente seletivo da JAK3, se ligando no sítio ativo do ATP, bloqueando a reação de fosforilação do resíduo de tirosina. A interação do inibidor com a enzima ocorre principalmente por contatos hidrofóbicos, sendo observadas duas ligações de hidrogênio diretas com os resíduos de Glu903 e Leu905, e duas ligações de hidrogênio mediadas por moléculas de água com os resíduos de Arg953 e Asp967.⁶

Com o objetivo de melhorar as interações do Peficitinibe com a JAK3, foram propostas algumas mudanças em sua estrutura química. De forma a possibilitar a realização de uma ligação de hidrogênio direta com os resíduos de Arg953 e Asp967, foi utilizada uma estratégia de homologação do anel 2-adamantano, dando origem aos análogos **A1**, **A2** e **A3**. Os análogos **A4** e **A5** foram propostos com o mesmo objetivo, porém utilizando-se uma estratégia de simplificação molecular do anel 2-adamantano. De forma a verificar a influência de diferentes grupos na interação do inibidor com a enzima, foi realizada a troca bioisostérica do grupo amida (R_2), dando origem aos análogos **A6**, **A7**, **A8**, **A9** e **A10** (**Figura 2**).

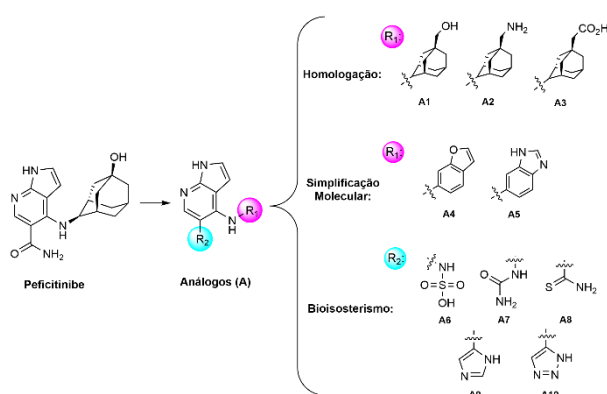


Figura 2. Planejamento estrutural dos análogos (A1-A10) do peficitinibe.

Analisando os valores de FS obtidos no *docking* molecular (**Tabela 1**), verificou-se que os análogos **A2** e **A9** apresentaram as melhores interações com a JAK3, indicando que as modificações realizadas para a formação destes análogos foram benéficas.

Um estudo relatou que a porção 2-adamantano do peficitinibe está direcionado a uma cavidade hidrofóbica importante para a atividade inibitória de JAK3. Além disso, a existência de alguns resíduos polares nesta região, como Arg953 e Asp967, possibilitariam a interação por ligação de hidrogênio quando introduzido resíduos polares no C5 do anel 2-adamantano.⁶ A substituição do grupo -OH por um grupo -CH₂NH₂ no **A2** possibilitou a formação de uma interação iônica com o resíduo de Asp967, corroborando com os dados observados no estudo relatado acima. A troca do grupo amida em C5 pelo grupo imidazol no **A9** possibilitou interações mais fortes com a enzima, como por exemplo uma ligação do tipo pi-enzofre com o resíduo Met902.

Tabela 1. Valores de FS obtidos no *docking* molecular dos análogos propostos.

Análogos	FS
1	75,79
2	78,68
3	76,18
4	66,79
5	67,46
6	70,07
7	68,25
8	72,46
9	78,69
10	76,65
11	80,07
Peficitinibe	78,87

Com base nestes resultados, foi proposto o análogo **A11**, somando-se às estratégias de homologação e bioisosterismo presentes em **A2** e **A9**, respectivamente (**Figura 3**). Esperava-se que a união das modificações estruturais contribuísse para a formação de um análogo que interagisse ainda de modo mais efetivo com a enzima. Isso foi observado no valor de FS obtido para o análogo **A11** (**Tabela 1**), sendo o maior valor dentre todos os análogos e do inibidor original, peficitinibe. Grande parte das interações observadas nos análogos **A2** e **A9** com a enzima foram mantidas no análogo **A11**, exceto pela perda da interação iônica com o resíduo de Asp967. Contudo, foi observada uma ligação de hidrogênio a mais com o resíduo de Leu828, o que pode ter contribuído para o maior valor de FS observado para **A11** (**Figura 3**).

De forma a verificar a influência das modificações propostas nas propriedades farmacocinéticas do peficitinibe, foi realizado o cálculo *in silico* dessas propriedades para os melhores análogos (**A2**, **A9** e **A11**). Os resultados

mostraram que os análogos não violam nenhum filtro de *druglikeness* (Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge) e apresentam alta probabilidade de apresentarem alta absorção gastrointestinal, porém possuem algumas diferenças em relação ao metabolismo, como a inibição de diferentes proteínas citocromo P₄₅₀. Dessa forma, verifica-se que as propriedades farmacocinéticas dos análogos **A2**, **A9** e **A11** assemelham-se muito com as propriedades do Peficitinibe, visto que esse não viola nenhum filtro de *druglikeness* e apresenta uma alta absorção gastrointestinal.

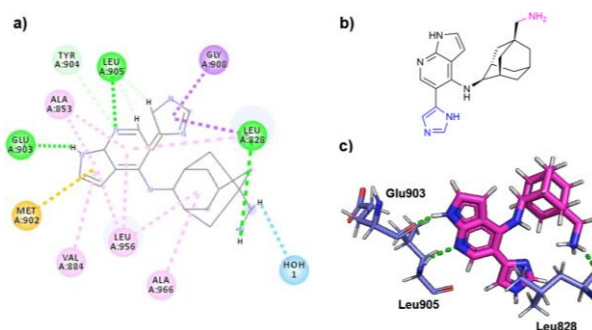


Figura 3. a) Diagrama 2D do análogo **A11** complexado com JAK3. b) Estrutura química do **A11**. c) Interação por ligação de hidrogênio do **A11** com resíduos da JAK3. Ligações de hidrogênio realizadas entre o análogo **A11** e os resíduos de Leu 828, Gly903 e Leu905 da JAK3. Legenda da interações: verde = ligação de hidrogênio; rosa = pi-alquil/alquil; roxo = pi-sigma; laranja = pi-enzofre; azul claro = ligação carbono e hidrogênio; azul = ligação de hidrogênio com água.

Conclusões

Dentre os análogos propostos no presente trabalho, **A2**, **A9** e **A11** apresentaram melhores propriedades farmacodinâmicas do que o peficitinibe, sendo capazes de interagir com resíduos importantes da enzima. Além disso, as modificações propostas não influenciaram de forma significativa as propriedades farmacocinéticas dos análogos propostos em comparação ao fármaco. Logo, neste trabalho, identificou-se 3 análogos considerados promissores para a inibição da JAK3.

Referências e notas

- (1) Volkov, M.; Schie, K. A.; Woude, D. *Immunological Reviews*. **2020**, 294.
- (2) Guo, Q. et al. *Bone Research*. **2018**, 6, 15.
- (3) Ministério da Saúde. **2020**.
- (4) Xu, P. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. **2020**, 192, 112155.
- (5) Forster, M.; Gehringer, M.; Leufer, S. A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2017**, 27, 18.
- (6) Hamaguchi, H. et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. **2018**, 26, 18.
- (7) <https://www.rcsb.org/>.
- (8) <http://www.swissadme.ch/>.

Abordagem *in silico* para a descoberta de novos fármacos inibidores da glicoproteína D do Herpes Simplex Virus

Gabriel G. Vanzo¹ (IC), Micael F. S. Pereira¹ (IC), Priscila Goes Camargo² (PQ), Alexandre Orsato² (PQ), Marcelle L. F. Bispo² (PQ)*. mlfbispo@uel.br

1 – Curso de Farmácia, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

2 - Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras-Chave: Vírus da Herpes Simplex (HSV), Glicoproteína D, Docking molecular, Inibidor de entrada.

Introdução

Cerca de 3,7 bilhões de pessoas no mundo são infectadas pelo vírus do herpes simples (HSV), que é transmissível através do contato direto com as lesões e fluídos corporais, ocasionando lesões bolhosas e úlceras dolorosas, que afetam principalmente as mucosas orais e genitais. Atualmente, não há medicamentos disponíveis capazes de curar a infecção, ocasionando episódios de recorrência¹. As opções terapêuticas para o tratamento dos sintomas clínicos são os inibidores da síntese do DNA viral, como o aciclovir, um análogo nucleosídico. Porém, o surgimento de cepas resistentes demonstra a necessidade de explorar novos alvos terapêuticos para o desenvolvimento de fármacos anti-herpéticos.² Nesse contexto, a glicoproteína D (gD), presente na superfície do vírus Herpes, atua no reconhecimento de receptores celulares mediando a entrada da partícula viral. Sua inibição poderia impedir a infecção das células hospedeiras, tornando um alvo molecular promissor.

Objetivos

O presente trabalho consiste em realizar em uma triagem virtual baseada em *docking* molecular na gD do vírus do herpes simples, avaliando 81 estruturas pertencentes à quimioteca do Laboratório de Síntese de Moléculas Mediciniais (LaSMMed) para identificar inibidores com potencial atividade anti-herpética.

Metodologia

A estrutura cristalográfica utilizada foi obtida no Protein Data Bank (PDB - <https://www.rcsb.org/>) sob código 1JMA e resolução 2.65 Å, em complexo com mediador de entrada de herpes vírus (HVEM). Foram removidos artefatos de cristalização, moléculas de água e o HVEM, mantendo o sítio de

interação livre. As 81 estruturas da quimioteca (derivados indólicos e de carvacrol, oxazolidinonas, cumarinas, tioureias e tiazolidinonas) do LaSMMed foram minimizadas energeticamente utilizando o campo de força MM2, através da extensão Chem3D HotLink do programa ChemDraw (v.20.0.0.41), considerando o tautômero dominante e o estado de protonação em pH 7.4. O docking molecular foi realizado através do software GOLD (v.2022.3.0) utilizando as quatro funções de pontuação disponíveis (GoldScore, ChemScore, CHEMPLP e ASP). As coordenadas do sítio avaliado foram X: -27,284, Y: 50,152 e Z: -6,099² e um raio de 10 Å. Alguns aminoácidos foram adotados como flexíveis, sendo Met11, Asn15, Asp26, Gln27, Leu28 e Thr29, com rotação livre de ângulos, variando de 0° a 180°. Os ligantes também foram configurados como flexíveis, e 10 poses de ancoragem foram determinadas, mantendo as demais configurações definidas como padrão para os cálculos. Os ligantes foram ranqueados através da metodologia de escala³, onde as 10 melhores moléculas passaram por validação por consenso, utilizando o RMSD (*root mean square deviation*) calculado no programa Discovery Studio Visualizer, selecionando poses com valores menores que 2 Å.⁴

Resultados e discussão

A gD apresenta dois principais sítios de interação para seus receptores (**Figura 1**), um para o HVEM e outro para nectina-1. O HVEM é um receptor celular do fator de necrose tumoral, expresso principalmente em células imunes, enquanto a nectina-1 é uma proteína de adesão celular, presente em diferentes tecidos, como epitelial e neuronal.⁵ A inibição da interação com ao menos um dos receptores pode contribuir para a inibição viral.² Quando um dos receptores se liga na gD, promove mudanças conformacionais que bloqueiam o acesso ao outro sítio. Desta maneira, o estudo das interações de possíveis inibidores deve ser realizado de forma individual para cada um dos sítios².

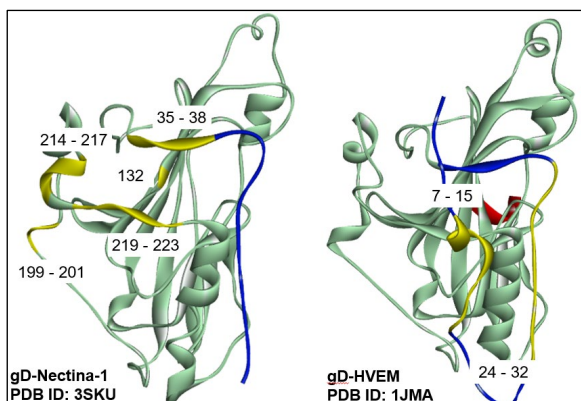


Figura 1. Sítios de ligação da gD. Fonte: Autor próprio.

Sítio Nectina-1: Arg35-Arg36-Val37-Tyr38-Gln132-Pro199-Ser200-Ala201-Val214-Asp215-Ser216-Ile217-Met219-Leu220-Pro221-Arg222-Phe223.

Sítio HVEM: Ala7-Ser8-Leu9-Lys10-Met11-Ala12-Asp13-Pro14-Asn15-Val24-Leu25-Asp26-Gln27-Leu28-Thr29-Asp30-Pro31-Pro32.

Este presente trabalho buscou analisar por triagem virtual possíveis substâncias-protótipo dentro da quimioteca do LaSMMed capazes de interagir com o sítio de ligação do receptor HVEM. A triagem virtual foi capaz de levar à seleção dos 10 melhores possíveis ligantes aplicando a metodologia de escala, sendo essas substâncias pertencentes a diferentes classes (**Tabela 1**). Entre os selecionados, apenas o **LMed13** não apresentou consenso entre as poses resultantes das 4 funções de pontuação do programa GOLD.

Tabela 1. Classificação dos ligantes, classe química e função escolhida.

	Ligante	Classe	Função
1º	LMed13	Cumariltioureia	^a
2º	LMed 68	Apocinina	CHEMPLP
3º	LMed 76	Cromona	CHEMPLP
4º	LMed 34	Indol	ChemScore
5º	LMed 30	Indol	GoldScore
6º	LMed 37	Indol	CHEMPLP
7º	LMed49(R)	Tiazolidinona	ASP
8º	LMed19	Cumarilamida	ChemScore
9º	LMed28	Indol	ChemScore
10º	LMed69	Apocinina	CHEMPLP

^a Sem consenso entre as 4 funções de pontuação. Fonte: Autor próprio.

Os critérios de seleção das poses provenientes de cada função de pontuação para a análise das

interações dos ligantes foram: i) menor valor de RMSD; ii) maior número de ligações de hidrogênio; iii) maior número de interações com resíduos-chave e iv) complexo com melhor colocação dentro da função de pontuação.

Ao avaliar as interações dos ligantes com a gD, encontram-se diversos resíduos de aminoácidos, mas o interesse maior é relacionado aos que realizam ligações de hidrogênio (**Quadro 1**). Destacam-se a Ala12, Gln25 e Leu27, três resíduos diretamente envolvidos na interação da gD com seu receptor alvo, além da Tyr234, localizada em uma alfa-hélice atrás da alça.

Quadro 1. Interações intermoleculares dos ligantes.

	LMed								
	28	30	34	37	19	76	68	69	49
Ala12									
Gln25									
Leu27									
Tyr234									

Fonte: Autor Próprio. Legenda:

	Lig. de hidrogênio	Int. Carbono-hidrogênio
	Int. Van der Waals	Int. Hidrofóbica

A classe dos derivados indólicos se destacou entre os compostos avaliados, sendo selecionados os ligantes **LMed28, 30, 34 e 37 (Figura 2)**. Ambos apresentaram poses semelhantes no sítio de ligação do HVEM, o que é correlacionado ao fato dessas estruturas serem similares, sendo o **LMed34** e o **LMed37** análogos clorados do **LMed28** e **LMed30 (Figura 2)**.

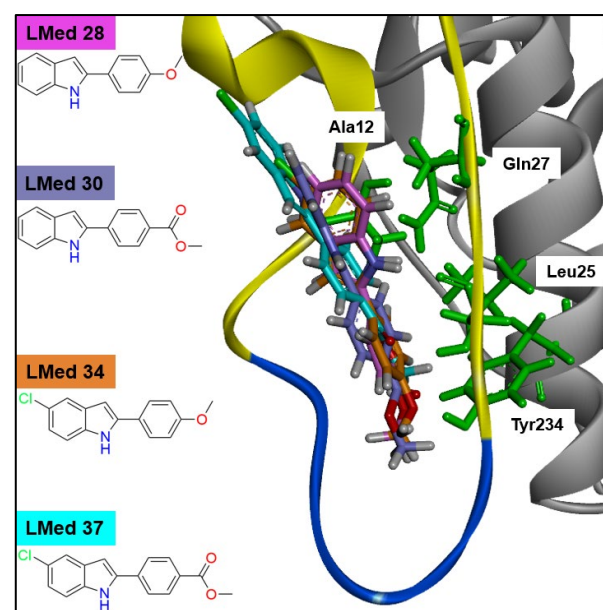


Figura 2. Resultado dos Indóis **LMed28, 30, 34 e 37**. Fonte: Autor próprio.

O **LMed37** foi o derivado indólico com posicionamento distinto (**Figura 2**), alocado levemente acima dos outros, onde através das interações (**Quadro 1**) nota-se a ausência de ligação de hidrogênio com a Tyr234, que está presente para as outras três estruturas.

Além dos derivados indólicos, outros quatro ligantes, pertencentes as classes das cumarilamidas (**LMed19**), derivados da apocinina (**LMed68** e **LMed69**) e de cromona (**LMed76**), também apresentam um padrão de posicionamento no sítio. Entre as interações observadas (**Quadro 1**), todos realizam no mínimo uma ligação de hidrogênio, destacando-se as interações entre a Tyr234 da gD e os grupos substituintes nitro ou metoxila dos compostos (**Figura 3**).

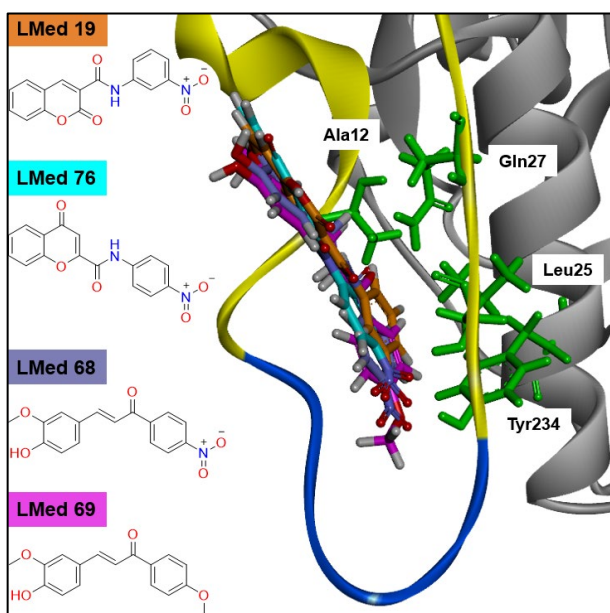


Figura 3. Resultado dos Ligantes **LMed 19, 68, 69 e 76**.
Fonte: Autor próprio.

A estrutura com padrão de ligação mais distinto observado foi o **LMed49(R)**, uma tiazolidinona que possui uma estrutura pouco maior e mais flexível do que as outras avaliadas (**Figura 4**), porém também com grupos anel benzênico e éster etílico, que interagiram em regiões similares ao observado para os outros ligantes. O padrão de interação do **LMed49(R)** (**Quadro 1**) possui a mesma particularidade do **LMed37**, visto que ambos foram os únicos que não realizaram ligação de hidrogênio com a Tyr234, apesar de apresentarem interações hidrofóbicas com esse resíduo, o que indica que o posicionamento, apesar de diferente, não foi tão distante dos outros.

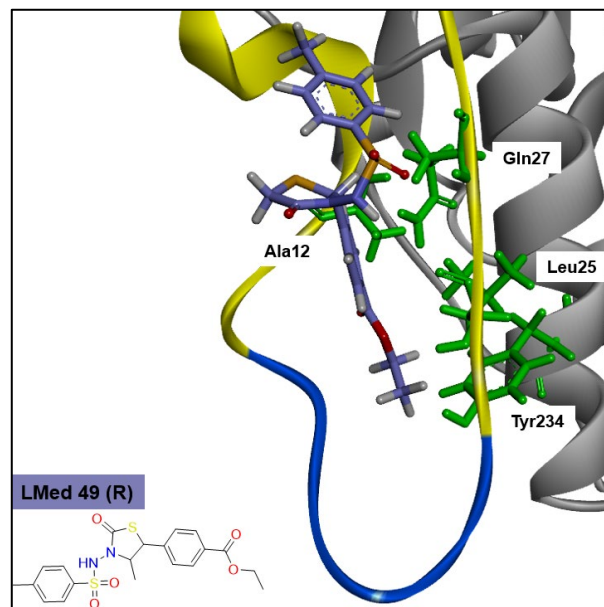


Figura 4. Resultado do Ligante **LMed49(R)**. Fonte: Autor próprio.

Conclusões

A triagem virtual com a quimioteca do LaSMMed foi capaz de selecionar 9 compostos com interações no sítio do receptor HVEM de gD do herpes vírus simples, sendo a classe dos indóis a que mais se destacou. Além disso, foi observado que alguns grupos substituintes presentes em anéis benzênicos, tais como éteres, ésteres ou nitro, parecem ser relevantes para o processo de reconhecimento molecular. Essas substâncias se demonstraram promissoras para serem avaliadas em futuros ensaios de interação com a gD e ensaios *in vitro* frente ao HSV.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Referências e notas

- (1) World Health Organization. Herpes simplex virus. **2023**.
- (2) Wu, J. *et al. Pharmaceuticals*. **2022**, *15*, 361.
- (3) Wiggers, H. J. *et al. Mol. Inf.* **2011**, *30*, 565.
- (4) Tuccinardi, T. *et al. Chem. Inf. Model.* **2014**, *54*, 2980.
- (5) Connolly, S. A.; Jardetzky, T. S.; Longnecker, R. *Nat Rev Microbiol.* **2021**, *19*, 110.

Planejamento e avaliação *in silico* de novos derivados indólicos com potencial atividade antitripanossômica

Murilo da Silva Lopes Rodrigues¹ (IC), Priscila Goes Camargo¹ (PQ), Marcelle de Lima Ferreira Bispo¹ (PQ)*. *mlfbispo@uel.br

1- Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras-Chave: Docking Molecular, CYP51, Doença de Chagas, Indol.

Introdução

A doença de chagas (DC) ou tripanossomíase americana é uma doença infecciosa causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi* e transmitida por insetos triatomíneos¹. Segundo a Organização Mundial da Saúde, esta doença afeta cerca de 6 a 7 milhões de pessoas (2020), principalmente em países da América Latina². A DC é uma doença negligenciada, por ser endêmica em países emergentes, além disso, conta apenas com dois fármacos para seu tratamento: Nifurtimox e Benznidazol, que são parcialmente efetivos na fase aguda da doença e apresentam muitos efeitos adversos¹.

Portanto, o estudo e desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas é de grande valia. Nesse contexto, alvos moleculares importantes para a sobrevivência de protozoários como *T. cruzi*, estão sendo amplamente estudados⁴. Dentre esses, a enzima 14 α -desmetilase (CYP51), é um alvo em destaque por realizar processos oxidativos essenciais na via de síntese do ergosterol, se tornando objeto de estudo para a investigação do mecanismo de ação de potenciais substâncias bioativas³.

Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo realizar uma triagem virtual baseada em *docking molecular* na enzima CYP51 com 14 compostos indólicos (Ind1-14) presentes na quimioteca do Laboratório de Síntese de Moléculas Mediciniais (LaSMMed).

Metodologia

Os estudos de triagem virtual por *docking molecular* dos compostos indólicos foram realizados com a enzima 14 α -desmetilase (CYP51) de *T. cruzi* obtida do PDB sob código 4C27 (resolução de 1.95 Å), utilizando o protocolo descrito por Pereira *et al.*, 2021⁵. As simulações

foram realizadas no programa GOLD (versão 2020.3.0) utilizando a função de pontuação ASP, e as rotações do ligante e da proteína foram consideradas rígidas. O protocolo foi validado por *redocking*, sendo as poses com menor valor de RMSD (*Root Mean Square Deviation*) e maior *fitness score* (FS), as escolhidas para análise das interações. Figuras foram geradas e analisadas no programa Discovery Studio (versão 2021.1).

Resultados e discussão

Em trabalho anterior, realizou-se uma triagem virtual de uma série de 15 derivados indólicos frente a CYP51 de *T. cruzi*⁷, onde o derivado fluorado LMed33F (Figura 1) se destacou por apresentar o maior valor de FS (41,73) e interações relevantes com a enzima, além de interagir com o cofator enzimático HEME. Deste modo, no presente trabalho, planejou-se duas séries de substâncias derivadas do arcabouço estrutural de LMed33F e avaliou-se por *docking molecular* as possíveis interações desses compostos com o alvo molecular. As estruturas propostas dos compostos indólicos fluorados estão representados na Figura 1. As séries foram planejadas com substituintes doadores e retiradores de elétrons em R², sendo a série A sem substituintes no nitrogênio e a série B com o grupo *t*-butil (Figura 1).

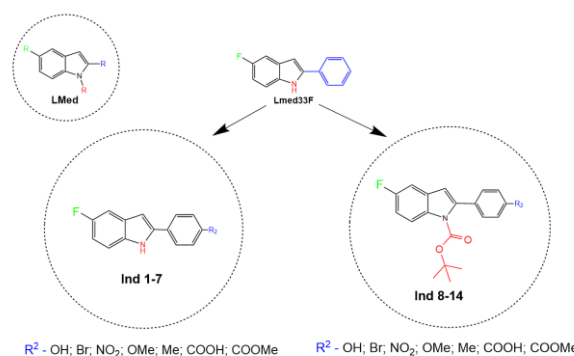


Figura 1. Estruturas Químicas dos indóis fluorados, séries A e B e o precursor LMed33F. Em verde: Manutenção do átomo de flúor. Em azul: substituintes com características estereo-eletrônicas diversas. Em

vermelho: Introdução do grupo de proteção t-butoxicarbonila (Boc).

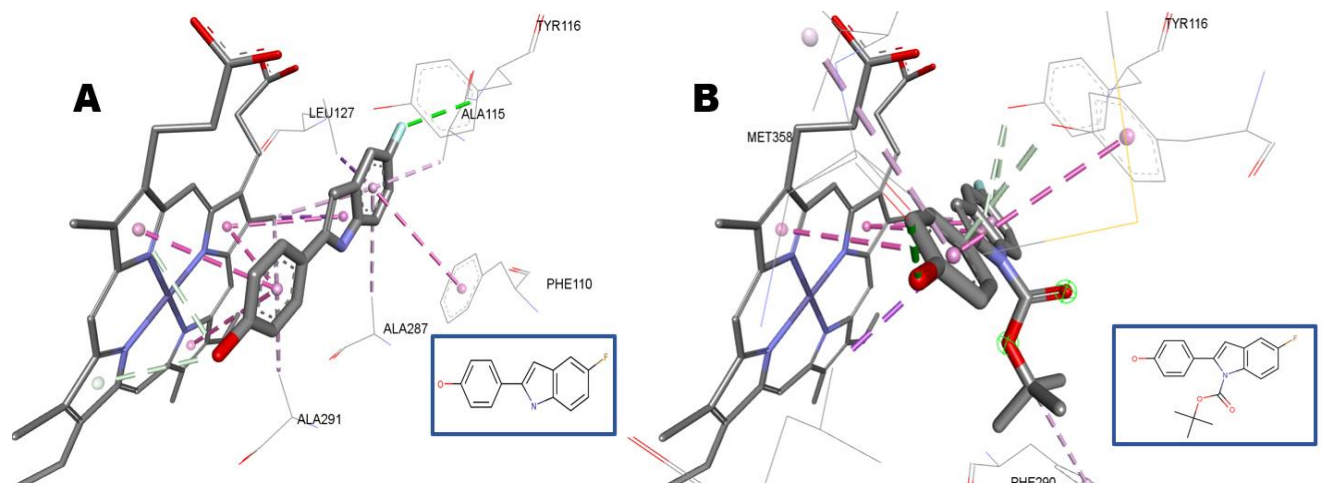


Figura 2. (A) Interações de **Ind1** e (B) Interações de **Ind8** no sítio ativo da CYP51 (PDB ID 4C27). O grupo Heme está representado em bastões cinzas e os aminoácidos em linhas.

Os resultados de docking molecular mostraram que os compostos mais promissores foram os com o substituinte hidroxila nas duas séries, com os valores de FS = 45,19 (**1A**) e 41,68 (**1B**) (Tabela 1), sendo superior e similar, respectivamente, ao seu precursor **LMed33F** (41,73).

Tabela 1. Valores de FS para os derivados indólicos fluorados 1-7: série A e B.

Ind	R ²	Série A (FS)	Série B (FS)
1 / 8	OH	45,19	41,68
2 / 9	Br	40,39	39,08
3 / 10	NO ₂	38,57	38,12
4 / 11	OMe	39,66	37,25
5 / 12	Me	40,19	36,93
6 / 13	COOH	36,51	37,06
7 / 14	COOMe	35,29	38,13
LMed33F		41,73	

O composto **Ind1**, realizou interações por ligação de hidrogênio com o aminoácido Tyr106, além de interações hidrofóbicas com os aminoácidos Tyr116; Phe110 e com o grupo HEME (Figura 2A). Já o composto hidroxilado da série B (**Ind8**) apresentou ligação de hidrogênio com a Met358, e interações hidrofóbicas com Tyr103 e Tyr116 (Figura 2B). Estudos com derivados indólicos, relatam que esses compostos são capazes de interagir com os aminoácidos Tyr116 e Tyr103, resíduos estes que são ricos em elétrons e que envolvem o grupo HEME de maneira favorável para que ele adote sua conformação catalítica. A interação com esses resíduos prejudica o processo catalítico normal e pode ser um fator favorável para inibição enzimática⁶.

Dessa forma, foi possível observar que a manutenção do átomo de flúor manteve as melhores interações com o alvo enzimático, além de que a substituição em R² com OH, pareceu trazer melhores interações com o HEME e com aminoácidos essenciais para sua manutenção no sítio, e isto do ponto de vista de enzimático pode ser favorável para um processo de inibição.

Foi possível observar que o composto da **Ind1** apresentou a hidroxila próxima ao grupamento HEME. Já o composto **Ind7** com menor FS, apresentou menor afinidade ao se ligar ao sítio catalítico enzimático, se alocando em uma posição oposta e distante (Figura 3), refletindo em seu FS.

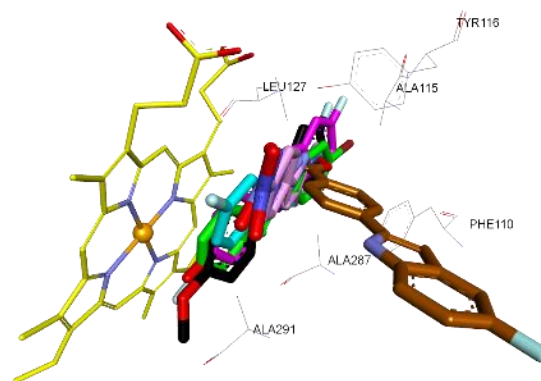


Figura 3. Sobreposição das poses resultantes do docking molecular dos compostos **Ind1** a **Ind7** da série A. HEME (em amarelo), **Ind1** R²=OH (rosa escuro), **Ind2** R²= Br (verde), **Ind3** R²= CH₃ (ciano), **Ind4** R²= COO⁻

(azul), **Ind5** $R^2 = \text{COOMe}$ (marrom), **Ind6** $R^2 = \text{NO}_2$ (rosa claro) e **Ind7** $R^2 = \text{OCH}_3$ (preto).

A respeito de **Ind2**, o substituinte Br, pareceu favorecer uma conformação obtida semelhante ao observado para o derivado hidroxilado **Ind1**, entretanto, seu substituinte se voltou para os aminoácidos da região catalítica e não para o grupamento HEME, desfavorecendo esta interação. Os demais compostos apesar de estarem em posições parecidas a **Ind1**, não foram capazes de interagir da mesma forma com os resíduos de aminoácidos do sítio (Figura 3).

Na **Figura 4** é possível analisar que o composto **Ind8** foi capaz de se ligar ao sítio próximo ao grupamento HEME, sendo possível realizar interações do tipo empilhamento pi que se mostraram favoráveis, explicando seu melhor valor de FS = 41,68. Por outro lado, o composto com menor valor de FS, **Ind14**, não foi capaz de realizar esse tipo de interação, uma vez que o anel fenila se encontrou ao lado oposto ao cofator enzimático.

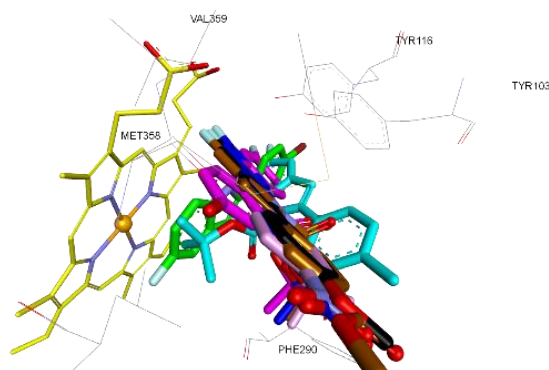


Figura 4. Sobreposição das poses resultantes do *docking* molecular dos compostos **Ind8** a **Ind14** da série B. HEME (em amarelo), **Ind8** $R^2 = \text{OH}$ (rosa escuro), **Ind9** $R^2 = \text{Br}$ (verde), **Ind10** $R^2 = \text{CH}_3$ (ciano), **Ind11** $R^2 = \text{COO}^-$ (azul), **Ind12** $R^2 = \text{COOMe}$ (marrom), **Ind13** $R^2 = \text{NO}_2$ (rosa claro) e **Ind14** $R^2 = \text{OCH}_3$ (preto).

Quanto ao ligante **Ind9** também foi possível observar essa proximidade ao grupo HEME, porém assim como **Ind8** o substituinte se manteve voltado para os aminoácidos do sítio catalítico desfavorecendo a interação com o cofator. Diferente ao observado para a série A, os demais compostos da série B apresentaram poses similares, porém, mais distantes ao sítio de ligação adotado pelo composto **Ind8**, refletindo nos seus valores de FS mais baixos e menores interações com aminoácidos do sítio ativo.

Em ambos os casos, tanto na série A, quanto na série B, foi possível analisar que os compostos que apresentaram melhores valores de FS apresentaram substituinte $R^2 = \text{OH}$ voltado para o grupamento HEME, inferindo que o encaixe desses

substituintes mais próximos ao cofator da enzima aparentou trazer melhoras no que tange as interações com o alvo.

Conclusões

Em síntese, é possível destacar que os estudos com os derivados indólicos que aqui estão foram avaliados por meio de suas interações com o alvo molecular apresentaram capacidade de realizar interações importantes com os resíduos de aminoácidos cruciais para o processo catalítico normal da enzima, sendo um possível fator para sua inibição. Sendo assim, derivados indólicos fluorados podem ser uma classe promissora para possíveis testes fenotípicos frente ao *T. cruzi* e enzimático contra a CYP51.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela bolsa concedida.

Referências e notas

- (1) Neves, D.P. *et al.* Parasitologia humana, 13ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2016.
- (2) Organização Mundial da Saúde. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis), **2020**.
- (3) Guedes-da-Silva, F. H., *et al.*, *Antimicrob Agents Chemother.* **2017**, 61(4), e02098-16.
- (4) Lima, C.H.S. *et al.*, *Lett Drug Des Discov.* **2020**, 17(2), 184.
- (5) Pereira, P. M. L. *Parasitology Internacional*, **2021**. 80(2021), 102225.
- (6) Calvet, C. M. *et al.*, *J Med Chem*, **2014**, 57(16), 6989.
- (7) Rodrigues, M. S. L. *et al.*, II Simpósio de Química farmacêutica e medicinal. **2022**.

Síntese e Aumento de Escala de *Building-Blocks* Quinolínicos, Intermediários-Chave na Busca por Protótipos Contra a Tuberculose

Gabriel O.G. Fernandes¹ (IC), Alexandra M.B.M. Pimentel¹ (IC), Gabriel O. Costa¹ (PG), Claudia R.B. Gomes¹ (PQ), Marcus V.N. de Souza¹ (PQ), Victor Facchinetti¹ (PQ)*. *victor.luz@fiocruz.br

1- Laboratório de Síntese de Substâncias ao Combate a Doenças Tropicais, FIOCRUZ, RJ-Brasil.

Palavras Chave: Tuberculose, Síntese orgânica, Quinolinas, Sonoquímica, Multigrama

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença grave acompanhada anualmente pela Organização Mundial da Saúde (OMS.) Em 1997, primeiro ano em que houve o acompanhamento da TB por esse órgão, foram reportados 3 milhões de casos dessa doença em mais de 170 países. Dados mais recentes, do ano de 2021, indicam a incidência de 10.6 milhões de casos, deixando claro que apesar dos avanços da medicina e farmacologia, a TB ainda é um problema para a saúde pública mundial, em especial com o surgimento de diversas cepas multiresistentes.¹

Em 2012, a bedaquilina, primeiro medicamento registrado para o tratamento da tuberculose em 40 anos, foi aprovada para o tratamento da TB multirresistente.² É interessante destacar que esse medicamento pertence à classe de quinolinas, grupamento presente em diversas moléculas utilizadas no tratamento da malária e de infecções fúngicas e bacterianas, além de estar presente em anti-inflamatórios, imunossupressores e analgésicos. Nesse contexto, visando o desenvolvimento de fármacos que possam combater a TB, torna-se interessante a síntese e o aumento de escala de novos *building-blocks* quinolínicos, inéditos na literatura, com diferentes padrões de substituição, que possam ser utilizados por nosso grupo de pesquisa na otimização de estruturas bioativas previamente identificadas. Portanto, esse projeto tem como meta a obtenção em escala multigrama de 3 *building-blocks* quinolínicos inéditos (Figura 1) de alto valor agregado a partir da síntese de Gould-Jacobs.³

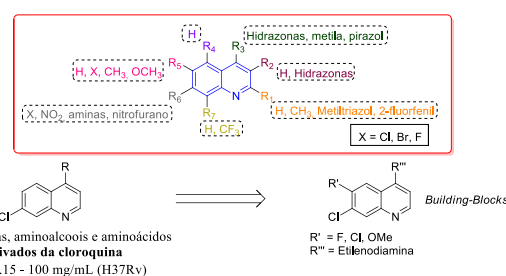


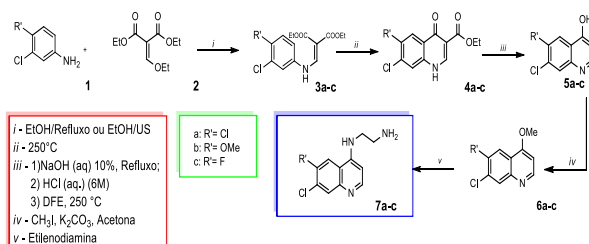
Figura 1. Grupamentos importantes para a atividade biológica de quinolinas contra TB⁴ e *building-blocks* inéditos propostos nesse projeto.

Objetivos

Sintetizar 3 *building-blocks* quinolínicos inéditos, em escala multigrama, que serão utilizados pelo grupo de pesquisa como intermediários-chave na busca por novas moléculas com potencial atividade contra a Tuberculose.

Metodologia

As moléculas propostas serão obtidas através de uma metodologia clássica e conhecida para síntese de quinolinas, a síntese de Gould-Jacobs, de acordo com o Esquema 1.³



Esquema 1. Metodologia proposta para síntese dos intermediários chave

A rota sintética proposta foi iniciada com a formação dos β -anilinoacrilatos de etila **3a-c** a partir da reação entre as respectivas anilinas dissustituídas **1a-c** e o etoximetilnomalonato de dietila (EMME) em etanol sob refluxo. Alternativamente, as moléculas **3a-c** foram sintetizadas através da sonoquímica, utilizando-se um reator Eco-sonics QR750 multiwave ultrasonic generator (20 kHz 750 W) equipado com um conversor e oscilador de titânio (diâmetro = 4 mm). Em seguida, as substâncias **3a-c** foram submetidas à reação de ciclização térmica em éter difenílico (DFE) para formação das quinolonas **4a-c**. Os intermediários-chave desse projeto, as quinolinas **6a-c**, puderam ser obtidas a partir da hidrólise básica de **4a-c** com solução de NaOH(aq.) a 10% seguida de descarboxilação em refluxo de DFE e metilação com iodeto de metila na presença de K_2CO_3 . Por fim, as moléculas **7a-c** serão obtidas a partir da reação de substituição nucleofílica aromática entre as quinolinas metiladas **6a-c** e a etilendiamina sob refluxo sem o uso de outros solventes.

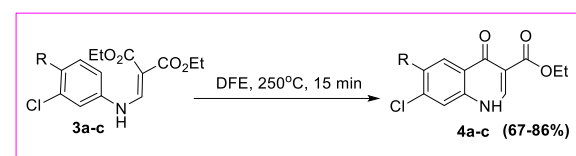
Resultados e discussão

Os Acrilatos **3a-c** foram obtidos, primeiramente por meio de aquecimento convencional e, para fins comparativos foi utilizada também a sonoquímica nessa etapa. Foi possível observar que o rendimento da síntese do acrilato **3a**, dissustituído com cloro nas posições 3 e 4 do anel benzênico, foi consideravelmente maior com o uso do ultrassom (94%) quando comparado ao aquecimento convencional (53%). Além disso, houve redução no tempo reacional de 24h para apenas 1h. Já no caso do intermediário **3b**, rendimentos similares foram observados, porém o tempo reacional também foi reduzido de 24h sob refluxo para 1h sob a irradiação ultrassônica. Por fim, o acrilato **3c** também apresentou rendimento maior com o uso da sonoquímica, de 55%, em comparação à metodologia convencional (35%). Porém, foi necessário utilizar um tempo maior de ultrassom (4h). Os resultados obtidos estão resumidos na **Tabela 1**. Sendo assim, é notório que o uso do ultrassom foi de grande eficiência para melhora de rendimento e diminuição do tempo de reação. Cabe destacar que essa metodologia é inédita na literatura e seu escopo será investigado posteriormente.

Tabela 1. Dados sobre a síntese dos acrilatos **3a-c** em aquecimento convencional e ultrassom

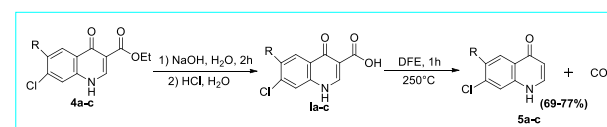
Substância	Ponto de fusão (°C)	Rendimentos em aquecimento Δ em 24 h	Rendimento em ultrassom (h)
3a	68-70	53 %	94 % (1h)
3b	89-90	96 %	97,3 % (1h)
3c	64-66	35,3 %	55 % (4 h)

Os intermediários **4a-c** foram obtidos, na sequência, pela ciclização dos respectivos acrilatos **3a-c**, realizada em aquecimento a 250° C devido à alta energia de ativação necessária para essa reação. Por causa da alta temperatura utilizada, notou-se a decomposição do produto após 30min de reação, portanto, as reações foram realizadas no tempo de 15min visando a obtenção de maiores rendimentos (**Esquema 2**). Sendo assim, os produtos desejados foram obtidos com rendimentos de 86% (**4a**), 70% (**4b**) e 67% (**4c**).



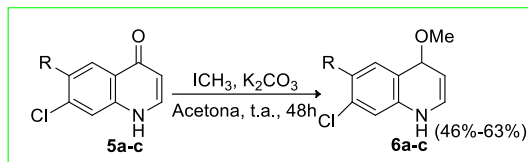
Esquema 2. Rendimento dos intermediários **4a-c**

As quinolonas foram, então, submetidas a hidrólise básica com NaOH(aq.) 10% e, em seguida, refluxadas novamente em DFE para que ocorresse a descarboxilação com formação das quinolinas **5a-c** (**Esquema 3**). As moléculas **5a-c** foram obtidas com rendimentos de 75% (**5a**), 77% (**5b**) e 69% (**5c**) após filtração a vácuo do precipitado e lavagem com ciclohexano e éter dietílico.



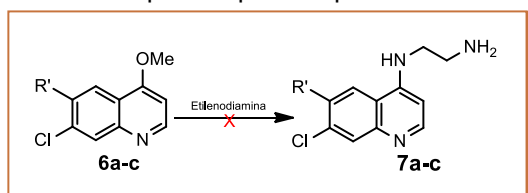
Esquema 3. Rendimento dos intermediários **5a-c**

Para obtenção dos compostos **6a-c** foi realizada uma substituição nucleofílica bimolecular entre os intermediários **5a-c** e o iodeto de metila, na presença de carbonato de potássio como base (**Esquema 4**). A purificação foi realizada a partir de uma extração líquido-líquido com acetato de etila e água. A fase orgânica foi evaporada, fornecendo os sólidos referentes as moléculas **6a-c** em rendimentos moderados, de 61% (**6a**), 63% (**6b**) e 46% (**6c**).



Esquema 4. Rendimento dos intermediários **6a-c**

Finalmente, a tentativa da substituição com etilenodiamina para obter a série **7a-c**, não foi bem sucedida. A reação foi realizada utilizando-se a própria etilenodiamina como solvente, em refluxo e acompanhada por cromatografia de camada fina (CCF) (**Esquema 5**). Foi possível notar a formação de um produto no meio reacional, porém a análise de massas de alta resolução (TOF-HRMS) mostrou uma inconsistência entre a massa da molécula formada e a esperada para os produtos **7a-c**.



Esquema 5. Rendimento dos intermediários **7a-c**

Todas as moléculas obtidas foram caracterizadas por seus pontos de fusão, comparados com os da literatura, quando possível. Além disso, todos os produtos sintetizados foram analisados por meio de RMN de ^1H e ^{13}C , além de espectrometria de massas de alta resolução (TOF-HRMS). Os espectros obtidos estão em total acordo com as estruturas propostas.

Conclusões

As moléculas **3a-c**, **4a-c**, **5a-c** e **6a-c** foram sintetizadas com sucesso, em escala multigrama, em rendimentos que variaram de moderados a excelente, através da aplicação da rota sintética clássica, proposta por Gould-Jacobs para a síntese de quinolinas. Os *bulding-blocks* alvo desse projeto, **7a-c**, serão obtidos posteriormente, com otimização dessa etapa sintética e aumento da escala. Os produtos **7a-c** obtidos serão usados no desenvolvimento de novos protótipos quinolínicos com potencial atividade contra a TB.

Agradecimentos

Farmanguinhos, Fiocruz, FAPERJ, CNPq

Referências e notas

- (1) World Health Organization (WHO). Global Tuberculosis Report 2022
- (2) Mbuagbaw, L.; Guglielmetti, L.; Hewison, C.; *et al.* Outcomes of Bedaquiline Treatment in Patients with Multidrug-Resistant Tuberculosis. *Emerg. Infect. Dis.*, 25(5), 936-943, 2019.
- (3) Gould, R. G.; Jacobs, W. A. The Synthesis of Certain Substituted Quinolines and 5,6-Benzoquinolines. *J. Am. Chem. Soc.*, 61, 2890, 1939.
- (4) Keri, R. S.; Patil, S. A. Quinoline: A promising antitubercular target. *Biomed. Pharmacother.*, 2014, 68, 1161-1175.

Categoria: Trabalho Completo (C-G-5)

Avaliação toxicológica do tratamento de camundongos BALB/c machos com benzoiltiouréia 1p: Parâmetros bioquímicos e fisiológicos

Mateus de Oliveira Rodrigues Viana¹ (IC), Lucas Felipe dos Santos¹ (PG), Raquel P. Nakama² (PG), Leonardo B. Pereira² (PG), Lucas S. de Rossi² (PG), Ana Paula C. Cardoso² (GD), Priscila G. Camargo³ (PG), Mariana L. Silva³ (PG), Giovanna M. Benetti⁴ (PG), Marcelle L. F. Bispo³ (PQ), Karina K. Marques da C. Flaiban⁴ (PQ), Eliandro R. Tavares¹ (PQ), Phileno Pinge-Filho^{1,2} (PQ)*. pingefilho@uel.br.

1 - Departamento de Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

2 - Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

3 - Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

4 - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

Palavras-Chave: *Trypanosoma cruzi*, Alternativa terapêutica, Benzoiltiouréia 1p, Dose-resposta.

Introdução

A Doença de Chagas (DC) é causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*¹. Como estratégia terapêutica há disponibilidade de dois medicamentos no Brasil: Benznidazol e Nifurtimox. No entanto, ambos possuem efeitos adversos proeminentes e são pouco eficazes na fase crônica da doença, o que culmina em ampla desistência do tratamento pelos pacientes, resultando na progressão da doença^{2,3,4}. Portanto, há uma necessidade crítica de medicamentos novos, seguros e eficazes para o tratamento da DC⁵. Benzoiltiouréias (BTUs) são derivados de tiouréia que apresentaram respostas biológicas auspiciosas em testes *in vitro* com *T. cruzi*. Após docking molecular, estima-se que a BTU 1p interage com as enzimas cruzaina por ligações de hidrogênio ou se coordenam com o ferro do grupo heme da C14-alfaesteroidesmetilase (CYP51), através do oxigênio do grupamento carbonila. Como resultado da interação, pode-se haver inibição da replicação e/ou mortalidade do parasito⁶. Outrossim, há necessidade de testes *in vivo* para avaliar sua segurança em modelo animal.

Objetivos

A Doença de Chagas (DC) é causada pelo
· Caracterizar parâmetros bioquímicos (enzimas hepáticas e renais) e fisiológicos (massa corporal e dos órgãos; fígado e rins) em modelo murino após o tratamento com diferentes concentrações de benzoiltiouréias 1p.

Metodologia

Para o ensaio dose-resposta foram utilizados camundongos BALB/c machos com idade de 8 a 12 semanas (n=7). Protocolos aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UEL (CEUA 023.2022). Os camundongos foram tratados com concentrações de 12.5, 25 e 50 mg/kg/animal durante 30 dias via gavagem (100 µL/dia). Grupos de animais controles receberam água autoclavada em mesmo volume ou DMSO a 2% (veículo).

- Parâmetros bioquímicos

No dia 31º após o tratamento, foi realizada a coleta de sangue por punção cardíaca. Os níveis ALT, AST, GGT, FA e ureia foram quantificados a partir do soro utilizando-se os kits comerciais *Dimension RxL Max* (Siemens Munique, Alemanha) conforme protocolo do fabricante.

- Avaliação de massa corporal

Para avaliação da massa corporal, os animais dos diferentes grupos experimentais foram pesados nos dias 7, 15 e 30. No 31º os animais foram submetidos a eutanásia, sendo feita a coleta de rins e do fígado onde a massa foi mensurada.

- Análise estatística

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (SEM). A significância foi avaliada por ANOVA One-way ou Two-way seguido pelo teste de múltiplas comparações de Tukey. Foram consideradas diferenças significativas resultados com p ≥ 0,05. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, SanDiego, CA).

Resultados e discussão

A avaliação de enzimas hepáticas e renais são importantes para a segurança farmacológica. Dessa maneira, avaliamos alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama glutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e ureia (**Fig. 1A - E**). Nossos resultados demonstram que o tratamento com benzoiltiouréias 1p em diferentes concentrações não alteraram as enzimas ALT e AST (**Fig. 1A e 1B**) quando comparamos os animais tratados com os animais dos grupos controles ($p \geq 0,05$). Essas enzimas (ALT e AST) são importantes marcadores de extravasamento hepático sérico sendo medidas no sangue periférico. Esse extravasamento pode ser ocasionado por lesão hepatocelular ou alterações na permeabilidade da membrana de hepatócitos, que podem ser gerados pela intoxicação medicamentosa. Esse conjunto de medidas fornece de forma precisa a magnitude e extensão de possíveis lesões no fígado, além de apontar o desempenho adequado deste órgão⁷.

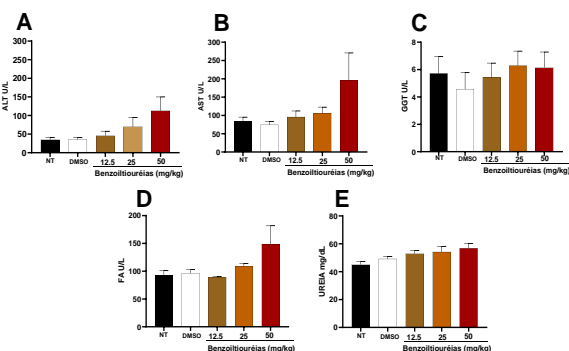


Figura 1. Níveis sorológicos de enzimas hepáticas e renais. O monitoramento dos níveis sorológicos de ALT (A) e AST (B) GGT (C), FA (D) e ureia (E) foram utilizados como indicativo de dano renal e hepático. Os resultados foram expressos com média \pm erro padrão (SEM). Os dados foram submetidos ao ANOVA One-way seguido pelo pós-teste de Tukey, com $p \geq 0,05$.

Nossos resultados demonstram que o tratamento com benzoiltiouréias em diferentes concentrações não alteraram as enzimas GGT e FA (**Fig. 1C e 1D**) quando comparamos os animais tratados com os animais dos grupos controle ($p \geq 0,05$). A dosagem de GGT e FA são fundamentais na análise hepática já que detecta a colestase hepática, que consiste na diminuição ou interrupção do fluxo biliar. Ureia é um metabólito produzido via ciclo da ornitina, através da amônia circulante. Baixos níveis indicam que a conversão de amônia em ureia

está deficiente, sinalizadora de deficiência hepática e renal. Em adição, mostramos que o tratamento com benzoiltiouréia 1p em diferentes concentrações não alteraram os níveis de ureia (**Fig. 1E**) quando comparamos os animais dos grupos controles ($p \geq 0,05$). De maneira satisfatória, nossos resultados asseguram que as doses testadas (12.5, 25 e 50 mg/Kg) não produzem dano tecidual ou celular hepático, bem como, não interferem no funcionamento renal. Visando compreender os efeitos fisiológicos do tratamento com BTU 1p, analisamos a massa corporal, a dos rins e do fígado. Nossos resultados demonstram que o tratamento com benzoiltiouréias em diferentes concentrações não alteraram a massa corporal ou dos órgãos (**Fig. 2A, 2B e 2C**) quando comparamos os animais tratados com os animais dos grupos controle ($p \geq 0,05$).

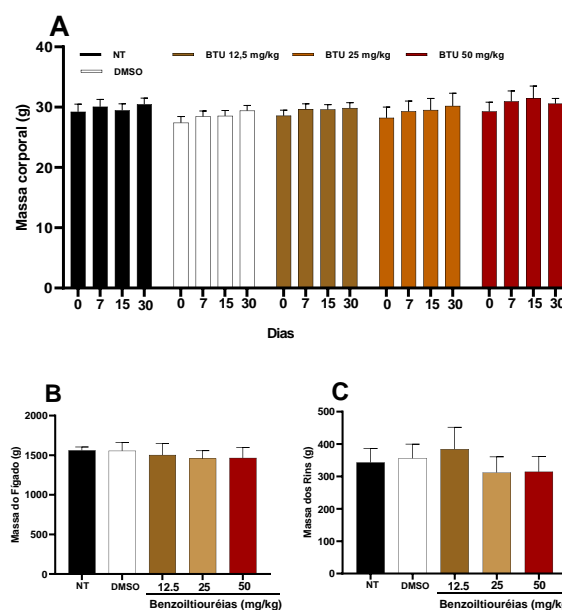


Figura 2. Massa corporal, do fígado e dos rins. A avaliação da massa corporal (A) do fígado (B) e dos rins (C) foi utilizada como parâmetro fisiológico para alterações metabólicas sistêmicas ou localizadas. Os resultados foram expressos com média \pm erro padrão (SEM). Os dados foram submetidos ao ANOVA One-way ou Two-way seguido pelo pós-teste de Tukey, com $p \geq 0.05$.

Dessa forma, demonstramos que as doses testadas de BTU 1p não foram capazes de induzir alterações metabólicas relacionadas à massa corporal ou dos órgãos avaliados. Em suma, os parâmetros fisiológicos indicam a manutenção da homeostase durante o período de exposição ao fármaco, caracterizada pela preservação renal, hepática e corporal dos animais.

Conclusões

A doença de Chagas carece de aperfeiçoamento quimioterápico como medida fundamental para evitar o abandono do tratamento pelos pacientes. Nossos resultados em modelo animal são pioneiros ao analisar a toxicidade de benzoiltiouréias em murinos. Com isso, demonstramos que a BTU 1p foi capaz de preservar o bom funcionamento hepático e renal em todas as concentrações testadas, para com relação aos grupos de controle. Ademais, nossos resultados fisiológicos ultimam que o composto não alterou o metabolismo energético dos murinos no período de tratamento. Considerando a intrínseca necessidade por novos medicamentos para a DC, este é um marco de grande relevância. Concluimos assim, que a BTU 1p, quanto sua toxicidade, é uma candidata à testes *in vivo* frente à DC, podendo ser alternativa ao tratamento em monoterapia ou em terapia combinada.

Agradecimentos

Agradecemos à equipe do Laboratório de Imunopatologia Experimental (LIE), à Universidade Estadual de Londrina (UEL), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação Araucária.

Referências e notas

- (1) Steverding D. Parasites & vectors. **2014**; 7:317.
- (2) Pérez-Molina JA, Crespillo-Andújar C, Bosch-Nicolau P, Molina I. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed). **2021**;39(9):458-70.
- (3) Apt W. Drug design, development, and therapy. **2010**; 4:243-53.
- (4) Rodrigues Coura J, de Castro SL. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. **2002**;97. 3-24.
- (5) Chatelain E, Konar N. Drug design, development, and therapy. **2015**; 9:4807-23.
- (6) Pereira PML, Camargo PG, Fernandes BT, Flores-Junior LAP, Dias LRS, Lima CHS, et al. Parasitology international. **2021**; 80:102225.
- (7) Ramaiah SK. Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. **2007**;45(9):1551-7.

Arilação Fotoquímica para a Síntese Regiosseletiva de 2-Aril-indóis

Gabriel V. de Lucena¹ (IC), Bruno M.S. Santos¹ (PG), Fernanda G. Finelli¹ (PQ)*. *finelli@ippn.ufrj.br*

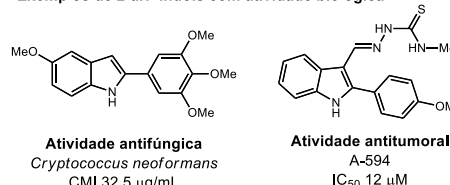
1- Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais Walter Mors, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Palavras-Chave: 2-Aril-indol, Complexo EDA, Fotoquímica.

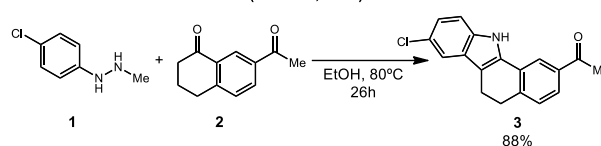
Introdução

Os heterociclos indólicos constituem uma classe de substâncias com uma ampla gama de atividades biológicas associadas, incluindo atividades antimicrobianas, anticâncer, anti-hipertensiva e anti-inflamatória. Sua estrutura é capaz de se ligar a diferentes tipos de receptores, com alta afinidade, tornando-os ótimos candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos.¹ A estrutura indólica pode ser encontrada em alcaloides, aminoácidos, hormônios, medicamentos comercializados, fármacos em testes clínicos, dentre outros, possuindo mais de trinta tipos de atividades biológicas descritas. Os 2-aryl-indóis, em particular, possuem diversas atividades biológicas descritas, tais como agentes antifúngicos, bactericidas, moduladores de receptores biológicos como os de estrogênio e GABA.^{2a,b} (Figura 1) Recentemente, eles vêm sendo investigados por suas atividades promissoras contra algumas linhagens de células cancerígenas, atuando como substância antimitótica e tendo como alvos biológicos a tubulina e topoisomerase.^{2c} (Figura 1) Os 2-aryl-indóis podem ser preparados através da síntese clássica de Fischer a partir de *N*-arilhidrozonas enolizáveis. Ao longo dos anos, diversas modificações deste protocolo foram propostas. Em 2022, Schmidt reportou que o uso de hidrazinas alquiladas na posição terminal acelerou a reação e levou a rendimentos superiores aos análogos não-alkilados.³ Dentre os exemplos presentes no escopo do trabalho, o aril-indol **3** pôde ser sintetizado com 88% de rendimento. (Figura 1) Uma outra estratégia que vem ganhando o interesse da comunidade sintética é a de funcionalização de estruturas indólicas a partir da arilação, o que permite a modificação de substâncias que já possuam o núcleo indólico. Dessa forma, abre-se caminho para modificação de produtos naturais e biomoléculas, bem como o uso dessas estratégias em modificações tardias em sínteses totais de produtos complexos.

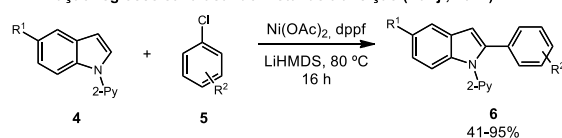
Exemplos de 2-aryl-indóis com atividade biológica



Síntese de Indol de Fischer (Schmidt, 2022)



Arilação regiosseletiva usando metal de transição (Punji, 2022)



Arilação fotocatalisada (Wang, 2022)

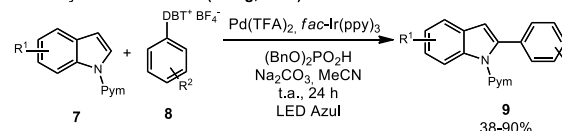


Figura 1. Exemplos de 2-aryl-indóis com atividade biológica e de sínteses selecionadas.

Embora em menor número, algumas metodologias, sobretudo envolvendo catálise metálica, foram propostas para alcançar a arilação regiosseletiva de indóis na posição C(2).^{4a-c} Recentemente, o grupo de Punji reportou a arilação de indóis catalisada por níquel, utilizando cloretos de arila como agentes arilantes.^{4d} A regiosseletividade foi alcançada graças ao substituinte 2-piridinila presente no nitrogênio, de forma que os 2-aryl-indóis foram alcançados com rendimentos de bons a excelentes. (Figura 1) Com o crescimento recente da fotocatalise, protocolos de arilação foram desenvolvidos, utilizando principalmente haletos de arila, sais de diazônio e cloretos de sulfonila como agentes arilantes.^{5a} Entretanto, poucos trabalhos voltaram a atenção para a arilação de estruturas indólicas em específico. Um trabalho recente publicado pelo grupo de Wang propõe a arilação fotocatalisada de

indóis *N*-pirimidínicos utilizando sais de sulfônio como agentes arilantes, fotocatalisador de irídio e um catalisador de paládio para promover a ativação da ligação C-H, obtendo diversos 2-aril-indóis com rendimentos de bons a excelentes.^{5b} (Figura 1) Contudo, o sistema proposto mostra-se bastante complexo, exigindo o uso de diversos reagentes incluindo dois metais de transição, em cargas catalíticas altas (20 mol% de Pd) e com uso de grupo diretor no nitrogênio.

Dessa forma, metodologias fotocatalíticas mais simples, que promovam a arilação de indóis de forma regioseletiva são altamente desejáveis.

Objetivos

Este trabalho tem como objetivo desenvolver uma metodologia fotoquímica para arilação regioseletiva de indóis, sem uso de grupos diretores, utilizando sais de diazônio como agentes arilantes.

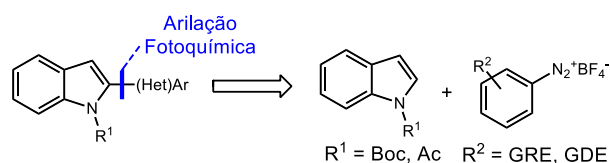


Figura 2. Arilação fotoquímica de indóis

Metodologia

Inicialmente, foi realizada a otimização das condições reacionais, a partir de uma reação modelo entre *N*-Boc-indol (**10**) e o sal de 4-fluorobenzenodiazônio (**11**). (Figura 3)

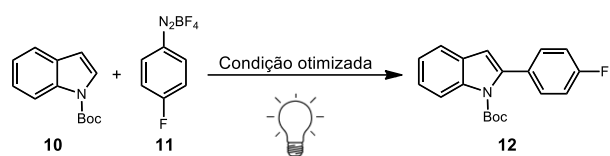


Figura 3. Reação modelo para estudos de otimização.

Os impactos de solvente, bases e diferentes configurações de irradiação de LED foram avaliados com base no rendimento da reação, determinado por RMN com 1,3-benzodioxola como padrão interno. Com as condições otimizadas, a generalidade da reação foi testada, avaliando um escopo de sais de diazônio e indóis como substratos. Os rendimentos reportados referem-se aos rendimentos isolados após completa purificação por cromatografia em coluna.

Resultados e discussão

Após meticulosa avaliação de diversos parâmetros reacionais, as melhores condições forneceram o produto arilado **12** com 61% de rendimento, determinado por RMN. Dentre os parâmetros avaliados, destacou-se a importância do uso de excesso de *N*-Boc-Indol para o sucesso da reação, uma vez que quantidades menores levaram a quedas drásticas no rendimento. Estudos mecanísticos conduzidos por nosso grupo apontam para a formação de um complexo doador-aceptor de elétrons (EDA) foto-excitável entre o indol e o sal de diazônio, sendo este o responsável pela formação dos radicais arila nas condições reacionais. Estes radicais, por sua vez, adicionam-se de forma seletiva ao indol na posição C(2). Com as condições otimizadas em mãos, foi realizada uma investigação de escopo, tendo sido avaliados diversos sais de diazônio e derivados de indol. Os resultados podem ser vistos na Figura 4, abaixo.

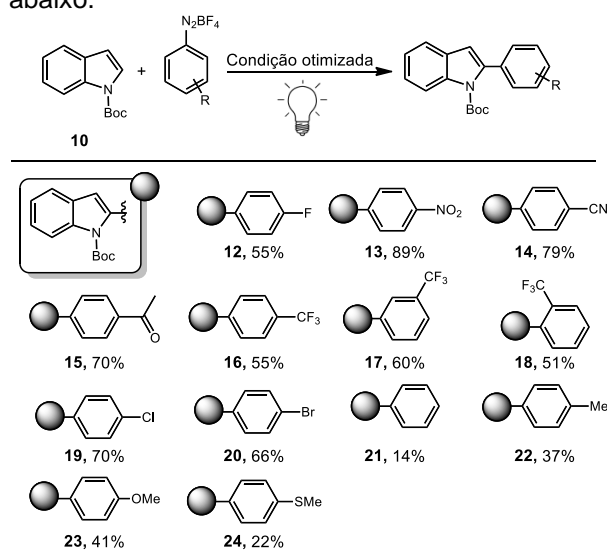


Figura 4. Escopo de sais de diazônio. Rendimentos isolados.

Os resultados obtidos mostram uma tendência clara em relação ao efeito da eletrônica no rendimento. Sais de diazônio eletro-deficientes (13-18) apresentaram desempenho de bom a excelente com rendimentos variando entre 51-89%, enquanto sais ricos em elétrons (21-24) apresentaram desempenhos bem mais modestos, variando de 14-41%. Nossa hipótese é de que os sais ricos em elétrons tenham maior dificuldade em gerar os radicais arila por apresentarem maior potencial de redução que os sais eletro-deficientes. Sais de diazônio halogenados (12, 19-20) são bem

tolerados, levando a produtos com rendimentos de 55-70%. A análise dos resultados obtidos com os regioisômeros **16-18** mostra que o aumento do impedimento estérico no carbono reativo do sal de diazônio não causa impactos significativos no rendimento da reação. Isso nos indica que a etapa de adição do radical arila ao Indol não deve ser uma etapa determinante para a velocidade desta reação.

Em seguida, voltamos nossa atenção para o escopo de Indóis, cujos resultados podem ser vistos na figura 5, abaixo.

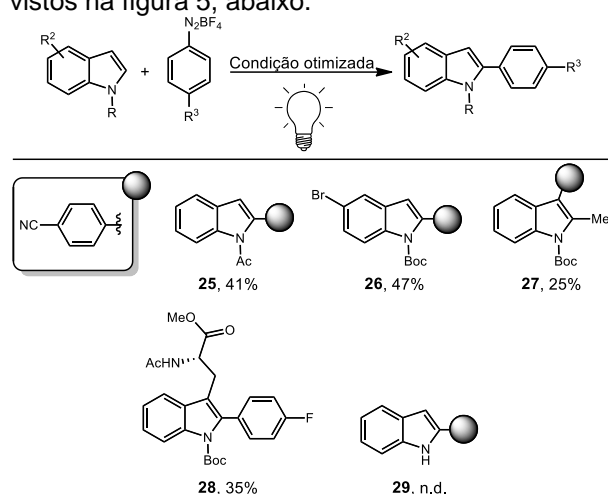


Figura 5. Escopo de sais de Indóis. Rendimentos isolados.

Pudemos observar que outros grupos de proteção como acetil podem ser utilizados com sucesso na reação (25), assim como a presença de halogênios é tolerada também na estrutura indólica (26), visto que em ambos os casos rendimentos medianos foram obtidos. Uso de indol substituído na posição 2 (27) resultou em uma diminuição significativa no rendimento. Além disso, foi observada uma redução significativa na regioseletividade da reação. Contudo, os demais isômeros não puderam ser facilmente isolados para caracterização, e este processo segue em andamento no laboratório. O aminoácido L-triptofano totalmente protegido (28) também pôde ser arilado com sucesso usando nosso protocolo e a análise do produto por HPLC quiral indica que não houve racemização durante o curso da reação. Este resultado é bastante promissor e indica que este protocolo pode ser utilizado para funcionalização de moléculas mais complexas como peptídeos. A adaptação deste protocolo para uso nesses substratos biológicos já está em andamento em nosso grupo de pesquisa. Ao utilizar o indol desprotegido (29), observamos uma reação bastante vigorosa de decomposição

dos materiais de partida, não sendo possível detectar nenhum sinal do produto de interesse ao final da reação. Estudos preliminares nos indicam que o uso de indóis ricos em elétrons levam à formação de produtos diazo através de um mecanismo de substituição eletrofílica aromática.

Conclusões

Portanto, o presente trabalho propõe uma metodologia direta, robusta e de fácil execução para a arilação de heterociclos indólicos, em condições fotoquímicas. A metodologia utiliza-se de uma ampla gama de sais de diazônio como agentes arilantes, levando à síntese regioseletiva de 2-aryl-indóis com bons rendimentos e com boa tolerância de substituintes no sal de diazônio. Além disso, a funcionalização do triptofano de forma satisfatória indica que esta é uma metodologia promissora para a funcionalização de peptídeos e moléculas mais complexas. Dessa forma, como perspectiva, os produtos sintetizados serão enviados para a avaliação da atividade biológica e a metodologia será testada para a arilação de peptídeos e outras biomoléculas de maior complexidade.

Agradecimentos



Referências e notas

- (1) Dorababu, A. *RSC Med. Chem.*, **2020**, 11, 1335.
- (2) (a) Lal, S.; Snape, T.J. *Curr. Med. Chem.* **2012**, 19, 4828. (b) Huo, J. *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, **2022**, 70, 6982. (c) Bakherad, Z. *et al. Research on Chemical Intermediates*, **2019**, 45, 2827
- (3) Schmidt, M. A. *J. Org. Chem.* **2022**, 87, 1941.
- (4) (a) Urbina, K., *et al. Adv. Synth. Catal.* **2021**, 363, 2723. (b) Biajoli, A.F.P.; Penha, E.T.; Correia, C.R.D; *RSC Advances* **2012**, 2, 11930. (c) Gemoets, H.P.L *et al. Chem. Sci.* **2017**, 8, 1046 (d) Pandey *et al. J. Org. Chem.* **2019**, 84, 12800.
- (5) (a) Ghosh, I. *et al. Acc. Chem. Res.* **2016**, 49, 1566. (b) Wang, X. *et al. Org. Lett.* **2022**, 24, 4580.

Categoria: Trabalho Completo (C-G-7)

Avaliação *in silico* de possíveis inibidores da quinase CK1 para o combate à *Candida auris*

Luiz H. S. Martins¹ (IC), Miguel L. da Silva² (IC), Jéssica M. Pereira³ (IC), Mariana Luiza Silva⁴ (PG), Marcelle L. F. Bispo^{4*} (PQ).

¹Graduando em Biotecnologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, Brasil.

²Graduando em Química Licenciatura, Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Arapiraca - AL, Brasil.

³Graduanda em Farmácia, Universidade Federal de Alagoas, Campus A.C. Simões, Maceió - AL, Brasil.

⁴Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina - PR, Brasil; mlfbispo@uel.br.

Palavras Chave: antifúngicos, resistência microbiana, cepas multirresistentes, docking molecular, ADMET.

Introdução

Candida auris é uma levedura de brotamento ovóide e alongada que forma pseudo-hifas rudimentares, pertence à família *Saccharomycetaceae*. Este microrganismo possui alta resistência a salinidade e calor, podendo crescer em temperaturas de até 42°C. Além disso, este fungo possui capacidade de formação de biofilmes que são capazes de conferir aderência a superfícies.^{1, 2, 3}

C. auris atua no corpo humano em condições de imunidade baixa ou condições especiais, como em pessoas com câncer, imunossuprimidas, com doenças autoimunes ou em uso prolongado de antibióticos. A infecção pode desencadear a candidíase sistêmica (candidemia), na qual o fungo atinge para órgãos internos como fígado, cérebro, pulmões, ossos e rins. O fungo pode estabelecer colônias nos tecidos com maior quantidade de nutrientes, estabelecendo tigmotropismo, ou seja, o fungo cresce ao redor do órgão.^{2, 3, 4}

C. auris é considerado um patógeno emergente devido ao crescente número de infecções em mais de 35 países, com mais de 1000 casos clínicos relatados apenas nos Estados Unidos em 2020. No Brasil, o primeiro caso de *C. auris* foi identificado em novembro de 2020 em Salvador, na Bahia. Mais recentemente o Brasil passou por seu pior surto, 48 casos confirmados foram registrados em um hospital de Recife, em Pernambuco, entre novembro de 2021 e fevereiro de 2022, segundo a Secretaria de Saúde do Estado.^{5, 6}

Ademais, a grande problemática associada à infecção por *C. auris* reside no fato dessa espécie apresentar multirresistência a diversas classes de antifúngicos, como os azólicos, os poliênicos e equinocandinas.^{7, 8, 9} Sendo assim, o seu tratamento

é extremamente complexo, pois existem poucas opções terapêuticas disponíveis. Portanto, faz-se necessária a busca de novos antifúngicos capazes de combater essa ameaça à saúde pública global.

Alinhado à necessidade em inibir a proliferação da *C. auris*, uma enzima pertencente à família da caseína quinase 1 (CK1) têm destacado como possível alvo terapêutico.¹⁰ A CK1 é uma classe de proteína acidotrópica que está amplamente distribuída entre os tipos de células eucarióticas, desempenhando funções essenciais para o crescimento e a divisão, como morfogênese do broto, controle da polaridade do crescimento celular e na citocinese.¹ Logo, a ausência de atividade dessa enzima resulta em células com defeitos na divisão celular, com múltiplos brotos alongados contendo múltiplos núcleos.⁴

Tendo em vista a importância dessa enzima para a patogênese fúngica.¹⁰ Realizaram uma série de estudos envolvendo inibidores de um membro da família das CK1, a Yck2, e identificaram derivados de 2,3-aryl-pirazolopiridinas capazes de inibir sua atividade,¹⁰ indicando o potencial dessa classe de compostos como potenciais antifúngicos.

Objetivos

Visando identificar substâncias com potencial atividade frente a *C. auris*, planejou-se análogos estruturais do inibidor de Yck2, denominado **GW461484A (GW)**, que foram avaliados quanto às suas propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas por meio de *docking* molecular e da predição *in silico* de suas propriedades físico-químicas.

Metodologia

A proteína utilizada foi obtida pelo PDB (*Protein Data Bank*), sob o código 6U6A (resolução: 2,45 Å)⁴. A proteína foi preparada com a remoção das moléculas de água e dos artefatos de cristalização no software Discovery Studio 2021. Na sequência, o software GOLD (v. 2022.3.0) foi utilizado para os devidos cálculos em suas quatro funções de pontuação – ChemPLP, GOLDScore, ASP e ChemScore. O centro do sítio de ligação foi definido pelas coordenadas do ligante co-cristalizado **GW461484A** (X= 23,184708, Y= -49,722958, Z= -22,819625), com 15 Å de raio e com 10 corridas para cada ligante analisado.

Os análogos propostos foram desenhados em 2D no MarvinSketch (versão v.23.10) e energeticamente otimizados usando o Avogadro (v.1.1.1). Além disso, utilizando o MarvinSketch (versão 23.9), foram pesquisados os tautômeros e micro espécies dominantes em pH 7,4. Em seguida, foi realizado o *docking* para as substâncias, conforme o protocolo validado por *redocking*, e a análise das interações e figuras foram geradas com o software Discovery Studio (v.2021). Ademais, os novos análogos tiveram suas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas calculadas pelas plataformas SwissADME e ADMETlab 2.0 (substrato de CYP)..

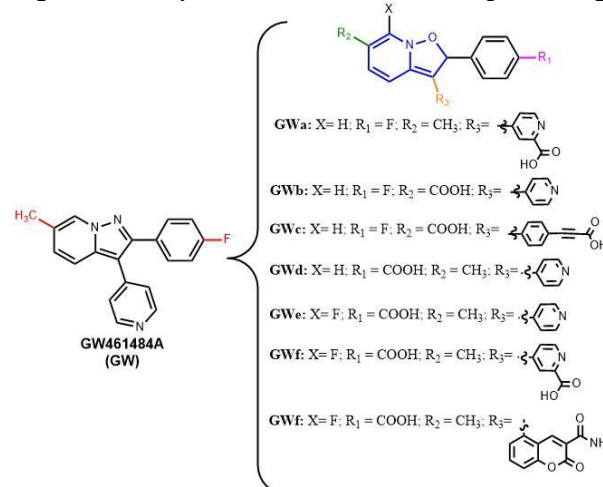
Resultados e discussão

O inibidor mais potente da série de 2,3-aril-pirazolopiridinas relatada **GW461484A** (**GW**, Figura 1), foi originalmente preparado como um inibidor da p38a humana (IC₅₀ 150 nM), mas uma caracterização subsequente constatou que ele inibe um espectro muito restrito de quinases humanas.⁷ Isso permitiu a investigação do **GW** como potencial inibidor da Yck2 de *C. auris*. Entretanto, o ligante **GW** apresenta baixa estabilidade metabólica, principalmente devido a oxidações promovidas por CYPs na metila presente em C6 do anel pirazolopiridina e na posição *para* da porção 2-fenila (em vermelho, Figura 1). Por essa razão, foi introduzido um átomo de flúor nessa posição.⁸ Outro problema relacionado a farmacocinética é a sua capacidade em permear a barreira hematoencefálica (BHE), devido a sua alta lipossolubilidade (logP_{consenso} SwissADME = 3,96), o que pode acarretar em efeitos adversos no sistema nervoso central. Ademais, a alta lipossolubilidade também pode impactar em problemas de absorção por via oral. Tendo em vista tais limitações do **GW**, propôs-se alguns análogos estruturais visando

melhorar a estabilidade metabólica e reduzir a lipossolubilidade. Para isso, realizou-se uma substituição bioisostérica de anel, trocando-se o núcleo pirazolopiridina por isoxazolpiridina (em azul, Figura 1) e trocou-se o átomo de flúor por uma carboxila na posição R₁ (em rosa, Figura 1) para melhorar a solubilidade em água e manter a posição protegida da ação das CYPs.

Outra questão importante a ser avaliada é a seletividade de inibição entre a CK1 humana e a Yck2 fúngica. Nesse sentido, Caplan et al.⁸ identificaram que a extremidade C-terminal do domínio quinase de Yck2 aproximou-se do sítio de ligação do ATP, com Lys342 e Try336 localizados a 10 Å de **GW**. Esta extremidade C-terminal varia em sequência entre as enzimas Yck2 e CK1 humana e é desordenada ou não está presente nas estruturas cristalinas das enzimas CK1. Assim, a divergência de sequência na extremidade C-terminal do domínio Yck2 quinase próximo ao local de ligação do ATP parece fornecer um caminho para alcançar a especificidade para *Candida* spp. por meio de modificações na estrutura de **GW** para permitir interações com Lys342 e Try336 presentes neste sítio. Com objetivo de alcançar tal região e interagir com esses resíduos, planejou-se análogos com extensão de cadeia em R₃ (em laranja, Figura 1), introduzindo-se uma carboxila diretamente na posição 2 do anel piridínico, ou acrescentando espaçadores feniletinil-carboxila ou 3-cumarinacarboxamida (Figura 1).

Figura 1. Planejamento estrutural dos análogos **GWa-g**.



Legenda: Estrutura do inibidor **GW** com destaque em vermelho para os substitutos relacionados ao metabolismo por CYPs. Estrutura geral dos análogos com destaque em azul para troca bioisostérica de anel e em rosa, verde e laranja estão os diferentes substitutivos propostos.

Para avaliação do potencial de inibição dos análogos propostos, foram realizadas simulações de *docking* molecular. O protocolo utilizado foi devidamente validado por *redocking*, que indicou que a função ChemScore foi a mais adequada, pois apresentou a pose com o menor valor de raiz do desvio quadrado médio ("*Root-Mean-Square Deviation*", RMSD), que foi igual a 0,33 Å, além de ter apresentado o maior valor de *fitness score* (FS = 40,41).

Depois de validado, tal protocolo foi aplicado para a realização do *docking* molecular com os análogos propostos (**GWa-g**). Os valores de FS dos três melhores análogos estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1, Valores de *fitness score* (FS, ChemScore) obtidos para os análogos propostos após o *docking* molecular.

Análogos	FS (ChemScore)
(S)-Gwc	35.07
(S)-GWg	34.18
(R)-Gwc	32.25

Analisando os resultados de interação desses três análogos é possível notar que dois deles são enantiômeros de **Gwc**, mas que interagem de forma distinta com o alvo, sendo que o isômero (S) apresenta mais interações com o alvo, o que explica o seu maior valor de FS (Figura 2).

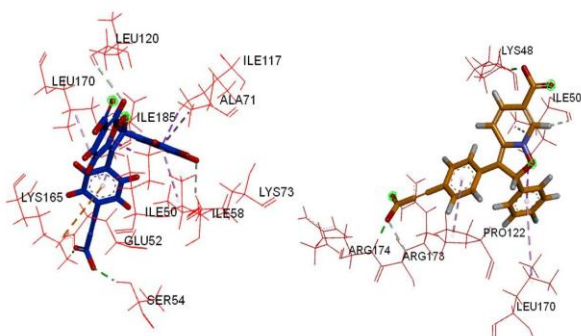


Figura 4: Análogos **GWc** em suas formas (R) (laranja) e (S) (azul).

Além disso, pode-se observar que as mudanças estruturais com extensão de cadeia em R₃ (**GWc** e **GWg**) foram capazes de promover os melhores resultados em termos de FS e de interações. Inclusive, o análogo (S)-**GWg** foi capaz de interagir com Lys342 por interação pi-álquila, o que pode propiciar uma maior especificidade para Yck2.

Com relação às propriedades ADMET, o análogo **GWc** apresentou redução no valor de logP_{consenso} (3,2), aumento da área de superfície topológica (TPSA = 88.76 Å²) e, conseqüentemente, tem baixa probabilidade de ultrapassar a BHE. O mesmo ocorreu para **GWg**, que apresentou logP_{consenso} = 3,11, TPSA = 124.76 Å² e não ultrapassa a BHE. Com relação à ação das CYPs, **GW** apresentava-se com probabilidades moderadas (50-70%) de ser substrato de CYP2D6 e 3A4 e probabilidades elevadas (70-90%) de ser substrato de CYP2C9. Enquanto os análogos **GWc** e **GWg** apresentam probabilidades baixas (10 a 30%) ou baixíssimas (0 a 10%) de atuarem como substrato de quaisquer CYPs investigadas (1A2, 2C19, 2C9, 2D6 e 3A4).

Conclusões

Os resultados deste estudo demonstram que os análogos estruturais de **GW** foram bem-sucedidos em alcançar os objetivos propostos. As modificações estruturais planejadas permitiram otimizar a interação entre os análogos e o sítio ativo da enzima Yck2, o que pode resultar em um aumento significativo da atividade inibitória e seletividade contra a espécie *C. auris*. Além disso, a estrutura dos novos análogos foi projetada para minimizar potenciais interações com outras proteínas e enzimas humanas, reduzindo assim a probabilidade de efeitos adversos e toxicidade associados.

Agradecimentos

À Liga Acadêmica de Química Farmacêutica e Medicinal (LAQFAM) pelo aprendizado e pela oportunidade.

Referências e notas

- (1) Robinson L. et al. *Rev. Molecular and Cellular Biology*. **1993**, 881, 13.5.
- (2) Forsberg. et al. *Rev. Med. Mycology*. **2019**, 1, 5.
- (3) Kramer. et al. *Jour. Health*. **2022**, 1, 4.
- (4) Robinson LC. et al. *Rev. Molecular Biology of the Cell*. 1999, 1077, 10.4.
- (5) CDC. *Increasing Threat of Spread of Antimicrobial-resistant Fungus in Healthcare Facilities*. **2023**, <https://www.cdc.gov/media/releases/2023/p0320-candida.html>.
- (6) BVSMS. Identificação de caso de *Candida auris* no Brasil | Biblioteca Virtual em Saúde MS, **2023**, <https://bvsmms.saude.gov.br/identificacao-de-caso-de-candida-auris-no-brasil/>.
- (7) CDC. *Information about Candida auris*. **2019**, <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/candida-auris-qanda.html>.
- (8) CDC. Antifungal Susceptibility Testing and Interpretation **2019**.
- (9) Mori. et al. *BBC News*. **2019**.
- (10) Caplan. et al. *Rev cell Chemical Biology*. **2020**, 269, 27.3.

Categoria: Trabalho Completo (C-G-8)

Avaliação *in silico* de possíveis inibidores do capsídeo viral de HIV-1

Geórgia H. Araújo¹ (IC); Luiz Henrique S. Martins¹ (IC); Elton Roger da S. Ostetti¹ (IC); Mariana L. Silva² (PG); Marcelle L. F. Bispo^{2*} (PQ). mlfbispo@uel.br

1- Departamento de Bioquímica e Biotecnologia - Universidade Estadual de Londrina, PR-Brasil

2- Departamento de Química - Universidade Estadual de Londrina, PR-Brasil.

Palavras-chave: AIDS, proteína capsidial, CA, docking molecular, ADMET.

Introdução

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um retrovírus que afeta majoritariamente as células de defesa do organismo, como os linfócitos T CD4+, onde se multiplica, causando o enfraquecimento do sistema imunológico, podendo levar ao desenvolvimento de infecções oportunistas, como hepatites virais, tuberculose, pneumonia, toxoplasmose, ou até alcançar o estágio mais avançado, conhecido como síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Existem duas formas do vírus, o HIV-1 e o HIV-2, que apresentam semelhanças quanto ao arranjo genético, modo de transmissão e vias de replicação, porém o HIV-1 apresenta maior probabilidade de progressão para a AIDS e, além disso, afeta muito mais pessoas, pois é distribuído em todo o mundo, enquanto o HIV-2 é encontrado principalmente na África Ocidental.¹

O genoma do HIV-1 está encapsulado em um núcleo viral com uma estrutura de capsídeo. O capsídeo é composto por monômeros de proteína capsidial (CA) organizados em uma rede hexamérica, com 12 pentâmeros localizados nas extremidades, onde a curvatura da superfície é maior.^{2,3} O material genético do HIV-1 penetra na célula e sofre uma desmontagem controlada no citoplasma, processo conhecido como desenvolvimento.⁴ Estudos demonstraram que este desenvolvimento está relacionado à estabilidade do capsídeo, a qual afeta a transcrição reversa e a infectividade viral.^{5,6} Essas características tornam o capsídeo do HIV-1 um alvo atrativo para o desenvolvimento de fármacos antivirais, explorando inibidores que se ligam a ele.⁷

Além disso, o HIV-1 é altamente sensível a mutações no CA, o que explica sua alta conservação sequencial em relação a outras

proteínas do HIV-1.⁸ Por esses motivos, espera-se que a resistência do HIV a medicamentos que visam o CA requererá mutações que comprometam a aptidão do vírus, resultando assim em uma alta barreira à resistência e excelente durabilidade terapêutica.⁹

Na busca por novos fármacos que tenham como alvo o CA, há diversas estratégias que podem ajudar na redução de tempo e no custo deste processo. Dentre elas, destaca-se o *docking molecular*, uma ferramenta *in silico* capaz de auxiliar na identificação de novos compostos de interesse terapêutico, prevendo interações ligante-alvo em nível molecular.¹⁰

Objetivos

O presente estudo tem como identificar novas moléculas capazes de atuar como inibidores do CA. Assim, foram planejados novos análogos a partir do inibidor PF-3450074 (PF74), visando otimizar suas propriedades farmacocinéticas e dinâmicas. Para avaliação dos análogos foram utilizadas metodologias *in silico* como o *docking molecular* e a predição dos parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade).

Metodologia

A proteína utilizada foi obtida pelo *Protein Data Bank* (PDB), sob o código 4XFZ (resolução: 2,70 Å). A proteína foi preparada com a remoção dos artefatos de cristalização no *software* Discovery Studio 2021. Na sequência, o programa GOLD (v. 2022.3.0) foi utilizado para os devidos cálculos em suas quatro funções de pontuação ChemPLP, GOLDScore, ASP e ChemScore. O centro do sítio de ligação foi definido pelas coordenadas do ligante co-cristalizado PF-3450074 (PF74) (X= -

10,035500 Y= -28,463000 Z= 0,443776), com 15 Å de raio e com 10 corridas para cada ligante analisado. Em seguida, foi realizada a validação do protocolo por *redocking*, sendo escolhida a função de pontuação que apresentou o menor valor de raiz do desvio quadrado médio (*Root-Mean-Square Deviation*, RMSD), sendo este menor do que 2,0 Å.

Os análogos propostos foram desenhados em 3D e energeticamente otimizados usando o Avogadro (v.1.1.1) Além disso, no programa MarvinSketch (versão 23.9), previu-se o estado de protonação e o tautômero dominante em pH = 7,4. O *docking* dos novos análogos foi realizado no protocolo validado anteriormente. E então, a análise das interações ligante-alvo molecular foram geradas com o software Discovery Studio (v.2021). Ademais, os novos análogos tiveram suas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas calculadas pelas plataformas online: SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), ADMETlab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/>) e SOMP (<https://www.way2drug.com/SOMP/>).

Resultados e discussão

O inibidor de CA denominado PF-3450074 (PF74, Figura 1), que está co-cristalizado no complexo escolhido (PDB ID: 4XFZ), possui um mecanismo de ação bimodal, dependente de sua concentração. Em concentrações mais baixas (nanomolar a ~2 mM), ele compete com a ligação de fatores do hospedeiro, como o fator de especificidade de clivagem e poliadenilação 6 (CPSF6) ou afeta entrada nuclear por interagir com a nucleoporina 153 (NUP153). Em concentrações mais altas, o PF74 bloqueia o desenvolvimento e a transcrição reversa.⁹ CPSF6 interage com CA do HIV-1 e tem sido implicada na entrada no núcleo e no direcionamento da integração. A preservação da ligação CPSF6-CA em várias cepas do HIV-1 sugere que a interação ótima entre CA e CPSF6 é crucial durante a replicação do HIV-1 *in vivo*. Além disso, Nup153 é essencial para a importação nuclear do HIV-1 em células não divididas.^{10,11}

Apesar de seu interessante mecanismo de ação, o PF74 tem uma meia-vida muito curta, o que está relacionado a um metabolismo hepático excessivo de primeira passagem e baixa biodisponibilidade oral.¹² Portanto, na tentativa de melhorar esses parâmetros, previu-se *in silico* a capacidade do PF74 em atuar como inibidor e substrato de isoformas de enzimas do citocromo P450 (CYP),

assim como seus principais sítios passíveis de serem metabolizados, usando as plataformas preditoras ADMETlab 2.0 e *Site of Metabolism Prediction* (SOMP). Então, verificou-se que PF74 atua possivelmente como inibidor e substrato de CYP3A4 e CYP2D6, e que o carbono 1 (C1) é o sítio mais lábil metabolicamente frente a essas isoformas, exibindo probabilidades aproximadas de 72% de sofrer oxidação por essas CYPs (Tabela 1).

Tabela 1. Isoformas de CYP possivelmente envolvidas no metabolismo da PF74, os respectivos SOMP e suas probabilidades (DeltaP).

CYP	SOMP	Delta P
3A4	C1	0.716
2D6	C1	0.716

Portanto, o presente trabalho centrou-se primeiro em aprimorar essas propriedades, além disso, buscou-se melhores interações com seu alvo. Levando em consideração os problemas encontrados em relação ao metabolismo, um novo análogo (PF-A1.S) foi planejado na tentativa de aumentar a estabilidade metabólica, realizando para isso a substituição da metila (C1, em vermelho, Figura 1), indicado como possível SOMP das CYPs, por um grupamento -N=CH₂ (em verde, Figura 1).

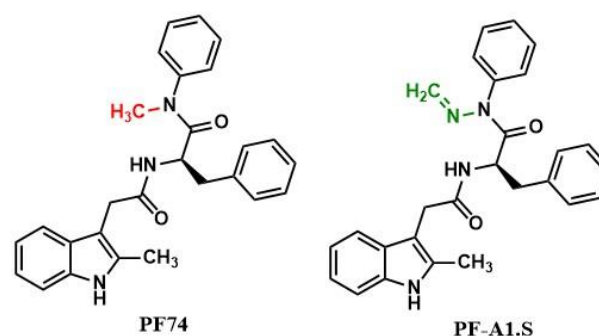


Figura 1. Estrutura PF74 e do análogo PF-A1.S. Legenda: em vermelho - C1, carbono que apresenta alta probabilidade de ser oxidado pelas CYP3A4 e 2D6; em verde: alteração proposta.

Além disso, visando aprimorar as interações com o alvo, foram planejados os análogos PF-C3.S e PF-D4.S com intuito de alcançar resíduos de aminoácidos básicos presentes no sítio de ligação (Figura 2).

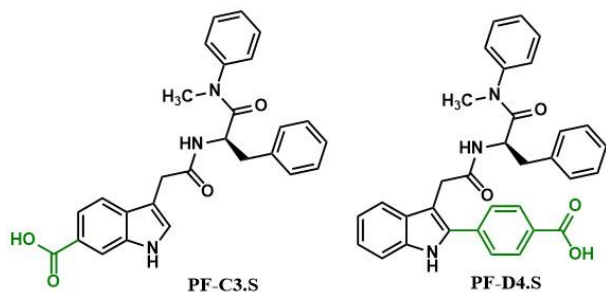


Figura 2. Análogos propostos **PF-D4.S** e **PF-C3.S** para aprimoramento das interações com o alvo. Legenda: em verde - alterações propostas.

Após a realização do *redocking*, a função ChemScore foi escolhida para o docking dos novos análogos, pois apresentou o menor valor de RMSD (0,61) e um bom valor de *Fitness Score* (FS = 30,15). Assim, os análogos foram submetidos as simulações de *docking* molecular nesse mesmo protocolo, obtendo-se os resultados dispostos na Tabela 2.

Tabela 2. *Fitness Scores* dos análogos propostos.

Análogos	FS (ChemScore)
PF-A1.S	30,21
PF-C3.S	28,68
PF-D4.S	28,65

Após os cálculos de *docking*, foi possível observar que o melhor análogo proposto foi o **PF-A1.S**, pois apresentou um valor de FS muito similar ao do **PF74**. Ademais o modo de interação foi semelhante, havendo a manutenção das ligações de hidrogênio com Gln 63, Lys 70 e Asn 57 (Figura 3).

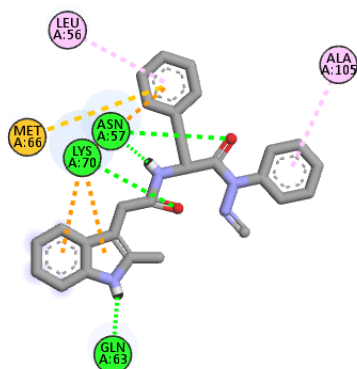


Figura 3. Diagrama de interação do análogo **PF-A1.S** e 4XFZ.

Ademais, o análogo **PF-A1.S** que apresentou o melhor padrão de interações, também foi planejado com intuito de evitar a metabolização pelas CYPs no C1. Nesse sentido, uma nova avaliação das propriedades físico-químicas e farmacocinéticas do análogo **PF-A1.S**, calculadas pelas plataformas online supracitadas, mostrou que o mesmo deixou de ser substrato da isoforma de CYP2D6. Entretanto se manteve como substrato da isoforma 3A4, mas com um delta P de 29% apenas para o C33.

Conclusões

Em conclusão, este trabalho demonstrou avanços no desenvolvimento de novos análogos do **PF74**, abordando preocupações relacionadas ao seu metabolismo e buscando aprimorar as interações com o alvo molecular. Esses achados podem abrir caminho para o desenvolvimento de terapias mais eficazes no combate ao HIV-1 e potencialmente outras doenças virais. No entanto, é importante ressaltar que esses novos análogos precisarão ser submetidos a estudos adicionais para avaliar sua segurança e eficácia antes de se tornarem opções viáveis de tratamento.

Agradecimentos

À Liga Acadêmica de Química Farmacêutica e Medicinal (LAQFAM) pelo aprendizado e pela oportunidade.

Referências e notas

- (1) Nyamweya, S. et al. *Rev. Med. Virol.* **2013**, 23, 221.
- (2) Ganser, BK. et al. *Science.* **1999**, 80, 283
- (3) Zhao, GP. et al. *Nature.* **2013**, 643, 497.
- (4) Lelek M. et al. *PhasUSA.* **2012**, 8564, 109.
- (5) Matreyek KA. et al. *Rev. PLoSpathog.* **2013**, 9, 10.
- (6) Ambrose Z. et al. *Rev. Virology.* **2014**, 371, 454.
- (7) Forshey BM. et al. *Rev. Med Virol.* **2002**, 5667, 76.
- (8) Rankovic. et al. *Jour. Virology.* **2018**, 20, 92
- (9) Rihn SJ. et al. *Rev. PLoSpathog.* **2013**, 9, 6.
- (10) Buffone. et al. *Jour. Virology.* **2018**, 19, 92.
- (11) Saito A. et al. *Jour. Virology.* **2016**, 15, 90.
- (12) Wang L. et al. *Rev. Acta Pharm.* **2021**, 11, 810.

Categoria: Trabalho Completo (C-G-9)

Planejamento de análogos do fármaco ibuprofeno e análise *in silico* de suas propriedades

Adryan E. de Santana¹ (GD), Daniel G. de Lima¹ (GD), Marcelle L. F. Bispo^{2*} (PQ).

1- Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

2- Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras-chave: *ciclooxigenases, COX, AINES, Docking molecular, ADMET.*

Introdução

Os fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são amplamente utilizados na prática clínica, agindo na redução da dor e no controle da resposta inflamatória. Tais fármacos inibem as ciclooxigenases (COX), enzimas que, durante quadros de resposta inflamatória, apresentam importante função de produção dos mediadores eicosanóides de inflamação, que advêm da molécula de ácido araquidônico.¹

As COX podem ser encontradas em diferentes isoformas: 1, 2 e 3, onde as duas primeiras são as mais comuns, de modo que a COX-1 relaciona-se à atividade constitutiva relacionada a manutenção da homeostasia tecidual, enquanto a COX-2 atua sob a atividade induzida na presença de inflamação e a COX-3, por sua vez, é uma forma presente em tecidos como a mucosa gástrica, rins e plaquetas.²⁻⁴

A estrutura canônica das ciclooxigenases consiste em um homodímero composto por duas cadeias polipeptídicas de 551 resíduos de aminoácidos. Além disso, conta com três domínios por monômero, o domínio do fator de crescimento epidérmico N-terminal, o de ligação à membrana e um domínio catalítico globular C-terminal. O sítio ativo da enzima está localizado em lados opostos do domínio catalítico, com o grupo heme prostético na base do sítio peroxidase. O domínio de fator de crescimento epidérmico e o domínio catalítico criam a interface entre os dímeros colocando o domínio de ligação de membrana na mesma face do homodímero. A entrada lipídica no sítio ativo da enzima ocorre a partir da base do domínio de ligação à membrana e se dá pelo longo canal hidrofóbico, que termina no interior do domínio catalítico. O canal forma o "lobby" do sítio ativo pela constrição do canal por resíduos de Arg120, Tyr355 e Glu524, sendo que a principal diferença entre as formas COX-1 e COX-2 em seu sítio ativo se dá pelos resíduos Val523 e Ile523.¹

O ibuprofeno é extensivamente utilizado devido a sua atividade antipirética, analgésica e antiinflamatória. Nesse sentido, esse fármaco é classificado como um AINE não seletivo, que inibe, em sua configuração *S*, as isoformas COX-1 e 2.⁵ O seu mecanismo de ação se dá por ligação reversível às ciclooxigenases, tornando a produção de várias prostaglandinas diminuta, estas responsáveis pelos efeitos descritos. É um fármaco metabolizado rapidamente, com meia vida de até 2 horas, sendo completamente metabolizado e eliminado em 24 horas, estando 99% ligado a proteínas plasmáticas. Apesar de eficaz, o uso a longo prazo pode acarretar grande toxicidade e efeitos adversos, tais como efeitos gastrointestinais importantes, toxicidade renal e neurológica, em casos de superdosagem.⁶

Objetivos

Planejar análogos estruturais do fármaco ibuprofeno com características farmacocinéticas ou dinâmicas aprimoradas e avaliá-los por meio de técnicas *in silico* como *docking* molecular e predição de propriedades físico-químicas relacionadas a absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade (ADMET).

Metodologia

A estrutura do alvo molecular foi obtida na plataforma *Protein Data Bank*, sob código 4PH9 (resolução: 1.81 Å). Esta estrutura foi preparada no *Discovery Studio* (v.2021), remoendo-se as moléculas de água e demais artefatos de cristalização. As coordenadas do ligante ibuprofeno foram adquiridas e usadas para validação por *redocking*. O protocolo de *docking* utilizou 15 Å de raio e com 10 corridas para cada

ligante analisado. No programa GOLD (v.2022.3.0) as quatro funções de pontuação ChemPLP, GOLDscore, ASP e ChemScore foram avaliadas após o *redocking*, sendo escolhida aquela que apresentou o menor valor de raiz do desvio quadrado médio (*Root-Mean-Square Deviation*, RMSD), sendo este menor do que 2,0 Å.

Em seguida, para a preparação dos análogos (**A1-4**), suas estruturas em 2D no MarvinSketch (versão v.23.10), onde também foram pesquisados os tautômeros e micro espécies dominantes em pH 7,4. Em seguida, foram minimizadas energeticamente no campo de força MMFF94, implementado no Avogadro (v.1.1.1) e salvas em .mol2 para serem utilizadas nos cálculos de docking molecular, conforme o protocolo validado por *redocking*. A análise das interações e figuras foram geradas com o software Discovery Studio (v.2021).

Por fim, para a previsão dos sítios de metabolismo lábeis à ação das principais CYP's, e sítios sucessíveis a glicuronidação, utilizou-se a plataforma *Site of Metabolism Prediction* (SOMP). Para a análise das propriedades farmacocinéticas do ligante e dos análogos foi utilizada a plataforma ADMETlab 2.0.

Resultados e discussão

Tendo em vista as limitações do fármaco ibuprofeno, planejou-se quatro análogos (**A1-A4**) a partir de modificações em sua estrutura, visando aprimorar as suas propriedades farmacocinéticas e dinâmicas.

Segundo a literatura, o ibuprofeno é um fármaco metabolizado e biotransformado no fígado, de modo que seu metabolismo pode ser dividido em duas fases. Na fase 1, ocorrem hidroxilações na cadeia isobutílica, formando os derivados 1-hidroxi-ibuprofeno, 2-hidroxi-ibuprofeno, 3-hidroxi-ibuprofeno. Em seguida, pode ocorrer a oxidação para as formas carboxiladas. Seus principais metabólitos hidroxilados são o 2 e 3-hidroxi, e essas reações oxidativas são realizadas pelas isoformas CYP2C9, CYP2C19, CYP2C8. Na fase 2 os metabólitos podem ser conjugados ao ácido glicurônico pela UDP-glucuronosiltransferase (UGT), antes da eliminação, formando glicuronídeos.⁷⁻⁸ Grande parte desses metabólitos foram previstos *in silico* por meio da plataforma SOMP, o que serviu de base para a análise do padrão de metabolismo dos análogos propostos.

Essa extensiva metabolização pode estar associada a problemas de baixa meia-vida, desse modo, foram propostos análogos com alterações para conferir maior estabilidade metabólica (**A1** e **A2**), através da adição de uma dupla ligação entre a isobutílica e o grupamento aromático, à fim de evitar a oxidação pela CYP2C19 e CYP2C9 e posterior formação dos metabólitos 2-hidroxi-ibuprofeno e 4-hidroxi-ibuprofeno, aumentando então a meia vida do fármaco. Além disso, no análogo **A2**, as metilas foram substituídas por átomos de cloro, também visando impedir a oxidação pelas CYPs. Os análogos podem ser observados na figura 2.

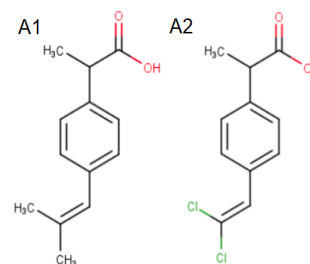


Figura 2. Estrutura molecular dos análogos propostos para aprimorar a estabilidade metabólica (**A1** e **A2**).

Ademais, outros dois análogos foram propostos (**A3** e **A4**) no intuito de melhorar as interações da molécula para com seu alvo. Portanto, com base na análise das distâncias interatômicas entre os resíduos de Val495 e Gly495 com o carbono do grupo isobutílica da molécula de ibuprofeno, propôs-se a introdução de um grupo aceptor/doador de ligação de hidrogênio, como o grupo amino (NH_2) para que pudesse interagir com tais resíduos. Os análogos podem ser observados na figura 3.

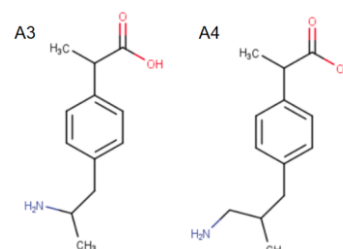


Figura 3. Estrutura molecular dos análogos propostos para aprimorar as interações com o alvo (**A3** e **A4**).

Então, avaliou-se as propriedades farmacocinéticas na plataforma ADMETlab 2.0 para cada análogo proposto.

Dentre os parâmetros ADMET obtidos, destaca-se a presença de grandes variações quanto aos

valores de ligação a proteínas plasmáticas entre as moléculas. Os análogos todos apresentaram valores menores em comparação ao ibuprofeno (94%), sendo estes: **A1** (85%), **A2** (55%), **A3** (45%) e **A4** (39%). O parâmetro de ligação às proteínas plasmáticas pode influenciar em fatores como a distribuição para o local de ação, tempo de meia vida, dentre outros. O tempo de meia vida observado sofreu flutuação coerente com a observada nos resultados de ligações a proteínas do plasma. Houve diferença também nos parâmetros de metabolização pelas CYP2C9 e CYP2C19, onde **A3** passou a não ser substrato dessas isoformas, que têm papel fundamental para a metabolização do fármaco, influenciando potencialmente na meia vida desse análogo. Outro parâmetro importante, o substrato de glicoproteína P, apareceu com 50 a 70% de chance nos análogos **A3** e **A4**, provavelmente devido à ionização do grupo amino, podendo ser indicativo de alterações na absorção e distribuição para o sistema nervoso central dos análogos. Os valores de biodisponibilidade oral não sofreram alterações.⁹ Para os cálculos do *docking* molecular, foram analisados não somente os análogos, mas também suas diferentes configurações (Tabela 1).

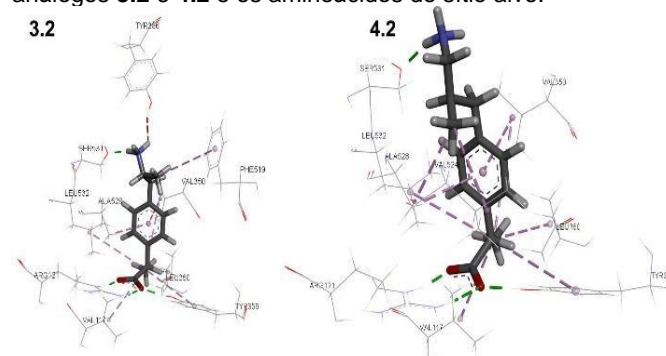
Tabela 1. Resultados de Fitness Score do Ibuprofeno e análogos (**A1-A4**).

Análogo	Fitness Score (GOLDScore)
1	63.23
2	60.06
3.1	66.12
3.2	69.84
4.1	68.96
4.2	72.58
Ibuprofeno	65.31

Quando em comparação ao Ibuprofeno, foi observado um maior valor de fitness score nos análogos **3** e **4**, sendo que os maiores valores de fitness foram obtidos para **3.2** e **4.2**, podem ser explicados pelas novas interações presentes (Figura 4). Pode-se observar uma efetiva ligação de hidrogênio a mais pela amina adicionada com Ser531 em ambos os análogos. Todavia, para o análogo 3.2 há o aparecimento de uma interação de repulsão entre a amina adicionada e a Tyr386. Também, observa-se o surgimento de uma interação hidrofóbica a mais na molécula **3.2**, com o resíduo Phe519, e o análogo **4.2** obteve 2 interações hidrofóbicas a mais, com a Val524 e com a Ala528. Portanto, dentre estes, tendo em vista a presença de uma interação de repulsão no análogo **3.2** somada ao valor de fitness score

menor e uma interação hidrofóbica a menos, o análogo **4.2** pode ser considerado o melhor análogo dentre os propostos no quesito interações com o alvo.

Figura 4. Representação das interações entre os análogos **3.2** e **4.2** e os aminoácidos do sítio alvo.



Conclusões

Desse modo, foi possível, por meio de ferramentas *in silico* determinar parâmetros farmacocinéticos do Ibuprofeno, bem como dos análogos propostos, analisando também as interações moleculares através de técnicas de docking, possibilitando a análise e estudo dos complexos.

Também foi possível, dentro de uma lista de análogos propostos, identificar uma molécula modificada (**A4**) que apresentou efetivamente os aprimoramentos para os quais foi desenvolvida.

Agradecimentos

Agradecemos às colegas do grupo da disciplina de Química Farmacêutica 1 que atuaram ativamente no desenvolvimento do projeto, e à Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade.

Referências e notas

- (1) Blobaum, Anna L.; Marnett, Lawrence J. *J. of. Med. Chem.*, **2007**, *50*, p. 1425.
- (2) Khan, A. A. *et al. J. Pain*, **2007**, *8*, p. 349
- (3) Shehata, H. *Bas. Sci. in Obst. and Gyn. (Fourth Edition)*, **2010**, 259
- (4) Kargman, S. *et al. Proc. of the Nat. Acad. of Sci.*, **2001**, *98*, 14583
- (5) Orlando, R. *M Rev. Elet. de Farm.*, **2007**, *4*, 8
- (6) Ershad, M.; Ameer, M. A.; Vearrier, D. *StatPearls*, **2023**.
- (7) Carrillo *et al. Clin. Pharm. & Ther.*, **2012**, *92*, 414
- (8) Zhou *et al. Current Med. Chem.*, **2009**, *16*, 3480
- (9) Araujo, A. P. L. M. G. *Uni. Fer. Pes. Porto*, **2015**.

Categoria: Trabalho Completo (C-G-10)

Estratégias de modelagem molecular de análogos da curcumina visando a otimização farmacocinética do processo absorptivo pelos enterócitos

João Victor de Sousa Coutinho¹ (IC), Natan L. Chanca¹ (IC), Nathália D. de C. Louzada¹ (IC), João Victor X. de Oliveira¹ (IC), Otoniel de A. Azevedo (PQ)*. otoazevedo@gmail.com

1- Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro Universitário São Camilo, ES - Brasil.

Palavras Chave: Curcumina, Modelagem molecular, Farmacocinética, Química medicinal.

Introdução

A *Curcuma longa*, conhecida popularmente como cúrcuma ou açafrão da terra, consiste em um rizoma, composto por diversas moléculas que possuem atividade biológica¹. Há séculos ela é utilizada com fins medicinais, e a cada ano novas propriedades terapêuticas, advinda de seus metabólitos, vem sendo elucidadas, reafirmando o potencial farmacológico dessa espécie vegetal^{2,3}. Um dos principais componentes moleculares do metabolismo da *Curcuma longa* consiste na curcumina, um polifenol de coloração amarelada, que caracteriza muitos aspectos sensoriais e bioativos desse rizoma^{1,4}. Tal metabólito secundário, possui uma atividade anti-inflamatória potente, atuando de modo inibitório sobre as ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX), também tendo ação frente ao NF-κB, relacionando a perfis de inflamação^{5,6}.

Nesse sentido, torna-se notório a importância que essa molécula, de forma isolada, pode representar para a farmacologia. Todavia, um dos grandes impasses que inviabilizam isso diz respeito a sua baixa biodisponibilidade, advinda de um teor reduzido de absorção^{1, 2}. Na prática da alimentação funcional, suplementação e da fitoterapia, um recurso utilizado para aumentar a taxa de absorção pelos enterócitos consiste na associação da cúrcuma com a pimenta do reino (*Piper nigrum*), todavia essa interação não é suficiente para tornar a curcumina biodisponível ao ponto de atuar como um fármaco anti-inflamatório¹.

Objetivos

Mediante ao exposto, o objetivo do presente estudo consiste em propor novas moléculas análogas da curcumina, desenhadas com estratégias de

substituição e adição de grupamentos orgânicos, visando melhorar o perfil absorptivo via enterócitos em modelos *in silico*.

Metodologia

O presente trabalho consiste em um estudo experimental, por metodologias *in silico*, qualitativo. Para a sua execução, utilizou-se a plataforma PubChem para a obtenção da estrutura molecular da curcumina em seu SMILES canônico. Posteriormente, utilizou-se a mesma plataforma para realizar edições estruturais, de acordo com padrões racionais de modelagem molecular. Com o desenvolvimento dos análogos curcuminicos, esses foram encaminhados para a plataforma ADMETlab^{®14}, onde se analisou o LogP (Coeficiente de Partição), a absorção por células CACO-2 e por células MDCK (células renais caninas Madin-Darby), para assim poder avaliar se os ajustes moleculares foram significativos para a melhora da absorção.

Resultados e discussão

Na Figura 01 é possível visualizar a molécula precursora do presente estudo, a curcumina. Como pode ser observado, ela se estrutura como espelho, de modo que o carbono presente entre as funções cetônicas representa o centro da estrutura, e as ramificações carbônicas, em ambas as direções, são idênticas. A diferença entre tais dados consiste na configuração do grupo fenol e éter, dispostos na extremidade⁷.

No que diz respeito ao designer clássico de anti-inflamatórios não esteroides, é normal observar um grupamento ácido carboxílico, anexo a um grupo volumoso. Na curcumina, a extremidade fenólica e o grupamento éter fazem a vez, nas interações

moleculares, de configuração dos padrões ácidos, gerando um ancoramento em estruturas de COX e LOX⁸.

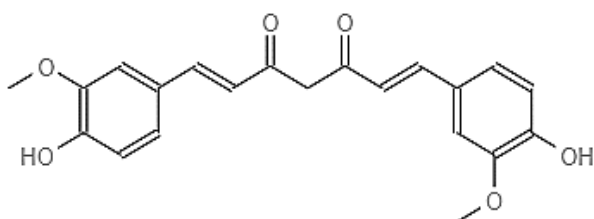


FIGURA 01. Estrutura da curcumina (Molécula 01)

Visando melhorar o padrão de absorção, o primeiro ajuste realizado foi a acetilação das hidroxilas fenólicas, como pode ser observado na Figura 02. Ao ser absorvido, esse protótipo seguiria pelo leito mesentérico até o sistema hepático, onde sofreria reações de hidrólise, convertendo os ésteres adicionados em hidroxilas fenólicas novamente^{9,10}.

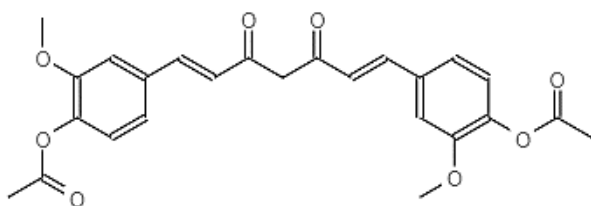


Figura 02. Análogo 01 (Molécula 02)

Tal estratégia visa o não comprometimento dos padrões farmacodinâmicos, gerando modificações apenas na farmacocinética absorptiva e metabólica da molécula em questão. Um fármaco que utiliza uma ideiação similar consiste no ácido acetilsalicílico (AAS)¹⁰.

Ao realizar tais ajustes foi possível observar que o LogP foi reduzido, como pode ser vislumbrado na Tabela 01, o que indica uma redução do perfil lipídico da molécula, que de modo geral pode representar uma redução na absorção, e também na biodisponibilidade. Isso é confirmado com o resultado referente ao teste *in silico* de absorção por células CACO-2, que também sofreu quedas, todavia, o resultado das células MDCK foi aumentado, contrapondo os resultados anteriores^{11, 12, 13}.

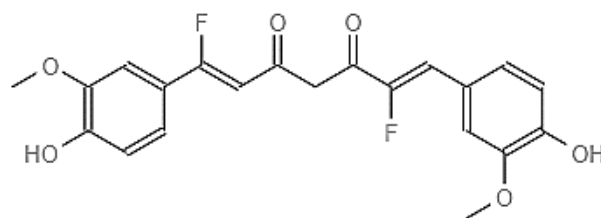


Figura 03. Análogo 02 (Molécula 03)

Na Figura 03 é possível perceber a adição de dois átomos de flúor, esses conferiram uma elevação no LogP, de modo significativo. Ademais, nos testes *in silico*, esse foi o único protótipo a demonstrar um aumento significativo na absorção por enterócitos^{11, 12, 13}.

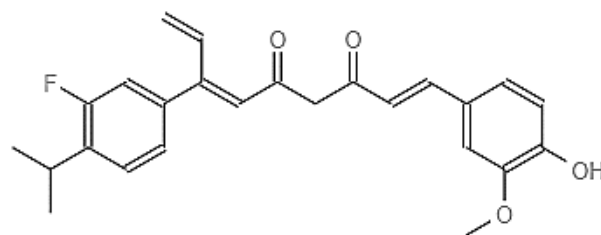


Figura 04. Análogo 03 (Molécula 04)

Algumas mudanças mais radicais foram adotadas no análogo 03, disposto no Figura 04, onde o grupamento éter presente em um dos anéis fenólicos foi substituído por um átomo de flúor, a hidroxila do mesmo anel foi substituída por uma ramificação isopropílica. Outrossim, Também foi executada uma adição no carbono α -fenólico, justamente no ciclo modificado. Sendo essa um grupamento vinil. Tais alterações foram feitas visando aumentar a lipofilicidade, o que pode ser confirmado com a elevação do LogP, todavia os perfis absorptivos foram insignificantes^{11, 12, 13}.

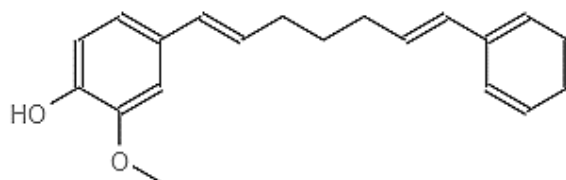


Figura 05. Análogo 04 (Molécula 05)

O último análogo proposto foi desenhado com base na técnica de simplificação molecular, onde foi eliminado um grupamento éter, e uma hidroxila fenólica. Isso elevou o LogP, porém os parâmetros

absortivos não sofreram mudanças significativas ^{11, 12, 13}.

Tabela 01. Resultado dos testes *in silico* com os análogos de curcuminas referentes a parâmetros absortivos

MOLÉCULA	LogP	CÉLULAS CACO-2	CÉLULAS MDCK
01	2.742	- 4,834	1.6X10 ⁻⁵
02	2.536	- 4,926	2X10 ⁻⁵
03	3.304	-4,546	2.1X10 ⁻⁵
04	4.298	- 4.833	1.3X10 ⁻⁵
05	4.072	- 4.904	1.4X10 ⁻⁵

Calculados em ADMETlab 2.0¹⁴

Conclusões

Portanto, mediante ao exposto, foi possível notar o potencial do análogo 02 como uma estrutura potencial no que diz respeito a melhoria nos critérios de absorção. Outrossim, a elevação no LogP dos análogos 03 e 04 possibilitam supor que tais moléculas possam ter um desempenho melhorado frente a internalização dos enterócitos. Os próximos passos consistem em avaliar o ancoramento molecular via Docking molecular, síntese dos análogos, caracterização e avaliação *in vitro* do perfil absortivo.

Agradecimentos

O grupo de pesquisa agradece ao Centro Universitário São Camilo pelo apoio no que diz respeito a estrutura, e fornecimento de equipamentos e profissionais.

Referências e notas

- (1) Hewlings SJ, Kalman DS. Foods. 2017, 22, 6.
- (2) Slika L, Patra D. Mini Rev Med Chem. 2020, 20, 12.
- (3) Cecilio F. A. B, Souza, R. J, Braz, L. T, Tavares, M. Ciência Rural. 2000, 30, 1.
- (4) Sharifi-Rad J. *et al.* Front Pharmacol. 2020, 15, 11.
- (5) Memarzia A. *et al.* Biofactors. 2021, 47, 3.
- (6) Jurenka JS. Altern Med Rev. 2009, 14, 2.
- (7) Sueth-Santiago V. *et al.* Quím Nova. 2015, 38, 4.
- (8) Lamano-Carvalho TL. Acta ortop bras. 2007, 15, 3.
- (9) Lima LM. Molecules. 2021, 26, 16.
- (10) Thiblin I, Petersson A. F. Clin Pharmacol. 2005, 19, 1.
- (11) Vranka C, *et al.* Nucl Med Biol. 2017, 50, 1.
- (12) Pham H. *et al.* Mol Inform. 2011, 30, 4.
- (13) Novakovsky G. *et al.* Stem Cell Reports. 2023, 18, 3.
- (14) ADMETlab 2.0. Disponível em:
<<https://admetmesh.scbdd.com/service/evaluation/cal>>

Triagem virtual de cumarinas como potenciais inibidores da enzima enoil-ACP-redutase de *Streptococcus agalactiae*

Gabriel B. Silva¹ (PG), Iara S. Santos² (PG), Lidilhone H. Carbonezi² (PQ), Bárbara V. Silva¹ (PQ), Camilo H. S. Lima¹ (PQ), Magaly G. Albuquerque^{1*} (PQ). magaly@iq.ufrj.br

1 – Instituto de Química (IQ), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ – Brasil

2 - Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais (IPPN), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Palavras-chaves: Química medicinal, Docagem molecular, FabK, Estreptococos do grupo B, Antimicrobianos

Introdução

Streptococcus agalactiae, ou estreptococo do grupo B (“group B Streptococcus”, GBS), é uma espécie de bactéria responsável por infecções em grávidas, principalmente, no momento do parto, ocasionando, assim, um risco tanto para a mãe quanto para o bebê, podendo ocasionar, também, casos de meningite.¹

Algumas classes de antibióticos são utilizadas contra as infecções por *S. agalactiae*, como penicilinas e cefalosporinas, porém, algumas cepas vêm adquirindo resistência, tornando necessária a busca por novos agentes antimicrobianos.

Compostos contendo o núcleo cumarina vem se destacando devido a sua ampla atividade antimicrobiana relatada para diferentes organismos, como bactérias do gênero *Streptococcus spp.*²

Além disso, a enzima enoil-ACP-redutase bacteriana é um alvo promissor para o desenvolvimento de novos fármacos, pois ela é essencial para a biossíntese de ácidos graxos da parede bacteriana.^{3,4} Em estudo anterior, a partir da estrutura primária da enoil-ACP-redutase (FabK) de *S. agalactiae* (sorotipo V) disponível no UniProt (código: Q8E1K8), e da estrutura terciária da FabK de *Streptococcus pneumoniae* (código UniProt: Q8DR17), disponível no PDB (código: 2Z6J), foi obtida a estrutura 3D da FabK da *S. agalactiae* por modelagem comparativa.⁴

Neste trabalho, foram realizados estudos de triagem virtual de oito derivados cumarina-carbo-hidrazidas por docagem molecular na estrutura 3D da FabK de *S. agalactiae*.

Objetivos

Determinar os derivados cumarina-carbo-hidrazidas com maior potencial de inibição da FabK de *S. agalactiae*, por docagem molecular, visando o desenvolvimento de novos antibióticos.

Metodologia

A metodologia adotada neste trabalho está resumida na Figura 1.

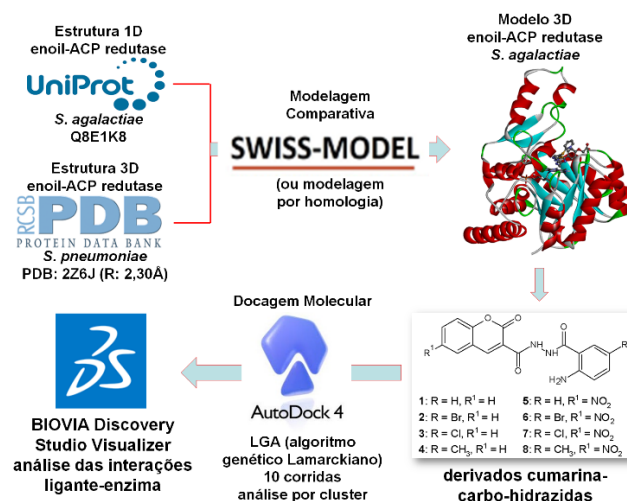


Figura 1. Esquema do procedimento computacional.

Resultados & Discussão

A análise da redocagem do inibidor TUI pode ser observada na Figura 2.

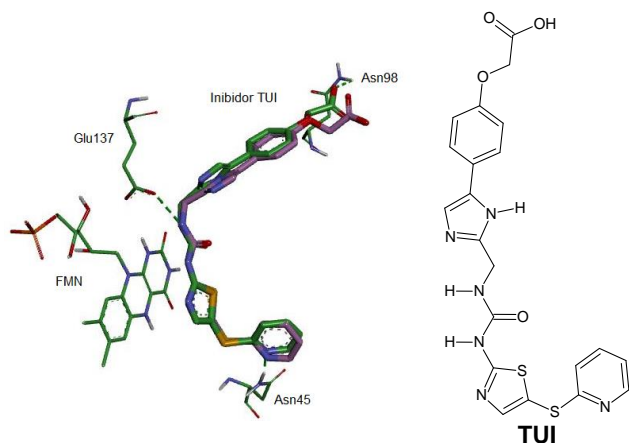


Figura 2. Pose obtida por redocagem do inibidor fenilimidazol (TUI) (cinza: pose do *cluster* mais populoso; rosa: inibidor co-cristalizado) (energia de ligação = -10,56 Kcal/mol, RMSD = 0,75 Å) no modelo 3D da FabK de *S. agalactiae*, obtido por modelagem comparativa a partir do complexo 2Z6J (enzima, cofator FMN e inibidor TUI), disponível no Protein Data Bank (PDB).

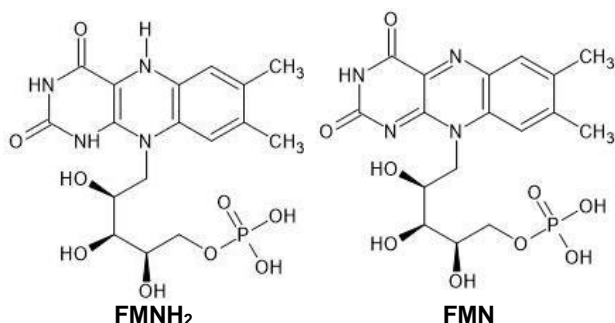
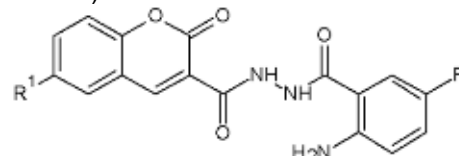


Figura 3. Estruturas 2D do cofator flavina-mononucleotídeo (FMN) nas formas reduzida (FMNH₂) e oxidada (FMN).

A docagem dos derivados cumarina pode ser mais bem compreendida com os dados dispostos na Tabela 1 e na Figura 4.

Tabela 1. Resumo dos valores de energia de ligação ($E_{\text{Ligação}}$, Kcal/mol) e das interações intermoleculares, via ligação hidrogênio (LH), entre os ligantes (TUI e cumarinas **1-8**) e os resíduos da FabK.



- 1: R = H, R¹ = H 5: R = H, R¹ = NO₂
 2: R = Br, R¹ = H 6: R = Br, R¹ = NO₂
 3: R = Cl, R¹ = H 7: R = Cl, R¹ = NO₂
 4: R = CH₃, R¹ = H 8: R = CH₃, R¹ = NO₂

Ligante	$E_{\text{Ligação}}$	Resíduos em LH
TUI	-10,98 (rmsd=5,11) -10,56 (rmsd=0,75)	Trp22, Asn45 e His144 Asn98, Asn45 e Glu137
1	-10,54	Ala96, His144, Glu137
2	-9,23	apenas intramolecular
3	-8,89	Ala96, His144
4	-9,14	Ala96, His144, Val116
5	-10,23	apenas intramolecular
6	-10,72	Trp22
7	-9,50	Asn45, Leu73, His144
8	-10,55	Asn45

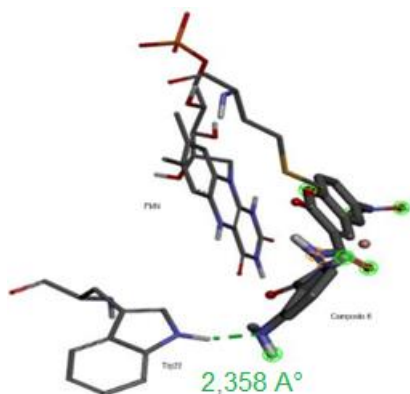


Figura 4. Pose obtida por docagem do composto **6** no modelo 3D da enoil-ACP-redutase de *S. agalactiae*, obtido por modelagem comparativa a partir do complexo 2Z6J, ilustrando uma interação via ligação hidrogênio com o resíduo Trp22.

O composto **6** ($R=Br$, $R^1=NO_2$) realiza uma interação por ligação hidrogênio com o resíduo 22 de triptofano (Trp22) de forte intensidade, favorecendo o posicionamento do derivado cumarina próximo ao cofator FMN no sítio ativo da enzima no complexo ligante-proteína, essa proximidade do ligante com o cofator pode proporcionar a inibição da enzima.

Conclusões

O composto **6** ($R=Br$, $R^1=NO_2$) apresentou o menor valor de energia de ligação com a enzima enoil-ACP-redutase de *S. agalactiae* e interação via ligação hidrogênio com o resíduo Trp22, ficando próximo ao cofator FMN. Portanto, a docagem molecular foi uma técnica útil para encontrar potenciais inibidores dessa enzima e possíveis novos fármacos que tratam doenças causadas por esse estreptococo do grupo B.

Agradecimentos



Referências

- (1) Raabe, V.N., Shane, A.L. *Microbiol. Spectr.* **2019**, 7:1.
- (2) Cheke, R.S. *et al.*, *Antibiotics* (Basel) **2022**, 11:566.
- (3) Massengo-Tiassé, R.P.; Cronan, J.E. *Cell Mol. Life Sci.* **2009**, 66:1507.
- (4) Biasi-Garbin, R.P. *et al.*, *Chemistry Select.* **2022**, 7:1.

Categoria: Trabalho Completo (C-PG-2)

Síntese e avaliação da atividade fotoprotetora de Derivados Cumarina-Ácido vanílico.

Ana H. F. Ayala¹ (PG), Karina C. P. Dias¹ (IC), Piethra Marques¹ (IC), Anna B. S. Ferrari¹ (PG), Maria L. Zeraik¹ (PQ), Marcelle L. F. Bispo¹ (PQ), Carla C. Perez^{1*} (PQ). *perezcc@uel.br

1- Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras Chave: Polifênóis, Cumarinas, Fotoproteção.

Introdução

A radiação ultravioleta pode ser dividida em três categorias, a depender do seu comprimento de onda, UVA (400-315nm), UVB (315-280nm) e UVC (280-100 nm). A camada de ozônio bloqueia grande parte da radiação UVC, e acabamos expostos principalmente as radiações UVA e UVB.¹ Apesar destas serem essenciais para a manutenção da vida na terra, o excesso de exposição pode ocasionar malefícios ao organismo como: eritemas; edemas; hiperpigmentação; fotoenvelhecimento e em casos mais graves, melanomas. Uma forma de minimizar esses prejuízos é o uso de filtros UV, presentes em protetores solares. Esses, podem ser divididos em duas classes: filtros orgânicos e inorgânicos. Os filtros inorgânicos são compostos principalmente por óxidos metálicos e sua ação se dá através da reflexão e/ou dispersão da radiação. Já os filtros orgânicos são formados por moléculas orgânicas com a capacidade de absorver as radiações UV, e transformá-las em radiações com maiores comprimentos de onda, menos energéticas e inofensivas.²⁻³ Essas moléculas apresentam como principais características estruturais a presença de anéis aromáticos conjugados com grupos carboxilados. Sendo o sistema conjugado, nessas moléculas, a chave para essa atividade biológica.¹ A literatura reporta o potencial de compostos naturais, como os ácidos fenólicos, para o uso de filtros UV, e pensando na estrutura descrita para filtros orgânicos, o núcleo cumarínico também se apresentam como uma alternativa interessante para a formulação de fotoprotetores.²

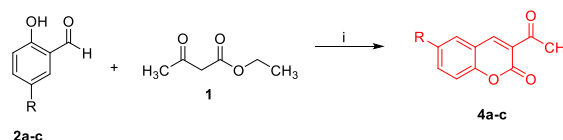
Objetivos

Com isso, este trabalho teve como objetivos a síntese de 3 compostos híbridos cumarina-ácido vanílico assim como, a avaliação *in vitro* de seus potenciais fotoprotetores.

Metodologia

• Síntese dos compostos 4a-c

Os compostos **4a-c** foram obtidos seguindo a metodologia de Cacic *et al*, 2011. Em um balão de fundo redondo adicionou-se o salicilaldeído correspondente (**2a-c**) e acetoacetato de etila (**1**) em quantidades equivalentes (1:1). Em seguida, sob agitação, foram adicionadas quantidades catalíticas de piperidina. A mistura foi mantida em temperatura ambiente e agitação magnética constante por 3h. O término da reação foi acompanhado por CCD. Então, o precipitado formado foi filtrado à vácuo e lavado com etanol absoluto gelado. O sólido obtido foi purificado por recristalização em água destilada (**Esquema 1**).⁴



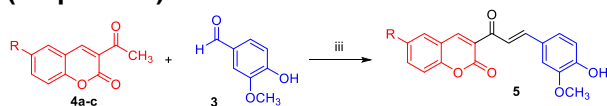
(i) Piperidina, t.a., 3h.

Esquema 1 – Síntese dos precursores 4a-c.

• Síntese dos compostos 5a-c

Já os compostos **5a-c** foram sintetizadas com a metodologia adaptada de Petrov *et al*, 2007. Em um balão de fundo redondo adicionou-se a cumarina correspondente (**4a-c**) e a vanilina (aldeído derivado do ácido vanílico) em quantidades de equivalente (1:1,5) em 2mL de etanol absoluto. Agitou-se essa mistura por 5 minutos e em seguida adicionou-se 0,2 mL de cloreto de tionila gota-a-gota, ainda sob agitação. A reação foi acompanhada por CCD com fase móvel hexano/acetato (6:4). Após 4h de agitação à temperatura ambiente, a reação foi finalizada com a adição de 2 mL de água destilada e 2 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio. Os precipitados formados foram filtrados à vácuo e lavados com etanol absoluto gelado. As substâncias **5a** e **5b**, foram recristalizados com

clorofórmio e novamente filtradas. Todos os sólidos obtidos foram secos em estufa a 100°C por 24h (**Esquema 2**).⁵



(iii) SOCl₂, EtOH, t.a., 4 h.

Esquema 2 – Síntese dos derivados **5a-c**.

Após a síntese, purificação e caracterização, os derivados foram submetidos ao teste de fotoproteção *in vitro* para a determinação do fator de proteção solar (FPS).

• **Determinação do FPS UVB *in vitro***

Para a medida do fator de proteção solar (FPS) dos derivados, utilizou-se o método *in vitro* descrito por Mansur *et al*, 1986. Esse teste é considerado um teste primário para a identificação de compostos orgânicos que possuam atividade fotoprotetora.⁶ Foram preparadas soluções dos precursores **4a-c** e dos derivados **5a-c** em DMSO, nas concentrações de 5, 15, 25, 35, 45 µM, assim como a vanilina (**3**) e o padrão Benzofenona-3. A Benzofenona-3 é utilizada como padrão por ser um ativo muito comum na formulação de protetores solares, atuando como filtro UV. As leituras foram realizadas em triplicata na faixa de 290 a 320 nm (a cada 5 nm) em espectrofotômetro UV-visível. A determinação do FPS foi feita através da multiplicação da absorbância medida pelo efeito eritemogênico da radiação (EE) para cada um dos comprimentos de onda, **tabela 1**. E a somatória dos valores multiplicada por um fator de correção, conforme determinado por Wagemaker *et al*, 2011 (**Equação 1**).⁷

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda) \text{ Eq. 1}$$

1

Onde:

FC= fator de correção (10);

EE= efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda λ;

I(λ)= intensidade do sol no comprimento de onda λ;

Abs(λ) = absorbância da solução no comprimento de onda λ.

Tabela 1 - Comprimentos de onda e respectivos fatores de multiplicação para cálculo do FPS.

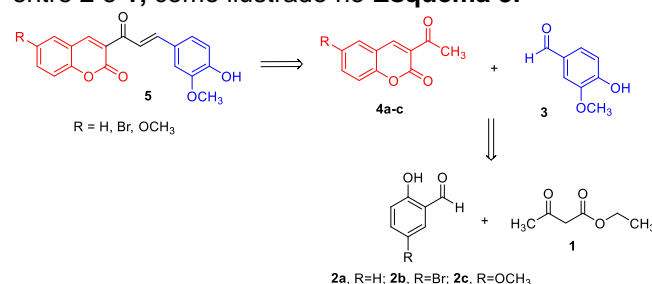
Comprimento de onda (nm)	EE x I (normalizado)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864

315	0,0839
320	0,0180

Os cálculos de média e desvio padrão (DP), assim como, as tabelas e gráficos, foram feitos utilizando o programa Microsoft Excel. E para as análises estatísticas ANOVA e Teste de Tukey, utilizou-se o programa SISVAR versão 5.6, com o intuito de comparar e avaliar os dados obtidos.

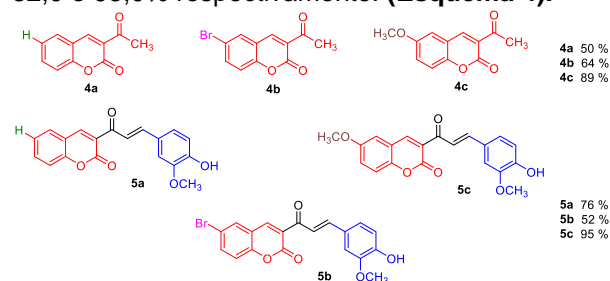
Resultados e discussão

O trabalho iniciou-se com o planejamento retrossintético, onde, foi proposto que, os derivados **5** poderiam ser obtidos a partir de uma condensação aldólica entre as metilcetonas **4** e a vanilina **3**. A metilcetona, que contém o núcleo cumarínico, poderia ser obtida por uma reação entre **2** e **1**, como ilustrado no **Esquema 3**.



Esquema 3- Análise Retrossintética

A etapa de síntese foi iniciada com a reação de condensação de Knoevenagel, entre o salicilaldeído correspondente **2** e acetoacetato de etila **1** na presença de piperidina, levando a obtenção das metilcetonas **4a-c** com 50,0, 64,0 e 89,0. Posteriormente, uma condensação aldólica entre as metilcetonas **4a-c** e a vanilina **3** na presença de SOCl₂, permitiu a obtenção dos derivados **5a-c** com rendimentos brutos de 75,0, 52,0 e 95,0% respectivamente. (**Esquema 4**).



Esquema 4- Estrutura dos precursores e derivados sintetizados.

A formação dos três novos derivados foi confirmada por sinais característicos de RMN de hidrogênio.

Composto 5a: RMN ¹H (400mHz, CDCl₃) δ (ppm)

3,96 (3H, s, -OCH₃); 6,95 e 7,40 (2H, d, -CH=CH-). P.F.: 172-175°C. **Composto 5b**: RMN ¹H (400mHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 3,82 (3H, s, -OCH₃); 7,37 e 7,69 (2H, d, -CH=CH-); 8,5 (1H, s, -H); 9,84 (1H, s, -OH). P.F.: 220-223°C. **Composto 5c**: RMN ¹H (400mHz, DMSO-d₆) δ (ppm) 3,82 (6H, s, -OCH₃); 7,43 e 7,67 (2H, d, -CH=CH-); 8,52 (1H, s, -H); 9,82 (1H, s, -OH). P.F.: 179-182°C. Análises de RMN ¹³C devem ser realizadas para completa caracterização dos produtos.

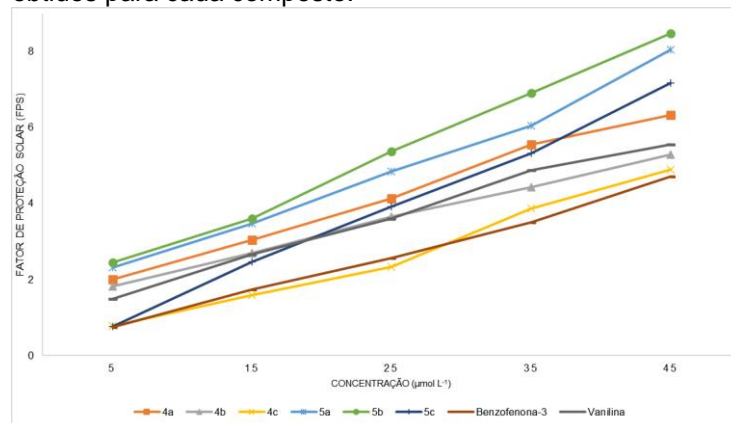
A ANVISA determina que uma substância é considerada fotoprotetora quando apresenta um valor de FPS superior a 6.⁸ As três novas substâncias apresentaram valores de FPS superiores aos seus precursores (**4a-c e vanilina**), como apresentado na **tabela 2 e figura 1**. Todos os derivados, **5a-c**, apresentaram potencial fotoprotetor a partir da concentração de 35 μM, com o derivado **5b**, exibindo valores superiores aos outros compostos. Também se nota que, o precursor **4a** atendeu ao padrão determinado pela ANVISA a partir da concentração de 45 μM. Ainda, comparando com padrão benzofenona-3, é possível notar maior discrepância entre os valores, demonstrando que a hibridação aumenta sua atividade fotoprotetora, o que mais uma vez reforça o potencial dos novos derivados.

Tabela 2 – Valores FPS e desvio padrão obtidos em diferentes concentrações para as substâncias **4a-c, 5a-c, vanilina e benzofenona-3**.

Substâncias	Concentrações (μM)				
	5	15	25	35	45
4a	2,01 ± 0,06	3,05 ± 0,11	4,13 ± 0,11	5,56 ± 0,08	6,34 ± 0,15
	1,82 ± 0,09	2,69 ± 0,02	3,66 ± 0,30	4,43 ± 0,11	5,30 ± 0,02
4b	0,79 ± 0,02	1,60 ± 0,06	2,34 ± 0,07	3,87 ± 0,20	4,90 ± 0,05
	2,32 ± 0,04	3,47 ± 0,05	4,85 ± 0,04	6,05 ± 0,09	8,05 ± 0,09
4c	2,44 ± 0,18	3,61 ± 0,11	5,37 ± 0,11	6,91 ± 0,08	8,49 ± 0,12
	0,77 ± 0,06	2,46 ± 0,04	3,92 ± 0,10	5,33 ± 0,06	7,18 ± 0,09
5a	0,75 ± 0,01	1,74 ± 0,03	2,57 ± 0,05	3,50 ± 0,03	4,72 ± 0,05
	1,49 ± 0,01	2,66 ± 0,06	3,60 ± 0,05	4,88 ± 0,02	5,56 ± 0,11
Benzofenona-3					
Vanilina					

0,09

Figura 1 – Ilustração gráfica dos valores de FPS obtidos para cada composto.



Conclusões

Uma vez que a medida do FPS utilizada se trata de um teste inicial, outros ensaios devem ser realizados. No entanto, os resultados obtidos, indicam um grande potencial fotoprotetor dos híbridos cumarina-ácido vanílico, em comparação com o padrão benzofenona-3. Isto enfatiza uma possível alternativa a formulação para novos filtros UV orgânicos.

Agradecimentos



Referências e notas

- He et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **2021**, 134, 11161.
- Saewan, N.; Jimtaisong, A. *Journal of Cosmetic Dermatology*. **2015**, 14, 47-63.
- Flor, J.; Davolos, M. R.; Correa, M. A. *Quim. Nova*. **2007**, 30, 153-158.
- Cacic, M.; Molnar, M.; Strelec, I. *Heterocycles*. **2011**, 83, 1566.
- Petrov, O.; Ivanova, Y.; Gerova, M. *Catalysis Communications*. **2008**, 9, 315-316.
- Mansur et al. *An. Bras. Dermatol.* **1986**, 61, 167.
- Wagemaker et al. *Industrial Crops and Products*. **2011**, 33, 469-473.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Resolução RDC 30, de 01/06/2012, MS: Brasília, 2012

Afinidade dos antidepressivos pelo transportador de dopamina da *Drosophila melanogaster*: estudos *in silico*

Fabiani Fernanda Triches¹ (PG), Francieli Triches² (PG), Cilene Lino de Oliveira^{1*} (PQ).
*cilene.lino@ufsc.br

1- Departamento de Farmacologia, UFSC, SC-Brasil.

2- Departamento de Matemática, UFSC, SC-Brasil.

Palavras Chave: constante de inibição, *consensus docking*, interações químicas

Introdução

A *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca-da-fruta ou mosca-da-banana, vem como uma alternativa para substituição de organismos vertebrados por invertebrados em pesquisas na neuropsicofarmacologia.¹ Este animal compartilha um último ancestral comum com os humanos com um sistema nervoso complexo.² Cerca de 75% dos genes relacionados a doenças em humanos são conservados nas moscas.³ Assim como os humanos, elas possuem capacidade de memória, aprendizagem e plasticidade sináptica.^{3,4} Assim como em vertebrados, as monoaminas (dopamina, DA, noradrenalina, NE, serotonina, 5-HT) são fundamentais para estas funções neurais nas moscas. Estes fatos dão suporte ao uso da *D. melanogaster* como organismo modelo para estudos de processos biológicos de desordens relacionadas às monoaminas. Dentre elas estão a esquizofrenia, autismo, bipolaridade, doença de Parkinson, déficit de atenção, hiperatividade e depressão etc.^{3,12} A similaridade entre os transportadores de DA (DAT), NE (NET) e 5-HT (SERT) em humanos e moscas permite o estudo de fármacos antidepressivos nestas espécies.^{13,14,15} Atualmente, dentre as principais classes de antidepressivos estão os inibidores da MAO, antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptção de 5-HT, inibidores seletivos da recaptção de NET, inibidores seletivos da recaptção de 5-HT e NE, e inibidores seletivos da recaptção de DA.¹¹ Todas as classes de antidepressivos aumentam os níveis de monoaminas na fenda sináptica dos neurônios.¹¹ Com exceção dos inibidores da MAO, os demais medicamentos têm os transportadores de monoaminas por alvos farmacológicos. Dentre os transportadores somente o NET é ausente na *D. melanogaster*.⁵ O DAT e o SERT das moscas, dDAT e dSERT, têm sequência gênica similares aos dos humanos (hDAT, hNET, hSERT).⁶ O dDAT tem similaridade nas regiões transmembranas -

onde se encontra o sítio de ligação⁶ - de 55% de com o hDAT e 58-59% com o hNET.⁷ A maior variação está na região extracelular.⁶ O dDAT é o único tipo de transportador da *D. melanogaster* que tem a estrutura resolvida por difração de raio-X.^{5,8,9,10} Compreender como os fármacos antidepressivos são efetivos e interagem com alvos moleculares na *D. melanogaster*, reforça seu uso como organismo modelo em pesquisas na área da neuropsicofarmacologia. Esse conhecimento pode auxiliar também no entendimento do mecanismo de ação e no desenvolvimento de novos fármacos com potencial antidepressivo.¹⁶ Uma das abordagens possíveis para se investigar a interação entre as moléculas antidepressivas e alvos moleculares é a ancoragem molecular, do inglês *molecular docking*. Neste trabalho se aplicou métodos de ancoragem molecular para descrever a interação entre os fármacos antidepressivos e o dDAT. Os resultados dos estudos de ancoragem molecular foram usados para criar uma lista de classificação dos antidepressivos de acordo com a afinidade com o dDAT.¹⁷

Objetivos

Estimar a afinidade de antidepressivos de diferentes classes farmacológicas pelo dDAT. Descrever quais aminoácidos envolvidos na interação entre os antidepressivos com o dDAT.

Metodologia

Para atingir os objetivos foram feitos em primeiro lugar, ensaios de *re-docking* foi conduzido para padronizar a melhor estratégia de ancoragem a ser empregada neste estudo.¹⁸ O *re-docking* consistiu em separar os elementos de um complexo co-cristalizado, ligante e macromolécula, e tornar a reuni-los. O processo foi considerado bem sucedido quando a posição do ligante na macromolécula na re-ancoragem se assemelha a original do complexo (i.e., RMSD menor que 2Å). Os complexos cristalográficos dDAT foram baixados do *Protein Data Bank* (PDB). Os ligantes foram retirados do complexo e baixados usando o

programa *Discovery Studio 2021 client*. Este programa também foi usado para encontrar o sítio de ligação do ligante na macromolécula. Os programas *Autodock Vina*, *DockThor* e *Gold v. 2021.1.0* foram usados no *re-docking*.¹⁸ Depois de padronizadas as condições em cada programa prosseguiram-se para os ensaios de ancoragem entre os antidepressivos e o dDAT usando o método de *ensemble-docking*. Esta abordagem consistiu em fazer a ancoragem entre os vários antidepressivos com os vários dDATs nos três programas de ancoragem. Neste ensaio, além dos complexos cristalográficos dDATs^{5,8,9,10}, foi usado também um dDAT de estrutura teórica. Este dDAT foi baixado do *AlphaFold*. Com isso totalizou-se 11 dDATs. Os antidepressivos escolhidos para este estudo foram 21 listados no estudo de Cipriani et al. (2018).¹⁹ As estruturas dos antidepressivos foram baixadas do banco de dados ZINC usando o código InChI de cada um dos 21 ligantes a seguir: agomelatina, amitriptilina, bupropiona, citalopram, clomipramina, desvenlafaxina, duloxetine, escitalopram, fluoxetine, fluvoxamina, levomilnacipram, milnaciprano, mirtazapina, nefazodona, paroxetina, reboxetina, sertralina, trazodona, venlafaxina, vilazodona e vortioxetina. Para a bupropiona, citalopram, desvenlafaxina, fluoxetine e venlafaxina o ZINC retornou duas estruturas, totalizando 26 antidepressivos. O *ensemble-docking* gera múltiplos resultados em função do número de ligantes, macromoléculas e programas usados. Assim, para cada par antidepressivo-dDAT havia três resultados de ancoragem, um de cada programa. Para se obter um valor consensual, representativo da afinidade de um par antidepressivo-dDAT, entre os três programas foram conduzidos cálculos de consenso. Os cálculos de consenso foram: ECR²⁰ e as variações ECR+MS¹⁸ e o FL+ECR+MS. Os consensos usam uma função exponencial para combinar resultados de ancoragem com métricas diferentes (ΔG no *Autodock Vina* e *DockThor*; *fitness* no *Gold*). Os valores consensuais foram organizados em listas de classificação de afinidade em uma escala ordinal (1,2,3,...) de maior (posição 1) para menor afinidade (posição n). No cálculo FL+ECR+MS uma função linear foi acrescentada para criar intervalos variáveis entre os ligantes (0 indica maior e 1 menor afinidade). Para cada par antidepressivo-dDAT também foi calculada uma constante de inibição (K_i) que foi a média dos valores de K_i daquele ligante com os vários dDATs. Os valores de K_i foram estimados a partir dos valores de ΔG obtidos com *Autodock Vina* e

DockThor.¹⁸ Assim, foram geradas 4 listas de classificação. A descrição dos tipos de aminoácidos envolvidos na ancoragem de cada par ligante-macromolécula foi feita pela leitura das imagens 2D de cada ancoragem. Após cada ancoragem, o resultado da interação entre os antidepressivos com o dDAT era aberto no programa *Discovery Studio* e uma imagem 2D era gerada e salva em formato *.json*. Um código em *Python* elaborado em nosso laboratório (<https://github.com/FabianiTriches>) lia o arquivo e liberava um arquivo *.txt* com a lista dos aminoácidos envolvidos na interação.

Resultados e discussão

Nas listas de classificação baseadas nos consensos, a vilazodona foi o antidepressivo com maior afinidade por dDAT (Figura 1, 2 e 3). Já na lista de ordenação de K_i , o antidepressivo com maior afinidade pelo dDAT foi a amitriptilina (Figura 4). No cálculo de consenso ECR e K_i , o último colocado na lista de afinidade por dDAT foi o levomilnacipram, nas outras duas listas o antidepressivo com menor afinidade por dDAT foi a bupropiona. Nosso estudo não permite explicar as razões pelas quais existem estas diferenças de afinidade entre os compostos antidepressivos pelo dDAT. Porém, algumas explicações parecem plausíveis e podem ser objetivos em estudos futuros. A estrutura química dos ligantes (material suplementar 1), por exemplo, pode ser uma das razões. Entre os primeiros e últimos colocados nas listas de classificação é possível notar uma diferença potencialmente relevantes. Tanto a vilazodona quanto a amitriptilina são ligantes maiores, com mais anéis aromáticos, o que confere uma característica mais rígida a estes antidepressivos quando comparados a bupropiona e ao levomilnacipram. Além disso, a vilazodona e a amitriptilina possuem, respectivamente, dois ou um grupamento amino. Já os últimos colocados, a bupropiona e o levomilnacipram, são antidepressivos menores, com menos anéis aromáticos, menos complexos, portanto, mais flexíveis. A bupropiona não possui nenhum grupamento amina e o levomilnacipram tem um. Na literatura, as porções aromáticas e os grupos amina são apontados como importante para a afinidade e ação inibitória dos antidepressivos nos transportadores.^{9,10} Outra possível explicação é a presença dos aminoácidos ácidos aspártico (ASP121) e serina (SER426) no sítio de ligação do dDAT, que são ausente no hDAT. Estes aminoácidos criam um ambiente polar que pode

contribuir para a baixa afinidade dos ligantes com a macromolécula.¹⁰ Outro dado interessante é a frequência que o aminoácido fenilalanina (PHE319) nas interações entre os dDATs e a amitriptilina e a vilazodona, comparado com a bupropiona e o levomilnacipram (material suplementar 2).

A frequência da PHE319 para a amitriptilina foi de 59,39% (2º aminoácido mais frequente, ficando atrás da PHE43, com 60,3%), e a frequência para a vilazodona foi de 65,45% (2º aminoácido mais frequente, atrás da valina (VAL120), com 67,58%). Para a bupropiona, a frequência foi de 41,21% (5º aminoácido mais frequente), e o levomilnacipram teve frequência de 46,67% (4º colocado). O PHE319 é apontado como um dos mais importantes para o reconhecimento dos ligantes no dDAT e para acomodar os ligantes de variados tamanhos, em grande parte porque este aminoácido consegue ajustar suas orientações no sítio de ligação.¹⁰

Conclusões

Os antidepressivos mais complexos, com mais anéis aromáticos e grupos aminas, tiveram maior afinidade pelo dDAT quando comparado com os menos complexos e com menos grupos aminas. O aminoácido PHE319 pode estar envolvido na diferença da afinidade. Estas são hipóteses para serem testadas em estudos futuros.

Agradecimentos

Agências de fomento: CAPES, CNPq e Alexander von Humboldt.

Referências e notas

- (1) Narayanan, A S.; Rothenfluh, A. *Neuropsych*, **2016**, 41, 6.
- (2) Joseph, et al. *Fro in mol bios*, **2019**, 6.
- (3) Pandey, U. B.; Nichols, C. D. *Phar rev*, **2011**, 63, 2.
- (4) Martin, C. A.; Krantz, D. E. *Neur int*, **2014**, 73.
- (5) Pidathala, S. et al. *Nat com*, **2021**, 12, 1.
- (6) Joseph, D. et al. *Fro in mol bios*, **2019**, 6.
- (7) Ortore, G. et al. *ACS Che Neu*, **2020**, 11, 20.
- (8) Penmatsa, A.; Wang, K. H.; Gouaux, E. *Nat*, **2013**, 503, 7474.
- (9) Penmatsa, A.; Wang, K. H.; Gouaux, E. *Nat str & mol bio*, **2015**, 22.
- (10) Wang, K. H.; Penmatsa, A.; Gouaux, E. *Nat*, **2015**, 521, 7552.
- (11) Wang, C. A.; Lewis, R. J. *Bio pha*, **2010**, 79, 8.
- (12) Van Alphen, B.; Van Swinderen, B. *Bra res bul*, **2013**, 92.
- (13) Araujo, S. M. et al. *Str*, **2020**.
- (14) Eckert, F. B. et al. *bioRxiv*, **2021**.
- (15) Ramos-Hryb, A. B. et al. *Str*, **2020**.
- (16) Koldsø, H.; Grouleff, J.; Schjøtt, B. *Fro in pha*, **2015**, 6.
- (17) Guedes, I. A.; De Magalhães, C. S.; Dardenne, L. E. *Bio rev*, **2014**, 6.
- (18) Triches, F. F.; Triches, F.; De Oliveira, C. L. *MetX*, **2022**, 9.
- (19) Cipriani, An. et al. *Focus*, 2018, 16, 4.
- (20) Palacio-Rodríguez, K. et al. *Sci rep*, **2019**, 9, 1.

Para acessar o material suplementar 1 clicar [aqui](#).

Para acessar o material suplementar 2 clicar [aqui](#).

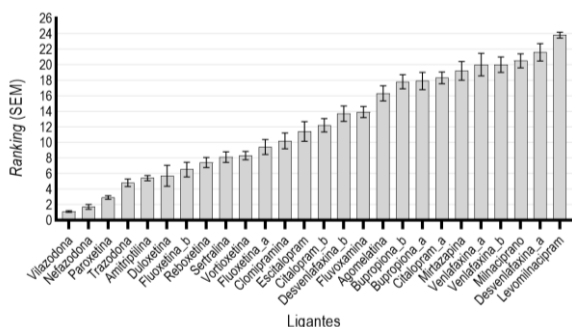


Figura 1. Consenso ECR

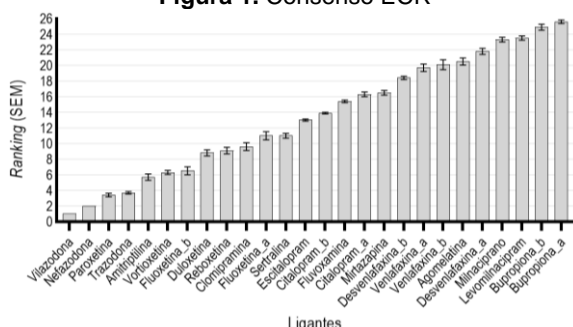


Figura 2. Consenso ECR+MS

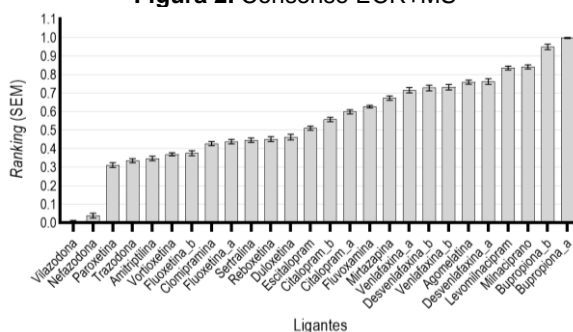


Figura 3. Consenso FL+ECR+MS

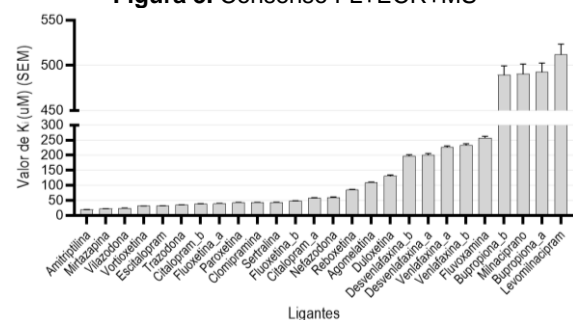


Figura 4. Constante de Inibição

Avaliação *in silico* de derivados de imidazopiridinas como potenciais inibidores de arginase de *Leishmania amazonensis*

Mariana L. Silva¹ (PG), Murilo da S. L. Rodrigues¹ (IC), Kaio M. Santiago-Silva¹ (PQ), Priscila G. Camargo¹ (PQ), Marcelle L. F. Bispo^{1*} (PQ). *mlfbispo@uel.br

¹ – Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil

Palavras-chave: leishmanioses, docking molecular, ADMET.

Introdução

As leishmanioses são um conjunto de doenças parasitárias que podem ser causadas por mais de vinte diferentes espécies do protozoário do gênero *Leishmania*. A população mais afetada por essa doença é aquela que vive em países mais pobres, portanto a leishmaniose é considerada uma doença tropical negligenciada¹. O combate a essa enfermidade apresenta grandes obstáculos relacionados à escassez de medicamentos, a toxicidade e seus efeitos adversos graves. Portanto, há a necessidade da descoberta e desenvolvimento de novos fármacos para o seu tratamento. Um passo que pode facilitar a descoberta pela redução de tempo e de custos é a descoberta de novos fármacos auxiliados por computadores, onde se insere o *docking* molecular, metodologia que tem como objetivo prever e compreender o reconhecimento molecular, através de um alvo relevante e possíveis ligantes². Dentre os possíveis alvos, há o destaque para a Arginase uma metaloenzima dependente de Mn²⁺, que é fundamental na rota metabólica e na sobrevivência do parasito, sendo assim, sua inibição é de grande interesse³.

Objetivos

Planejar novas substâncias-protótipo, identificar por meio de triagem virtual baseada em *docking* molecular, potenciais inibidores da enzima arginase de *L. amazonensis* e selecionar aquelas com melhores propriedades físico-químicas e de absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade (ADMET) para realização de ensaios *in vitro* anti-leishmania.

Metodologia

Os ligantes e seus possíveis tautômeros e enantiômeros foram desenhados em 3D com o programa Discovery Studio Visualizer (v.19.1.0.18287) e, em seguida, verificado o estado

de protonação das estruturas em pH 7,4, com o software MarvinSketch (v.19.21.0). As estruturas foram minimizadas energeticamente em campo de força MMFF94 no Avogrado (v. 2023). O modelo estrutural 3D de ARG de *L. amazonensis* (LaARG) foi construído pelo grupo de pesquisa através da técnica de modelagem por homologia usando a ferramenta MODELLER10.1, usando como modelo a arginase de *L. mexicana* (código PDB: 4ITY, resolução 1,80 Å). No GOLD (v.2020.3.0) foi realizado o *docking* molecular na cadeia A e os ligantes adicionados nas coordenadas X: 15,141 Y: -15,1248 e Z: -5,40, com o raio de 20 Å, em 50 corridas interativas por ligante nas funções ASP, GOLDScore, ChemPLP e ChemScore. A validação do protocolo de *docking* molecular foi realizada por consenso utilizando a metodologia de escala. As propriedades relacionadas a *druglikeness* e parâmetros farmacocinéticos foram preditos utilizando as plataformas online SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). Parâmetros de toxicidade foram preditos *in silico* na plataforma STopTox (<https://stoptox.mml.unc.edu/>).

Resultados e discussão

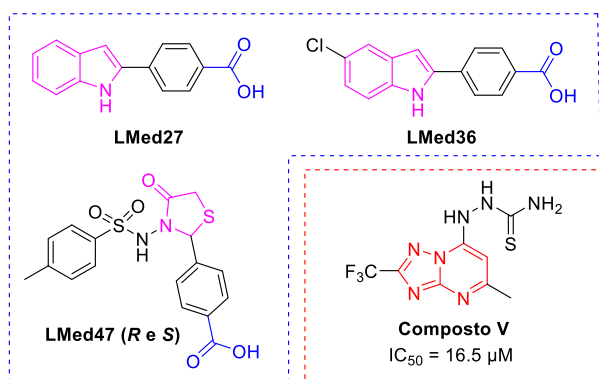
Com base em estudos prévios, nosso grupo de pesquisa identificou três potenciais inibidores de arginase de *L. amazonensis*, **LMed27**, **LMed36** e **LMed47** (**R** e **S**). Além disso, estudos conduzidos por Da Silva e colaboradores (2015)⁴ apontaram a pirazolopirimidina (**V**) como um promissor inibidor desta mesma enzima. Tendo em vista esses resultados, foram planejados 104 novos análogos, através das estratégias de bioisosterismo de anel (pirazolopirimidina, imidazopiridinas, indóis), hibridação molecular (tiazolidinonas, indol e seus bioisómeros) e mantendo-se o grupamento carboxila, que se mostrou importante para a interação com os íons Mn²⁺ do sítio catalítico (Figura 1).

Para a seleção das 10 melhores estruturas foi utilizada a metodologia de escala⁵, onde aplicou-se

a Equação 1, que relaciona os *fitness score* (FS) da substância na função (X), o menor FS da função (Xmin) e o maior FS da função (Xmax) alcançado por cada estrutura em cada função.

$$Escala = \frac{X - X_{min}}{X_{max} - X_{min}}$$

Equação 1. Cálculo da escala para classificação dos análogos.



**104 novos
análogos**

Figura 1. Planejamentos dos análogos. *Legenda:* Em vermelho, o núcleo pirazolopirimidina, em rosa: os núcleos tiazolidinona e indol, em azul: carboxila.

Assim, para a validação desse protocolo, foram calculados os valores de RMSD entre as poses obtidas nas quatro funções de cada uma das dez estruturas selecionadas para verificar se houve consenso entre as funções. Assim, seis estruturas foram selecionadas, pois obtiveram RMSD < 2 Å em pelo menos um par de funções (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de RMSD e funções sobrepostas.

Estruturas	RMSD (Å)	Funções
1R	1,61	GOLDscore e ChemScore
1S	1,06	ChemPLP e ChemScore
2R	1,37	ChemPLP e Goldscore
2S	1,60	GOLDscore e ASP
3R	0,60	ChemPLP e Chemscore
4R	1,90	ChemPLP e GOLDscore

Legenda: Em negrito a função escolhida para análise das interações.

Para a análise das interações e classificação dos análogos, foram escolhidas as funções ChemPLP e GOLDscore. Todas as estruturas selecionadas pertencem a classe das imidazopiridinas e interagiram de modo satisfatório com o alvo

molecular, porém a substância 1R foi a que apresentou melhores interações com o alvo molecular (Tabela 2).

Tabela 2. Interações realizadas por cada análogo.

Aminoácidos	Substâncias					
	1R	2R	2S	3R	4R	1S
Mn A						
Mn B						
His139						
Asp243						
His154						
Ala192						
Val193						
Asp195						
Asn143						
Thr148						
Val149						
Lys198						
Val259						
Pro258						
Arg312 (B)						
Total	12	8	13	10	11	11

■ Íon-metálica ■ Pi-pi ■ Pi-alquil ■ Orbitais pi (carboxila-fenil)
■ Hidrogênio ■ Pi-enxofre ■ Pi-sigma ■ Hidrogênio não convencional

Legenda: Em negrito os aminoácidos e íons do sítio ativo.

Além de interagir com os dois íons Mn²⁺, e com o resíduo de histidina presente no sítio ativo (His139) também realiza três interações de hidrogênio com resíduos de Asn143 e Lys198 (Figura 3). Apesar da 2S também interagir com os dois íons Mn²⁺, realiza interações fracas com outros resíduos de aminoácido, e apenas duas interações de hidrogênio com resíduos de arginina, porém da cadeia B.

Depois das análises das interações, as estruturas foram reclassificadas de acordo com o padrão apresentado de interações fortes e com resíduos relevantes para o processo catalítico (Tabela 3).

Tabela 3. Classificação das estruturas após análise das interações com LaARG.

Classificação	Estrutura
1	1R
2	4R
3	2R
4	2S
5	3R
6	1S

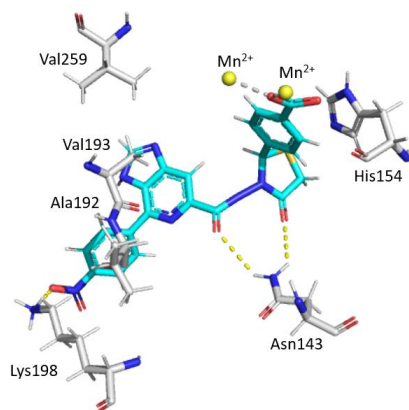


Figura 3. Interações entre 1R e LaARG.

Foi realizada a predição de parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos dos ligantes selecionados. Em suma, todas as estruturas apresentaram pouca solubilidade em água e uma absorção trato gastrointestinal baixa, porém não atravessam a barreira hematoencefálica. Em geral, violam a lei de Lipinski e Verber em relação a massa molecular, já que são estruturas relativamente grandes. Dentre elas, a que apresenta melhores resultados ADMET é a substância 4R, pois é moderadamente solúvel em água, não é inibidora de nenhuma enzima do citocromo P (CYP) e ainda de acordo com o STopTox, não apresenta alertas para toxicidade oral, dérmica, ocular ou inalatória, o que não ocorre com a 1R, que apresenta alerta para toxicidade oral.

Dentre as estruturas selecionadas, a segunda colocada 4R (Tabela 3) realizou cinco interações de hidrogênio com alguns resíduos de aminoácido e metálica com o cofator Mn^{2+} . Por fim, a substituição do anel com duas hidroxilas em 4R, permitiu uma interação de hidrogênio a mais que do que a carboxila na 1R (Figura 4).

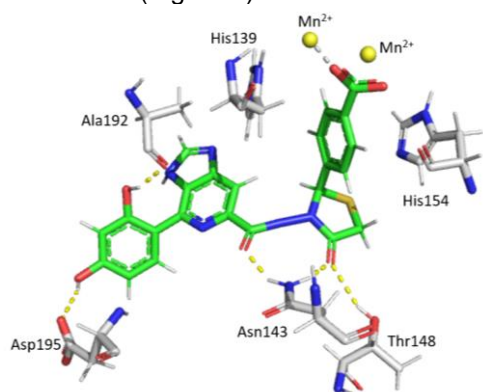


Figura 4. Interação entre o análogo 4R e a LaARG.

Ademais, como as estruturas têm um tamanho grande, a maior questão envolvida era se elas alcançariam o sítio ativo de maneira satisfatória, já os resíduos catalíticos ocupam uma área de 15 \AA^2 . Entretanto, pôde-se perceber que não só os análogos complementam bem o sítio ativo, como os seus substituintes permitem a aproximação e interações com outras partes do alvo molecular (Figura 5).

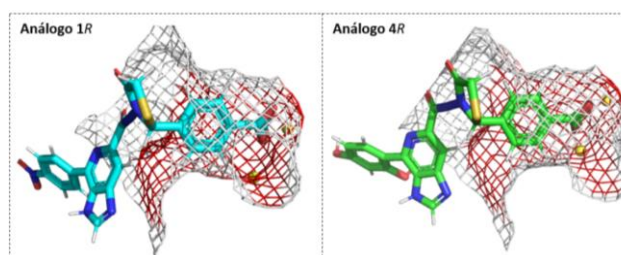


Figura 5. Complementariedade dos análogos 1R e 4R com os resíduos do sítio ativo (em malha vermelha).

Portanto, a substância 4R apresenta-se com resultados bastante promissores na inibição da LaARG, sendo necessária a comprovação de sua atividade através de testes *in vitro* de inibição enzimática e fenotípicos.

Conclusões

Apesar dos resultados positivos em relação as interações do análogo 1S com LaARG, as predições ADMET não foram tão favoráveis, porém o análogo 4R apresentou bons parâmetros ADMET e ainda interações fortes com a enzima, sendo considerado promissor, sendo necessária a comprovação de sua atividade *in vitro*.

Agradecimentos

A CAPES pela concessão das bolsas.

Referências e notas

- (1) Bennett, et al. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, **2010**, 10(5): 303–304.
- (2) Macalino, et al. Archives of pharmacal research. **2015**. 38, 1686-1701.
- (3) D'Antonio, et al. Archives of Biochemistry and Biophysics. **2013**. 535(2), 163-176.
- (4) Da Silva, et al. Chem. Biol. Drug Des. **2015**, 86, 969–978.
- (5) Wiggers et al. Molecular Informatics. **2011**. 30(6-7), 565–578.

Estratégias de Triagem Virtual para a Identificação de Inibidores de Histona Desacetilases (HDACs)

Rafael C. Q. Castro¹ (PG), Nelilma C. Romeiro^{*1} (PQ), Leandro L. Silva¹ (PQ).
^{*}nelilmaromeiro@gmail.com

1- Centro Multidisciplinar UFRJ – Macaé, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil.

Palavras-Chave: histona desacetilase, HDAC, doenças cardiovasculares, triagem virtual

Introdução

A descoberta de moléculas bioativas é um processo caro e demorado e novas estratégias são continuamente buscadas a fim de otimizar esse processo, pois desenvolver um fármaco é caro e demorado, mas descobrir uma molécula bioativa nem tanto. A triagem virtual é uma das estratégias que têm sido exploradas para a identificação de candidatos a moléculas bioativas, ou seja, de substâncias que tenham maior probabilidade de se ligar a um alvo biológico, em bibliotecas moleculares com centenas a milhares de moléculas.¹ A literatura mostra um consenso de que a integração de diferentes abordagens, computacionais e experimentais, leva a uma maior taxa de sucesso na triagem e otimização da seleção de substâncias bioativas.^{2,3}

As histonas desacetilases (HDACs) são reguladores epigenéticos da cauda de histonas, da conformação da cromatina, da interação proteína-DNA e são também modificadores pós-transcricionais que regulam a acetilação de proteínas envolvidas em vários estados fisiopatológicos.⁴ Em 2006, o SAHA (ou Vorinostat) tornou-se o primeiro HDACi a ser aprovado pelo FDA para o tratamento do linfoma cutâneo de células T.⁵

Além do papel já descrito dessas enzimas na patogênese do câncer, nos últimos anos tem sido demonstrado que elas também estão envolvidas na fisiopatologia de Doenças Cardiovasculares (DCVs).^{4,6} Estudos mostraram que inibidores de HDACs, entre várias outras ações, têm efeito cardioprotetor e reduzem marcadores de estresse oxidativo e inflamação em modelos de hipertensão arterial sistêmica.^{7,8}

Objetivos

Este trabalho tem como objetivo realizar *estudos in silico* integrados, baseados no ligante e na estrutura 3D do biorreceptor, visando a seleção,

obtenção e avaliação farmacológica de produtos naturais, derivados e análogos destes, candidatos a inibidores de HDACs de importância reconhecida em doenças cardiovasculares.

Metodologia

Utilizou-se a plataforma Pharmit (<https://pharmit.csb.pitt.edu/>) para a construção de farmacóforo a partir da molécula de Vorinostat e suas interações com sítios de HDACs e foi feita pesquisa de moléculas com estrutura semelhante nos bancos de dados do ZINC, NuBBE (Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais da Unesp) e do DrugBank. As moléculas encontradas nestes bancos de dados foram submetidas a filtros moleculares de *score* máximo de -6KJ e mRMSD máximo de 2 Å, ainda no Pharmit, potencial cardiotoxicidade decorrente da inibição de hERG utilizando as plataformas admetSAR (<http://lmd.ecust.edu.cn/admetSAR2/>) e pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsM/prediction/>), e moléculas com atividade em HDAC já avaliada foram eliminadas.

Estas últimas foram submetidas a estudos de similaridade ao Vorinostat no *software* KNIME Analytics Platform 4.7.4 utilizando dois diferentes tipos de *fingerprints* moleculares (circulares ECFP4 e MACCS) e Tanimoto como medida de similaridade.

Resultados e discussão

Foram encontradas 9352 com farmacóforo semelhante ao SAHA nos bancos de dados do ZINC/NuBBE e 1879 moléculas nos bancos de dados do DrugBank. Após a aplicação dos filtros moleculares chegou-se a 75 e 28 moléculas, respectivamente.

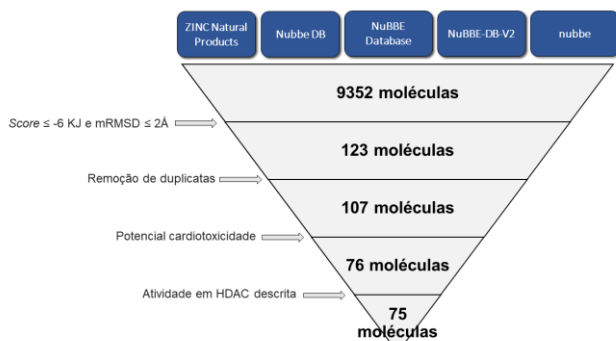


Figura 1. Esquema de filtros moleculares aplicados nos resultados obtidos nos bancos de dados do ZINC/NuBBE e os resultados obtidos após o emprego destes.

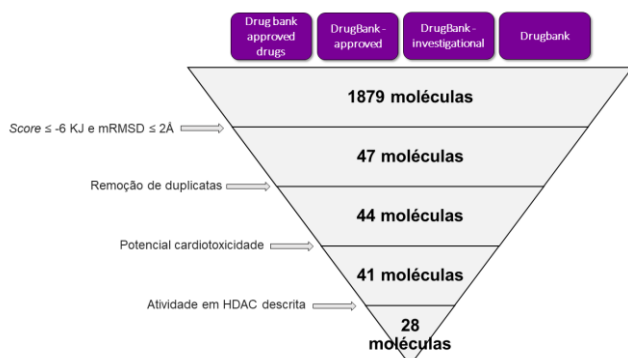


Figura 2. Esquema de filtros moleculares aplicados nos resultados obtidos nos bancos de dados do DrugBank e os resultados obtidos após o emprego destes.

Com a submissão destas moléculas ao estudo de similaridade molecular, demonstrou-se melhor aplicação do *fingerprint* MACCS após os ensaios, apresentando 5 (cinco) moléculas acima de 50% de similaridade em relação ao SAHA, sendo 3 moléculas provenientes dos bancos de dados do DrugBank e 2 oriundas dos bancos de dados do ZINC.

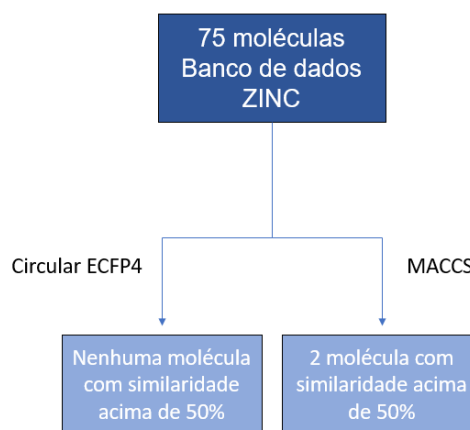


Figura 3. Resultados do estudo de similaridade molecular das moléculas oriundas do ZINC/NuBBE frente ao SAHA utilizando *fingerprints* circulares ECFP4 e MACCS.

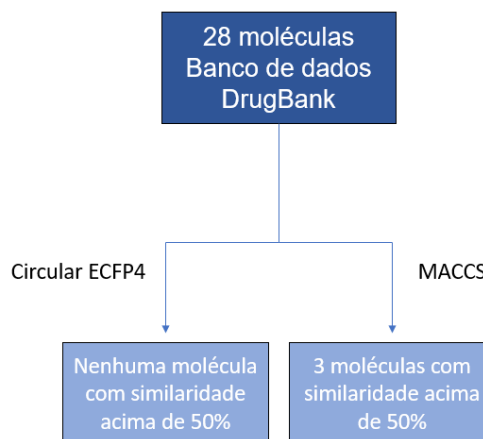


Figura 4. Resultados do estudo de similaridade molecular das moléculas oriundas do DrugBank frente ao SAHA utilizando *fingerprints* circulares ECFP4 e MACCS.

Conclusões

Partindo de um universo de 231.904 moléculas provenientes dos bancos de dados escolhidos, ao utilizar as estratégias de triagem virtual a fim de descobrir as moléculas com maior potencial de inibição de HDAC, chegou-se ao resultado de 5 moléculas após a aplicação de inúmeros filtros moleculares.

Planeja-se realizar estudo de *docking* molecular com o programa GOLD versão 5.8.1 com as estruturas 3D das HDACS e os potenciais ligantes selecionados após os filtros moleculares e estudos de similaridade. Assim, pretende-se investigar os

valores de *score* e as potenciais interações intermoleculares dos ligantes sugeridos, comparando-as com aquelas realizadas por inibidores conhecidos.

Referências e notas

- (1) Da Silva Rocha, S. F. L. et al. *Current topics in medicinal chemistry*, **2019**, 19, 1751-1767.
- (2) Glick, M.; Jacoby, E. *Current opinion in chemical biology*, **2011**, 15, 540-546.
- (3) Leveridge, M., Chung, C. W., Gross, J. W., Phelps, C. B., & Green, D. *SLAS discovery: advancing life sciences R&D*, **2018**, 23, 881-897.
- (4) Li, P., Ge, J., & Li, H. *Nature reviews. Cardiology*, **2020**, 17, 96-115.
- (5) Mann, B. S., Johnson, J. R., Cohen, M. H., Justice, R., & Pazdur, R. *The oncologist*, **2007**, 12, 1247-1252.
- (6) Fukushima, A., & Lopaschuk, G. D. *Biochimica et biophysica acta*, **2016**, 1862, 2211-2220.
- (7) Iyer, A., Fenning, A., Lim, J., Le, G. T., Reid, R. C., Halili, M. A., Fairlie, D. P., & Brown, L. *British journal of pharmacology*, **2010**, 159, 1408-1417.
- (8) Cardinale, J. P., Sriramula, S., Pariaut, R., Guggilam, A., Mariappan, N., Elks, C. M., & Francis, J. *Hypertension*, **2010**, 56, 437-444.

Atividades biológicas da flavona cirsimarina

Anna Gabriele Prado dos Santos¹ (IC), Celina Yung-Ai Lin Lee¹ (IC), Juliana Mara Serpeloni^{1*} (PQ).
*julianaserpeloni@uel.br

1-Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras-Chave: Flavonas, Cirsimarina, Cirsitakaoside

Introdução

Atualmente, o estudo de plantas medicinais, seus extratos e compostos isolados tem crescido, visto que são compostos naturais com grande capacidade terapêutica para diversos tipos de doenças.¹ Uma classe de fitoquímicos extraídos de plantas é a dos flavonoides, metabólitos secundários que dão cor, fragrância e sabor,² desempenhando papéis essenciais em muitos processos biológicos.³ A flavona cirsimarina (CIR) (sinônimo Cirsitakaoside) é um flavonoide com atividades biológicas pouco investigadas, porém, os resultados existentes já a tornam muito promissora para o tratamento de doenças como obesidade, câncer e doenças inflamatórias.

Objetivos

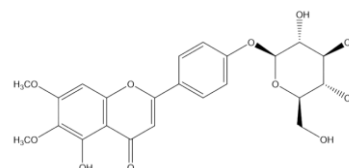
Dessa maneira, o objetivo desse trabalho foi levantar os dados da literatura de todos os estudos existentes com a flavona cirsimarina à cerca de suas atividades biológicas.

Metodologia

Tendo em vista o potencial dos flavonoides no tratamento de doenças, foi feito o levantamento bibliográfico da cirsimarina por meio das palavras chaves “flavona + cirsitakaoside”, “flavona + cirsimarina” no PubMed Central, onde artigos originais foram utilizados para a pesquisa dos potenciais efeitos biológicos dessa flavona. Como resultado da pesquisa, foram encontrados apenas 12 artigos dessa flavona que foram usados nessa revisão.

Resultados e discussão

A flavona cirsimarina (Figura 1) é extraída das partes aéreas de diferentes plantas, apresentando atividades biológicas diversas (Quadro 1).



Fonte: Figura 1. Estrutura química da flavona Cirsimarina.

Quadro 1. Atividades biológicas da flavona cirsimarina.

Origem da cirsimarina	Modelo	Atividade biológica
<i>Premna szemaoensis</i>	<i>In vitro</i>	Anti-inflamatória
	<i>In vivo</i>	Anti-inflamatória
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	<i>In vitro</i>	Anti-inflamatória
<i>Microtea debilis</i>	<i>In vitro</i>	Anti-inflamatória
		Não apresentou atividade citotóxica
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>maackii</i>	<i>In vitro</i>	Anti-inflamatória
		Não suprimiu a HIF-2α
<i>Scoparia dulcis</i> L.	<i>In vitro</i>	Anti-migratória
		Antiproliferativa
		Citotóxica
<i>Scoparia dulcis</i> L.	<i>In vitro</i>	Potencial mutagênico
	<i>In vivo</i>	Ausência de clastogenicidade
<i>Microtea debilis</i>	<i>In vitro</i>	Lipolítica
<i>Microtea debilis</i>	<i>In vivo</i>	Anti-lipogênica
<i>Microtea debilis</i>	<i>In vitro</i>	Lipolítica
	<i>In vitro</i>	Anti-lipogênica
<i>Microtea debilis</i>	<i>In vitro</i>	Lipolítica
		Lipolítica
<i>Premna szemaoensis</i>	<i>In vivo</i>	Antiviral
	<i>In vitro</i>	Antiviral
<i>Macaranga denticulata</i>	<i>In vivo</i>	Antiviral
	<i>In vitro</i>	Antiviral

A CIR extraída da planta *Premna szemaoensis*, *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* e *Cirsium japonicum* var. *maackii* apresentou ação anti-inflamatória. Para desencadear o processo inflamatório é necessário um estímulo, como um PAMP (Padrão Molecular Associado ao Patógeno), como estruturas bacterianas (LPS) e virais, e um DAMP (Padrão Molecular Associado ao Dano), como o aparecimento de proteínas nucleares fora da célula.⁴ Após o sistema imunológico reconhecer esses padrões, o processo inflamatório será desencadeado e as células de defesa, como os macrófagos, irão combater o agente agressor por meio da liberação de diversos mediadores.⁴ A CIR inibiu a ativação de macrófagos *in vivo* e *in vitro* quando estimulados pelo lipopolissacarídeo (LPS), um padrão molecular associado a uma bactéria reconhecida pelo sistema imunológico, consequentemente inibindo a liberação de diversos mediadores inflamatórios para o combate bacteriano.^{5,6} Quando extraída da *Cirsium japonicum* var. *maackii*, a CIR apresentou atividade anti-inflamatória ao inibir a enzima COX-2, responsável pela síntese de prostaglandinas, porém não teve capacidade de inibir o fator induzível por hipóxia 2 alfa (HIF-2 α), responsável pela destruição da cartilagem, implicando na progressão da osteoartrite (uma doença inflamatória).⁷ A cartilagem é um tecido avascular, sendo suprida com baixas quantidades de oxigênio ao longo da vida pelo líquido sinovial.⁸ O HIF-2 α é altamente expresso em cartilagens osteoartíticas, sendo responsável por induzir a apoptose e autofagia em condrócitos por meio da indução desses à hipóxia, colaborando para o desenvolvimento da doença.⁸ A CIR (extraída da *Microtea debilis*), demonstrou fraca atividade anti-inflamatória e não apresentou atividade citotóxica em linhagens de tumores de fígado como a HepG2, intestino (COLO-205) e leucêmicas HL-60.⁹ Dessa maneira, a CIR pode colaborar para o controle da reação inflamatória, se tornando uma candidata para tratamento de doenças inflamatórias.

A CIR extraída da *Premna szemaoensis* e *Macaranga denticulata* demonstrou atividades antivirais contra o vírus da estomatite vesicular *in vitro* e *in vivo*, ao aumentar a resposta imune inata por meio da expressão de interferon 1, estabelecendo um estado antiviral.¹⁰ O sistema imune inato lida com infecções virais, induzindo a expressão de interferon I cuja função mais importante é inibir a replicação viral.¹¹ O interferon I é produzido pela célula infectada pelo vírus, atuando principalmente em células vizinhas não

infectadas de forma parácrina, induzindo expressão de enzimas que vão bloquear a replicação viral.¹¹

Estudos *in vitro* mostraram que, quando extraída da planta medicinal *Scoparia dulcis* L., essa flavona teve capacidade anti-migratória, antiproliferativa e citotóxica em células tumorais da mama (MCF-7), demonstrando ser uma potencial droga anticâncer visto que suas capacidades inibiriam o desenvolvimento tumoral.¹² Em relação a capacidade anti-migratória, temos que a migração celular contribui para diversos processos fisiológicos como o processo inflamatório, a cicatrização de feridas e a embriogênese.¹³ Contudo, a migração e invasão celular também estão presentes em processos patológicos, como a metástase. A metástase é uma das principais causas de letalidade em pacientes oncológicos, e consiste na capacidade de células de um tumor primário migrarem, por meio da corrente sanguínea, para outros tecidos.¹⁴ A importância da atividade antiproliferativa e citotóxica em células tumorais advém da capacidade replicativa descontrolada de células tumorais, portanto a parada dessa proliferação exacerbada e a morte das células mutadas é de extrema importância no combate ao tumor. Quando avaliadas as atividades biológicas da CIR extraída dessa mesma planta, outros autores demonstraram atividade mutagênica *in vitro* devido ao aumento de alterações cromossômicas, resultado que não foi apresentado *in vivo*,¹⁵ mostrando que o composto após passar por metabolismo se torna inerte, não causando dano.

A CIR (extraída da *Microtea debilis*) também demonstrou atividade lipolítica. A lipólise, quebra dos lipídios em ácidos graxos e glicerol, é estimulada devido a um aumento da concentração intracelular de AMPc e impedida devido a diminuição da concentração desse nucleotídeo cíclico.¹⁶ Se o AMPc sofre hidrólise por fosfodiesterases, a lipólise é inibida. Dessa maneira, estudos demonstraram que a cirsimarina é um potente inibidor de fosfodiesterase e estimulador de lipólise *in vitro*.¹⁶ A hipótese é fortalecida quando estudos comprovaram que a cirsimarina (extraída da *Microtea debilis*) é um potente antagonista de receptores de adenosina 1.¹⁷ A adenosina é um fator antilipolítico, atuando nos receptores A1.¹⁸ Dessa maneira, se a cirsimarina apresenta capacidade de antagonizar os receptores de adenosina, o efeito lipolítico será estimulado. Estudos demonstraram que essa flavona possui atividade anti-lipogênica *in vivo* e *in*

vitro, ou seja, inibe a deposição de gordura no tecido adiposo, demonstrando concordância às atividades lipolíticas, tornando essa molécula um potencial candidato para tratamento de obesidade.^{19,20}

Conclusões

A presente revisão mostra que a cirsimarina é uma flavona promissora para o tratamento de doenças inflamatórias, obesidade e câncer. Dessa maneira, mais estudos devem ser realizados a fim de compreender melhor os mecanismos pelos quais a cirsimarina exerce suas atividades biológicas.

Referências e notas

- (1) Moragrega, I.; Ríos, J. L. *Planta Médica*. **2001**, 87, 656-685.
- (2) Dias, M. C.; Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.. *Molecules*, **2021**, 26, 5377.
- (3) Shen, N.; Wang, T.; Gan, Q.; Liu, S.; Wang, L.; Jin, B. *Food Chemistry*, **2022**, 383, 132531.
- (4) Robbins, S. L.; Cotran, R. S.; Kumar, V. Elsevier, 2010.
- (5) Zhu, H.; Pu, D.; Di, Q.; Zhao, X.; Ji, F.; Li, H.; Zhao, Z.; Gao, J.; Xiao, W.; Chen, W. *International Immunopharmacology*, **2018**, 59, 384-390.
- (6) Han, H.-S.; Shin, J.-S.; Lee, S.-B.; Park, J. C.; Lee, K.-T. *Chemico-Biological Interactions*, **2018**, 293, 38-47.
- (7) Cho, C.; Kang, L.; Jang, D.; Jeon, J.; Lee, H.; Choi, S.; Han, S. J.; Oh, E.; Nam, J.; Kim, C. S.; Park, E.; Jeong, S.; Park, C. H.; Shin, Y. S.; Eyun, S.; Yang, S. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **2019**, 23, 5369-5379.
- (8) Zhang, F.-J.; Luo, W.; Lei, G.-H. *Joint Bone Spine*, **2015**, 82, 144-147.
- (9) Bai, N.; He, K.; Roller, M.; Lai, C.-S.; Shao, X.; Pan, M.-H.; Bily, A.; Ho, C.-T. *Fitoterapia*, **2011**, 82, 168-172.
- (10) Di, Q.; Zhu, H.; Pu, D.; Zhao, X.; Li, X.; Ma, X.; Xiao, W.; Chen, W. *International Immunopharmacology*, **2020**, 86, 106783.
- (11) Abbas, A. K.; Lichtman, A. H. H.; Pillai, S. Elsevier Editora Ltda., 2015.
- (12) Serpeloni, J. M.; Oliveira, L. C. B.; Fujiiike, A.; Tuttis, K.; Ribeiro, D. L.; Camara, M. B. P.; Rocha, C. Q.; Cólus, I. M. S. *Toxicology in Vitro*, **2022**, 83, 105416.
- (13) Bouchalova, P.; Bouchal, P. *Cancer Cell International*, **2022**, 22, 394.
- (14) Suhail, Y.; Cain, M. P.; Gireesan, K. V.; Kurywchak, P. A.; Levchenko, A.; Kalluri, R.; Kshitiz. *Cell Systems*, **2019**, 9, 109-127.
- (15) Pereira-Martins, S. R. Takahashi, C. S.; Tavares, D.C.; Torres, L.M. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, **1998**, 18, 293-302.
- (16) Girotti, C.; Ginet, M.; Demarne, F. C.; Lagarde, M.; Géloën, A. *Planta Medica*, **2005**, 71, 1170-1172.
- (17) Hasrat, J. A.; Pieter, L.; Claeyss, M.; Vlietinck, A.; de Backer, J. P.; Vauquelin, G. *Journal of Natural Products*, **1997**, 60, 638-641.
- (18) Dhalla, A. K.; Shryock, J. C.; Shreeniwas, R.; Belardinelli, L. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2003**, 3, 369-385.
- (19) Zarrouki, B.; Pillon, N. J.; Kalbacher, E.; Soula, H. A.; N'Jomen, G. N.; Grand, L.; Chambert, S.; Geloën, A.; Soulage, C. O. *International Journal of Obesity*, **2010**, 34, 1566-1575.
- (20) SOULAGE, C. O.; Grand, L.; Géloën, A.; Chambert, S. *Tetrahedron Letters*, **2012**, 53, 480-483.

Fármacos multi-alvos: Uma estratégia no planejamento racional de moléculas para o tratamento da doença de Alzheimer

Natan L. Chanca¹ (GD), João Victor de S. Coutinho¹ (GD), Felipe B. Bergamin¹ (GD), Nathália D. de C. Louzada¹ (GD), João Victor X. de Oliveira¹ (GD), Otoniel de A. Azevedo¹ (PQ)*. otonielazevedo@saocamilo-es.br

1 - Departamento de Química, Centro Universitário São Camilo, ES - Brasil.

Palavras Chave: Terapia Combinada, Fármacos Multi-Alvos, Doença de Alzheimer.

Introdução

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa progressiva que afeta o cérebro, causando perda de memória e cognição. Caracteriza-se por placas de beta-amiloide e emaranhados neurofibrilares no cérebro. Com o envelhecimento da população, sua prevalência tem aumentado, tornando-se um desafio para a saúde pública¹. O desenvolvimento de tratamentos efetivos para a DA enfrenta obstáculos significativos em virtude de sua complexidade multifatorial e das limitações inerentes às abordagens terapêuticas centradas em alvos únicos. Nesse contexto, estratégias multi-alvos assumem um papel crucial, visando abordar essa complexidade e direcionar esforços rumo a terapias mais eficazes e abrangentes².

Alguns exemplos de fármacos multi-alvos para a DA incluem a Rivastigmina, Memantina e Donepezil. Esses compostos foram projetados para interagir com múltiplos alvos patológicos, como inibidores de colinesterase e antagonistas de receptores NMDA, visando melhorar a função cognitiva e reduzir os efeitos da doença. Avanços recentes na pesquisa de fármacos multi-alvos para a DA incluem compostos anti-amiloide e anti-tau simultâneos, impulsionados por tecnologias avançadas de triagem e modelagem computacional. No entanto, desafios permanecem devido à complexidade da doença, falta de conhecimento completo dos mecanismos patológicos e a necessidade de estudos clínicos mais abrangentes para validar a eficácia e segurança desses compostos².

Objetivos

O objetivo desta revisão é investigar e analisar os avanços e limitações dos fármacos multi-alvos no tratamento da DA. Pretende-se compreender como esses compostos têm sido desenvolvidos para

interagir com múltiplos alvos patológicos, destacando suas vantagens na abordagem da complexidade da doença.

Metodologia

Este trabalho adotará uma metodologia de revisão bibliográfica da literatura. Será realizada uma busca abrangente em bases de dados científicas, como *PubMed*, *Scopus* e *Web of Science*, utilizando palavras-chave relacionadas a "fármacos multi-alvos", "doença de Alzheimer" e "terapia combinada". Os critérios de inclusão e exclusão serão aplicados para selecionar os estudos relevantes e de alta qualidade. A análise dos artigos selecionados será conduzida para identificar os avanços recentes em fármacos multi-alvos para a DA, bem como as limitações e desafios enfrentados nessa área de pesquisa. Os resultados serão sintetizados e apresentados de forma clara e objetiva, contribuindo para a compreensão do atual estado da arte e fornecendo informações valiosas para futuras investigações sobre tratamentos eficazes para essa complexa doença neurodegenerativa.

Resultados e discussão

Os fármacos multi-alvos têm mostrado resultados promissores em comparação com as abordagens de alvo único. Isso ocorre porque a DA é uma doença multifatorial, envolvendo uma série de eventos bioquímicos e alvos proteicos interconectados. Portanto, atingir múltiplos alvos patológicos pode ser mais eficiente do que atingir apenas um alvo específico. Ao interagir com múltiplos alvos biológicos envolvidos na patologia da DA, em diferentes mecanismos de ação, pode culminar com a formação de placas amiloides, reduzir a inflamação cerebral e modular a expressão de proteínas. A interação com múltiplos

alvos biológicos pode ter um efeito sinérgico na patologia da doença³, como é demonstrado na Figura 1.

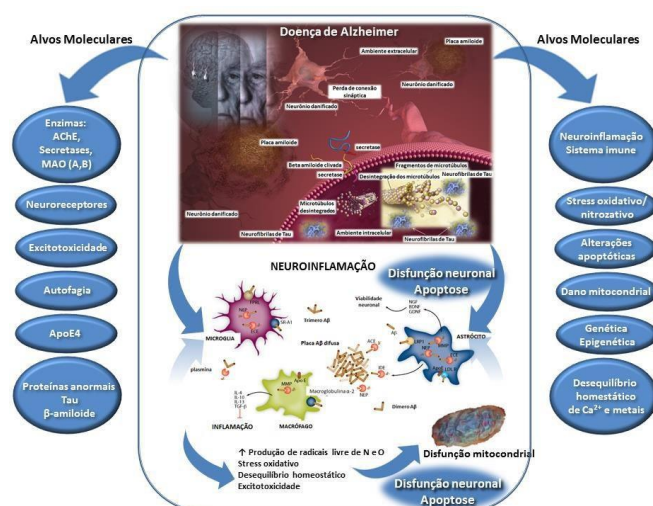


Figura 1. Aspectos multifatoriais associados à doença de Alzheimer e potenciais alvos moleculares para o desenvolvimento de novos fármacos⁴.

A utilização de fármacos multi-alvos pode reduzir efeitos colaterais indesejados e melhorar a tolerância e a segurança do tratamento, pois o fato de atuar em múltiplos alvos reduz a toxicidade e conseqüentemente melhora a tolerância do tratamento, pois o paciente precisará usufruir de menos tomadas medicamentosas⁵, elucidando o paradigma da “bala mágica” de Paul Erlich, apresentado na Figura 2.

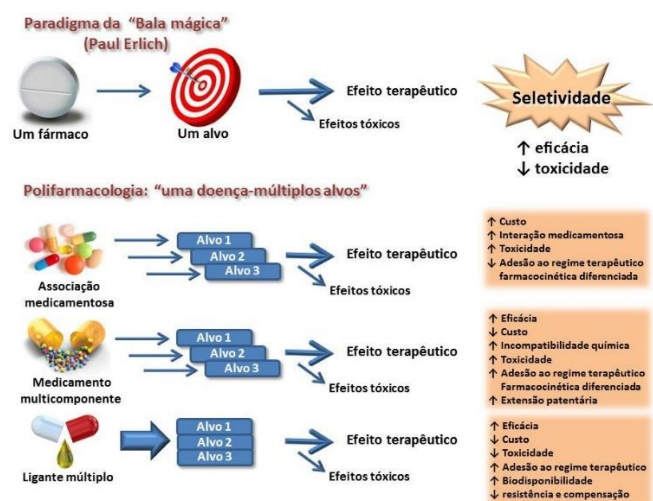


Figura 2. Considerações sobre a abordagem

reducionista, conhecida como “bala mágica”, e a polifarmacologia em termos conceituais⁶.

Ao interagir com tais alvos patológicos, esses compostos dificultam a adaptação das células, resultando no retardamento ou prevenção do desenvolvimento de resistência. Essa estratégia promissora pode aprimorar a eficácia terapêutica e a durabilidade do tratamento para doenças complexas, como a DA. Entretanto, para otimizar a seleção de alvos e compreender plenamente os mecanismos subjacentes, são requeridas pesquisas mais aprofundadas⁷.

O desenvolvimento de fármacos para este tipo de condição patológica apresenta desafios e limitações, como a toxicidade, a seleção de alvos apropriados e a complexidade na identificação de interações sinérgicas. Além disso, a avaliação da eficácia pode ser difícil e o custo pode ser mais alto do que o desenvolvimento de fármacos que atuam em um único alvo. No entanto, a estratégia de fármacos multi-alvos pode ser uma abordagem inovadora para o planejamento de fármacos contra a doença de Alzheimer, visando à descoberta de entidades químicas capazes de atuar em múltiplos alvos simultaneamente⁴.

Conclusões

As conclusões deste estudo corroboram a relevância da abordagem de fármacos multi-alvos no contexto do tratamento da DA. Os resultados obtidos robustecem a hipótese de que medicamentos que atuam em múltiplos alvos são capazes de mitigar de maneira significativa os efeitos colaterais indesejados, promovendo, assim, uma maior tolerância e segurança durante o processo terapêutico. Essas conclusões e contribuições fornecem uma base promissora para futuros estudos e avanços no campo da pesquisa de tratamentos para a doença, com o objetivo de proporcionar melhores opções terapêuticas e melhorar a qualidade de vida dos pacientes afetados por essa condição neurodegenerativa.

Agradecimentos

Expressamos nossos sinceros agradecimentos a todos os envolvidos neste estudo, a FAPES (Fundação de Apoio à Pesquisa do Espírito Santo) pela bolsa concedida, ao Centro Universitário São Camilo e a comissão do III simpósio de Química

Farmacêutica & Medicinal pela oportunidade de discutir tal temática.

Referências e notas

- (1) Selkoe, D.J.; Hardy, J. *EMBO Molecular Medicine*. **2016**; 8(6): 595-608.
- (2) Dias, K. S. T.; de Paula, C. T.; Riquiel, M. M.; Lago, S. T.; Costa, K. C. M.; Vaz, S. M.; Machado, R. P.; Lima, L. M. S.; Viegas Junior, C. *Rev. Virtual Quim.*, **2015**, 7(2): 609-648.
- (3) Mckenna, M.; Proctor, G. R.; Young, Louise et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1997**, 40(22): 3516–3523.
- (4) Torres, A-G.; Sölhuber, M.; Fernandez, M.; Sanchez-Montero, J.M. *Curr. Neuropharmacol.*, **2014**; 12(1): 2–36.
- (5) Barbosa, M. L. C. *Rev. Virtual Quim.*, **2015**, 7(2): 576-593.
- (6) King, F. D.; *In Medicinal Chemistry: Principles and Practice*; The Royal Society of Chemistry, Inglaterra, **1994**.
- (7) Rosini, M.; Andrisano, V.; Bartolini, M.; Bolognesi, M. L.; Hrelia, P.; Minarini, A.; Tarozzi, A.; Melchiorre, C. J. *Med. Chem*. **2005**, 48(2): 360–363.

Categoria: Revisão (R-C-PG-1)

Maresina-2 (MaR2): novo mediador lipídico pró-resolução especializado

Beatriz H. S. Bianchini^{1*} (PG), Jessica Ap. Carneiro¹ (PG), Waldiceu Ap. Verri Jr¹ (PQ).
beatriz.hoffmann@uel.br

¹, Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras Chave: SPMs, Maresina-2, Inflamação, Dor.

Introdução

O organismo conta com um sistema integrado de defesa, no qual células e moléculas funcionam cooperativamente para responder rapidamente a danos ou infecções, denominado de imunidade inata ou imunidade natural, sendo a primeira linha de defesa¹.

Uma das principais reações geradas pelo sistema imune é a inflamação, resposta do corpo à invasão patogênica e estímulos agressores que podem ou não gerar injúrias teciduais e celulares, onde o reconhecimento da agressão é o primeiro evento para uma resposta defensiva que se dá por meio da identificação de moléculas presentes no agente agressor ou geradas em resposta à agressão com componentes do próprio organismo². As moléculas existentes em patógenos que podem ser reconhecidas pelo organismo recebem o nome de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), enquanto as que são resultado das alterações em moléculas do organismo ou de estresse metabólico são denominadas de padrões moleculares associados a danos (DAMPs). A maioria das células expressa reconhecimento padrão (PRRs), sendo que fagócitos, incluindo neutrófilos, macrófagos, e células dendríticas expressam em maior número e variedade^{9,10}.

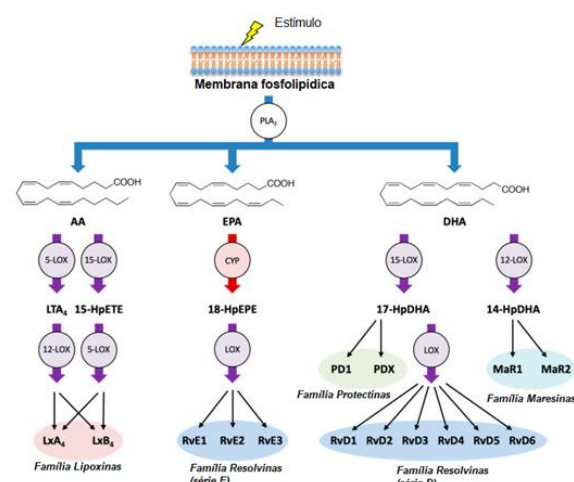
A inflamação aguda é uma resposta de curto prazo que geralmente resulta, após o processo resolutivo, na cura, onde os leucócitos se infiltram na região danificada, removendo o estímulo e reparando o tecido. Clinicamente, a inflamação causa os sinais cardinais calor, rubor, edema, dor e perda de função¹. A dor, um dos cinco sinais cardinais da inflamação, é um sintoma presente em diversas doenças e é conhecida como um problema de saúde internacional, devido à alta procura por atendimento médico⁶.

Cronologicamente, a resposta inflamatória aguda é caracterizada por edema precoce do tecido que

leva de segundos a minutos, seguido por infiltração de neutrófilos em minutos a horas^{1,2}. Posteriormente, células mononucleares, algumas das quais são diferenciadas em macrófagos de fenótipo anti-inflamatório e pró-resolutivo (M2), são importantes para geração de mediadores pró-resolução especializados (SPMs) que contribuem para o retorno da homeostase⁴. Se a inflamação aguda não se resolver, pode se converter em uma inflamação crônica^{1,2}.

A resolução da inflamação é um processo ativo, rigidamente regulado por moléculas derivadas de ácido graxo ômega 6 como o ácido araquidônico (AA) e ômega 3 como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosaexaenóico (DHA), os chamados SPMs, subdivididos na família das Lipoxinas, Resolvinas, Protectinas e Maresinas (Fig. 1)^{7,12}.

Figura 1. Vias biossintéticas dos mediadores lipídicos pró-resolução especializados (SPMs).



Fonte: Adaptado de Yasukawa *et al.*, 2020.²

Objetivos

Esta pesquisa teve como objetivo descrever a biossíntese do novo mediador lipídico Maresina 2 recentemente identificado e apontar suas ações no controle da dor e inflamação.

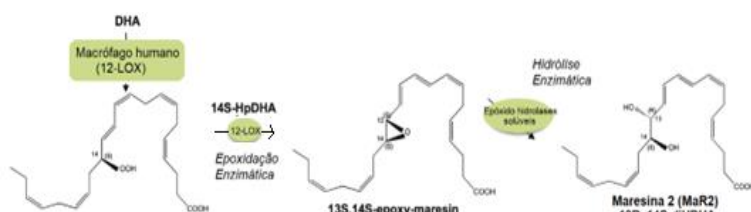
Metodologia

Trata-se de uma revisão bibliográfica, com a utilização dos termos “Mediadores lipídicos pró-resolução” e “Maresina 2”; a busca por dados de forma livre orientada foi realizada na base de dados Pubmed. A busca ocorreu em julho de 2023, e para seleção dos dados foi adotado os critérios de inclusão, estudos publicados nos últimos 10 anos (2013-2023), e critérios de exclusão, artigos que não atendessem aos critérios de inclusão pré-estabelecidos e artigos duplicados, com o intuito de selecionar os estudos que atendessem a pertinência e consistência do conteúdo abordado. Assim, a busca de dados resultou em 5 estudos, que foram lidos na íntegra e selecionados para a criação dos resultados.

Resultados e discussão

A Maresina 2 (MaR2) é um membro da quarta família de mediadores lipídicos que tem sua biossíntese (Fig. 2) via 12-lipoxigenase humana (12-LOX) a partir do ômega 3 derivado do DHA por macrófagos, seguido de epoxidação do intermediário 14 hidropoxi, que é subsequentemente convertido em 13S,14S-epoxi-maresina convertido em novo produto macrófago bioativo (13R, 14S-diidroxi-4Z, 7Z, 9E, 11E, 16Z, 19Z-ácido hexaenóico) evidenciado de MaR2³.

Figura 2. Biossíntese da Maresina 2.



Fonte: Adaptado de Deng *et al.*, 2014.

A descoberta dos mediadores lipídicos mudou o conceito de como a inflamação termina, demonstrando que a resolução da inflamação é um

processo ativo^{7,12}. Os mesmos são responsáveis por orquestrar o processo de resolução da inflamação com eventos celulares específicos, detêm capacidade de parar a infiltração e ativação de neutrófilos, induzem atividade fagocítica de macrófagos para células apoptóticas e micróbios, eliminam leucócitos de superfícies mucosas e apresentam ações antimicrobianas aprimoradas, retornando a homeostase^{3,12}. Apesar de recente, estudos demonstram que a MaR2 apresenta ações semelhantes aos demais SPMs, com ações analgésicas e anti-inflamatórias no contexto de dor inflamatória (Tabela 1).

Tabela 1. Evidências analgésicas e anti-inflamatórias pré-clínicas da Maresina-2.

A	Ações analgésicas e anti-inflamatórias
Deng <i>et al.</i> , 2014	↓ Infiltração PMN ↑ Fagocitose
Fattori <i>et al.</i> , 2022	↓ Comportamentos de dor espontânea ↓ Hiperalgisia mecânica e térmica ↓ Liberação de citocinas pró-inflamatórias
Yu <i>et al.</i> , 2022	↓ Alterações patológicas nos pulmões ↓ Estresse oxidativo
Miranda <i>et al.</i> , 2023	Reparo endotelial
Lopes <i>et al.</i> , 2023	inibe a dor trigeminal inflamatória e neuropática

Fonte: O próprio autor.

Conclusões

Os tratamentos atuais para o controle da dor e inflamação além de apresentarem diversos efeitos colaterais, alto custo e têm suas limitações. Os mediadores lipídicos pró-resolução apresentam vantagens como a atividade na faixa de picogramas/nanogramas, o que potencialmente reduz seu custo. Ademais, esses lipídios não favorecem infecções e em alguns casos favorecem a atividade de antibióticos. Por tanto, o estudo da utilização da Maresina 2 como potencial abordagem terapêutica para o tratamento da dor e inflamação se caracteriza plausível, tendo em vista a necessidade de novas terapias.

Agradecimentos

Agradeço ao Laboratório de Dor, inflamação, neuropatia e câncer (LADINC) da Universidade Estadual de Londrina, o Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental e a CAPES e demais agências de fomentos.

Referências e notas

- (1) ABBAS, A. K.; KUMAR, V.; FAUSTO, N. Robbins & Cotran - Patologia. [s.l.: s.n.].
- (2) ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Imunidade celular e molecular. [s.l.: s.n.].
- (3) ARNARDOTTIR, H. H. et al. The Journal of Immunology, v. 193, n. 8, p. 4235–4244, 2014.
- (4) DENG, B. et al.. PLoS ONE, v. 9, n. 7, 2014.
- (5) FATTORI, V. et al. Neuropharmacology vol. 216 (2022): 109189.
- (6) IASP. IASP Taxonomy - IASP, 2012.
- (7) LEVY, B. D.; SERHAN, C. N. Resolution and Regulation of Inflammation. [s.l.] Elsevier Inc., 2014.
- (8) LOPES, R. et al. Current research in neurobiology vol. 4 100093. 8 Jun. 2023,
- (9) MATZINGER, P. Science, v. 296, n. 5566, p. 301–305, 2002.
- (10) MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C. A. Science, v. 296, n. 5566, p. 298–300, 2002.
- (11) MIRANDA, J. et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America vol. 120,4 (2023): e2218162120.
- (12) SERHAN, C. N. Nature, v. 510, n. 7503, p. 92–101, 2014a.
- (13) YASUKAWA, K. et al.. International journal of molecular sciences vol. 21,22 8435. 10 Nov. 2020.
- (14) YU, C.X. et al. Molecular immunology vol. 146 (2022): 78-86.

Categoria: Trabalho Completo (S-G-1)

Síntese de derivados cumarínicos com potencial atividade fotoprotetora

Karina C. P. Dias¹ (IC), Ana H. F. Ayala¹ (PG), Anna B. S. Ferrari¹ (PG), Maria L. Zeraik¹ (PQ), Marcelle L. F. Bispo¹ (PQ), Carla C. Perez^{1*} (PQ). *perezcc@uel.br

¹-Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

Palavras Chave: Cumarina, Síntese, FPS, EROs

Introdução

O envelhecimento da pele pode ser causado por fatores intrínsecos e extrínsecos que geram espécies reativas de oxigênio (EROs). Em excesso, essas substâncias provocam o estresse oxidativo em consequência de um desequilíbrio de espécies oxidantes e antioxidantes. A exposição a longo prazo à radiação ultravioleta (UV) é o fator externo que tem maior influência no envelhecimento da pele, pois estimula o estresse oxidativo que causa danos celulares como perda de elasticidade, rugas e manchas, além de ser associado ao desenvolvimento de câncer de pele.¹⁻² Uma estratégia de prevenção desses danos é a utilização de produtos fotoprotetores que possuem duplas ligações conjugadas capazes de absorver a radiação UV.³ Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivos sintetizar e caracterizar 5 derivados cumarínicos com substituintes doadores e retiradores de elétrons e, também, avaliar a atividade fotoprotetora desses compostos.

Resultados e discussão

Foi sintetizado o precursor cumarínico **3** por meio de uma condensação de Knoevenagel entre o salicilaldeído **1** e acetoacetato de etila **2**.⁴ Em seguida, os derivados cumarínicos (**5a-e**) foram obtidos pela condensação aldólica entre **3** e os benzaldeídos de **4a-e**.⁵

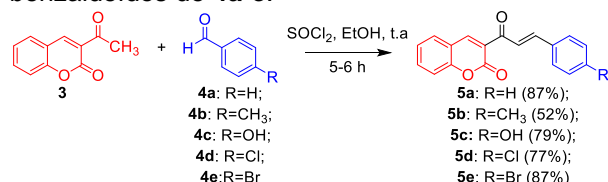


Figura 1. Rota sintética dos derivados cumarínicos (**5a-e**)

Os derivados foram caracterizados por RMN de ¹H, como exemplificado pelos compostos **5a** e **5e**.

3-cinamoil-2H-cromen-2-ona (5a): Pf: 167-168 °C; RMN de ¹H [400 MHz, CDCl₃] δ (ppm): 7,97-7,85 (2H, d, J=16,0 Hz, CH=CH).

(E)-3-(3-(4-bromofenil)acrilóil)-2H-cromen-2-ona (5e): Pf: 199-201 °C; RMN de ¹H [400 MHz,

CDCl₃] δ (ppm): 7,98-7,94 (1H, d, J=16,0 Hz, C=CH); 7,81-7,78 (1H, d, J=16,0 Hz, HC=C).

A atividade fotoprotetora foi determinada pelo método *in vitro* de Mansur.⁶

Tabela 1. Fator de Proteção Solar (FPS) e desvio padrão de diferentes concentrações das soluções de derivados cumarínicos **5a-e**, da 3-acetilcumarina **3** e de benzofenona-3.

Substâncias	35 μM	45 μM
5a	5,45 ± 0,19 ^{bc}	7,15 ± 0,19 ^{bc}
5b	6,14 ± 0,64 ^c	7,53 ± 0,09 ^c
5c	5,76 ± 0,06 ^c	6,74 ± 0,05 ^b
5d	6,25 ± 0,28 ^c	7,53 ± 0,04 ^c
5e	5,69 ± 0,16 ^c	7,59 ± 0,13 ^c
3	3,92 ± 0,19 ^{ab}	4,85 ± 0,22 ^a
Benzofenona-3	3,59 ± 0,04 ^a	4,53 ± 0,15 ^a

(a-c) indicam diferenças estatisticamente significativas p < 0,05.

De acordo com a ANVISA, uma substância é considerada fotoprotetora quando apresenta um valor de FPS superior a 6.⁷ Sendo assim, todos os derivados **5a-e** apresentaram fotoproteção UV em 45 μM. Além disso, apresentaram FPS maior em relação à cumarina precursora **3** e ao padrão benzofenona-3. No entanto, não foi evidenciado influência dos diferentes substituintes.

Conclusões

Foram sintetizados os derivados cumarínicos com metodologias satisfatórias, no qual os rendimentos obtidos ficaram entre 52 e 87%. O método *in vitro* de Mansur mostrou atividade fotoprotetora dos derivados sintetizados em relação ao padrão.

Agradecimentos

LaS³Med - Laboratório Síntese de Moléculas Medicinas; Universidade Estadual de Londrina; CAPES; FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA - Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Paraná

Referências e notas

- (1) Lephart E. D. *Elsevier*. **2016**, 31, 36-54.
- (2) Kammeyer, A.; Luiten, R. M. *Ageing research reviews*, **2015**, 21, 16-29.
- (3) Egambaram, O. P.; Pillai, S., K.; Ray, S. S. *Photochemistry and Photobiology*. **2020**, 779-797.
- (4) Cacic, M. et. al. *Heterocycles*, **2011**, 83, 1553-1566.
- (5) Petrov, O.; Ivanova, Y.; Gerova, M. *Catalysis Communications*. **2008**, 9, 315-316.
- (6) Maske, P.P. *Journal of Pharmacy Research*. **2013**, 520-524.
- (7) ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Resolução RDC 30, de 01/06/2012, MS: Brasília, 2012.

Investigação inibitória de tirosinase de derivados cumarínicos

Luiz A. S. Ferreira¹ (IC), Midiane C. Gomes² (PG), Matheus A. Santos¹ (IC), Silvia H. Cardoso¹ (PQ)*
silvia.cardoso@arapiraca.ufal.br

1 - Laboratório de Síntese Orgânica e Medicinal, Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Arapiraca-AL - Brasil.

2 - Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Arapiraca-AL - Brasil.

Palavras Chave: Síntese, Cumarinas, Tirosinase, Pesquisa.

Introdução

Cumarinas e tiossemicarbazonas são duas classes de compostos orgânicos que têm ganhado atenção significativa no campo da química medicinal devido às suas diversas atividades biológicas. Elas possuem várias propriedades farmacológicas, como por exemplo, anticancer, antiviral e antioxidantes.¹ Neste trabalho foi explorada as aplicações medicinais de cumarinas-3-tiossemicarbazonas com foco particular em sua atividade como inibidores da enzima tirosinase.

Resultados e discussão

Para sintetizar os 6 compostos (Figura 1) foi seguido metodologia descrita por Silva.² Após síntese, os compostos foram caracterizados por RMN ¹H e ¹³C, IV e UV-vis e tiveram suas propriedades farmacológicas (ADMET) analisados através da ferramenta *swissADME*. Após isto, os compostos foram enviados ao grupo de pesquisa da Polônia para investigação da atividade anti-tirosinase.

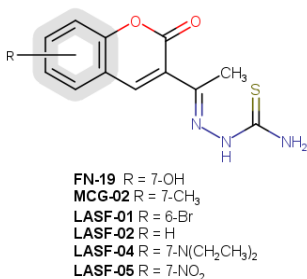


Figura 1. Estrutura dos compostos.

Com os espectros de infravermelho foi possível comprovar a presença do grupo tiossemicarbazona, na faixa de 3400-3250 cm⁻¹ (NH₂), 3350-3310 cm⁻¹ (NH) e 1690-1640 cm⁻¹ (C=N), confirmando a reação. Com os dados de UV-vis foi observado que todas as moléculas apresentam pico de absorção na faixa do UVA (nm) e aplicando a equação de Lambert-Beer, obtivemos valores de FPS variando de 4,37 - 10,7.

Tanto os espectros de RMN ¹H e ¹³C forneceram a confirmação das estruturas dos compostos sintetizados.

As propriedades ADMET dos compostos seguiram sem violar a “regra dos cinco”⁴, de Lipinski. E o Log Kp (cm/s) exibiu uma variação entre -6.57 e -7.14, o que indica que a permeabilidade em pele dos compostos ocorrerá de forma desejada, considerando que valores negativos demonstram menor permeabilidade.

Em relação aos resultados de inibição da tirosinase, até o momento, apenas os dados³ de FN-19 (Figura 1) estão disponíveis. Em comparação com os padrões utilizados, o FN-19 (IC₅₀ 42,60 µM) se mostra superior, sendo duas vezes mais ativo que o ácido kójico (IC₅₀ 72,27 µM) e 9 vezes mais que o ácido ascórbico (IC₅₀ 386,5 µM), então espera-se que os compostos análogos a ele, sintetizados neste trabalho, apresentem atividade similar.

Conclusões

Além de concluir as análises espectroscópicas, os compostos foram direcionados para ensaios de inibição da enzima tirosinase.

Agradecimentos

PBIC-UFAL, FAPEAL, Universidade Nicolaus Copernicus e a todos os professores envolvidos.

Referências e notas

- (1) ARRUDA, Henrique Jefferson de. Síntese de complexos de PtlI contendo derivados de cumarina com possível atividade citotóxica. **2017. Dissertação** (Pós-Graduação em Química). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- (2) SILVA, Fabrícia Nunes da. Exploração sintética e caracterização de cumarinahidrazonas com potencial aplicação em materiais. **2016. Monografia** (Licenciatura em Química) – Universidade Federal de Alagoas, Arapiraca.
- (3) Nunes, J.A et al. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 5216. <https://doi.org/10.3390/ijms24065216>
- (4) Lipinski, C.A. et al. (1997) *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*, 3–25.

Categoria: Trabalho Completo (S-G-3)

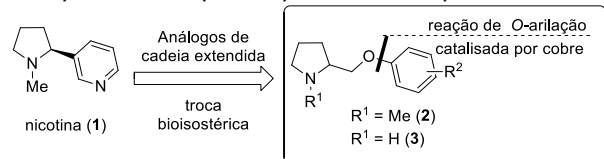
Síntese de novos ligantes de receptores nicotínicos através de reações de O-arilação catalisadas por cobre

Rodrigo Agostinho¹ (IC), Daniel Rocha¹ (IC), Livia C. R. M. da Frota¹ (PQ), Nailton M. do Nascimento Júnior² (PQ), Fernanda G. Finelli^{1*} (PQ). *finelli@ippn.ufrj.br¹Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil²LaQMedSOMM, Universidade Estadual Paulista, SP-Brasil

Palavras Chave: Derivados Nicotínicos, O-arilação, Reação de Chan-Lam, Doenças Neurodegenerativas

Introdução

A nicotina (**1**) e seus derivados são candidatos para o tratamento de doenças cognitivas relacionadas ao Alzheimer e à esquizofrenia¹. Seus análogos apresentando cadeia lateral estendida possuem alta afinidade para os receptores nicotínicos de acetilcolina presentes no sistema nervoso central (Esquema 1)². A síntese desses compostos somente foi realizada a partir de reações de substituição nucleofílica, que possuem como desvantagem a necessidade de pré-ativação dos materiais de partida, baixa economia atômica e grande formação de subprodutos². As reações de O-arilação catalisadas por metais de transição são uma alternativa eficiente, sendo o cobre uma opção mais barata e versátil frente aos metais dos blocos 4d e 5d³. Nesse contexto, esse trabalho tem como objetivo a síntese de arilprolinóis (**2** e **3**), utilizando como etapa-chave a reação de O-arilação catalisada por cobre, visando sua interação com receptores nicotínicos de acetilcolina do subtipo $\alpha 7$ e $\alpha 4\beta 2$ e consequente potencial terapêutico.



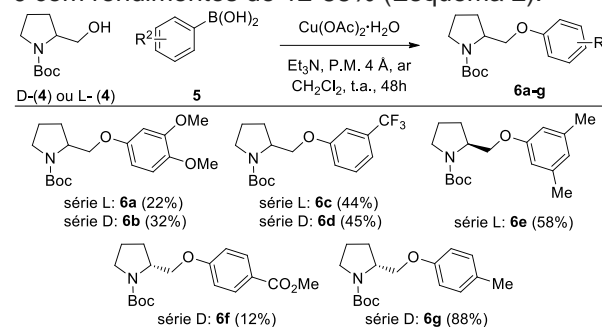
Esquema 1. Análogos da nicotina e moléculas alvo.

Resultados e discussão

Após uma triagem virtual, utilizando um protocolo de docking para os receptores alvo, foram selecionados 8 compostos que apresentaram maior número de contatos críticos com resíduos de interesse, apontados pelo modelo dbCICA, empregado. Os resíduos de interesse são aqueles que interagem com **1** na estrutura cristalográfica do receptor.

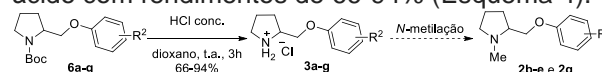
Com os alvos sintéticos selecionados, preparamos os materiais (R)- (S)-N-Boc-prolinol (**4**) a partir da D- e L-prolina em duas etapas, com rendimento

global de 87%. Em seguida, realizamos as reações de O-arilação catalisadas por cobre empregando diferentes ácidos borônicos, obtendo os compostos **6** com rendimentos de 12-88% (Esquema 2).



Esquema 2. Reação de O-arilação catalisada por cobre.

Os respectivos cloridratos **3** foram preparados através da desproteção do nitrogênio em meio ácido com rendimentos de 66-94% (Esquema 4).



Esquema 4. Desproteção e N-metilação.

Conclusões

Até o momento os D- e L-arilprolinóis **6** foram sintetizados com rendimentos moderados a bons. A reação de desproteção do grupo Boc forneceu os compostos-alvo **3a** e **3b** com 82% e 94% de rendimento, respectivamente, além de resultar nos intermediários que serão submetidos à reação de N-metilação, visando a síntese dos demais compostos-alvo.

Agradecimentos

CNPQ, CAPES e FAPERJ

Referências e notas

- (1) a) Jones, C. K., et al., Neuropsychopharma. **2011**, 37, 16; (b) Radek, R. J., et al., Curr. Pharm. Design **2010**, 16 (3), 309-322;
- (2) Bolchi, C., et al., J. Med. Chem. **2015**, 58 (16), 6665-6677.
- (3) Gandeepan, P.; Muller, T., et al., Chem. Rev. **2019**, 119 (4), 2192-2452.

Categoria: Trabalho Completo (S-PG-1)

Síntese total de uniflorol-B derivado de *Calea uniflora* com potencial ação leishmanicida

Luana B. Niero¹ (PG), Marília S. Borges¹ (PQ), Nicolas Gouault² (PQ), Patrícia A. Amaral^{1*} (PQ).
*amaral@unesc.net

1- Laboratório de Plantas Medicinais (LaPlaM), Universidade do Extremo Sul Catarinense, Santa Catarina – Brasil.
2- Laboratoire de Chimie Pharmaceutique, UFR Pharmacie, Université de Rennes 1, Rennes – França.

Palavras Chave: Cromanonas, Doença Negligenciada, Leishmaniose.

Introdução

A leishmaniose é uma doença negligenciada comum em regiões tropicais e subtropicais, sendo causada por protozoários do gênero *Leishmania*. A leishmaniose possui algumas alternativas de tratamento; no entanto, a maioria dos medicamentos apresentam limitações, como: toxicidade, efeitos adversos, difícil administração e podem desenvolver resistência ao parasita.¹ Compostos naturais com atividade antileishmaniana podem ser encontrados no gênero *Calea*.² A pesquisa de Nascimento *et al.*³ demonstrou atividade leishmanicida de cromanonas isoladas do xilopódio de *C. uniflora*. Os compostos foram denominados uniflorol-A e uniflorol-B e foram testados de maneira combinada, inibindo o crescimento de *L. major* em concentrações de 100, 50 e 25 µg/mL. Considerando a necessidade de novos tratamentos específicos e a atividade demonstrada pelas cromanonas de *C. uniflora*; o objetivo desta pesquisa foi sintetizar a cromanona natural uniflorol-B e avaliar suas propriedades *in silico*.

Resultados e discussão

A etapa I, trata-se de uma reação de acetilação, que parte da molécula comercial 4-hidroxiacetofenona (1). Nas condições otimizadas obteve-se um rendimento de 99% de (2). A etapa II, trata-se do rearranjo de Fries, sendo o melhor rendimento obtido para (3) de 77%. Na etapa de ciclização de Kabbe (III), obteve-se rendimento de 67% (4). Na etapa de redução (IV) obteve-se um rendimento de 38% (5). A etapa V trata-se da reação de esterificação com excelente rendimento de 99% para (6). A etapa VI é caracterizada pela reação de Morita-Baylis-Hillman, onde obteve-se um rendimento de 40% para (7). A última etapa (VII) trata-se de uma isomerização (via bromação) culminando na obtenção do produto natural uniflorol-B (8) com 46% de rendimento.

Através do software *Molinspiration* foi possível calcular as propriedades físico-químicas e de

bioatividade desta molécula. Em relação as propriedades físico-químicas não observou-se nenhuma violação das regras de Lipinski, apresentado logP 2.78; PM de 318.37 g/mol; número de aceptores de H igual a 5 e número de doadores de H igual a 1. Para a bioatividade, a molécula apresentou melhores resultados para ligante receptor acoplado à proteína G; ligante de receptor nuclear e inibidor enzimático. O software *Osiris Property Explorer* foi utilizado para avaliar a predição de toxicidade. O uniflorol-B apresentou risco baixo em todos os parâmetros testados (mutagênico, tumorigênico, irritante e efeitos sobre o sistema reprodutor).

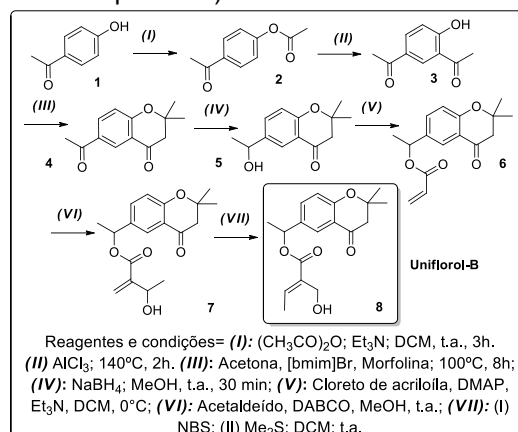


Figura 1. Rota sintética para Uniflorol-B.

Conclusões

A rota sintética proposta se mostrou eficiente na obtenção do composto uniflorol-B. O composto apresentou baixa toxicidade *in silico* e se enquadra nas regras de Lipinski, podendo ser um possível candidato a fármaco.

Agradecimentos

PIBIC, LaPlaM (UNESC). UNIEDU/SC.

Referências e notas

- (1) World Health Organization. Health topics: Leishmaniasis. Geneva: WHO, 2021.
- (2) Amaral *et al.* *J Med Plant Res*, 2017, 11(33):518–537.
- (3) Nascimento *et al.* *Z Naturforsch C J Biosci*, 2007, 62(5-6):353-6.

Novos derivados 4-oxo-quinolínicos com possíveis mecanismos de ação multialvos contra *Mycobacterium tuberculosis*

Mayara K. Ferreira^{1,2} (PG), Frederico S.C. Branco¹ (PQ), João C. M. Mafra¹ (PQ), Núbia Boechat^{1*} (PQ). *nubia.boechat@fiocruz.br

1 - Departamento de Síntese de Fármacos, Farmanguinhos/Fiocruz-RJ - Brasil;

2 - Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ-RJ - Brasil

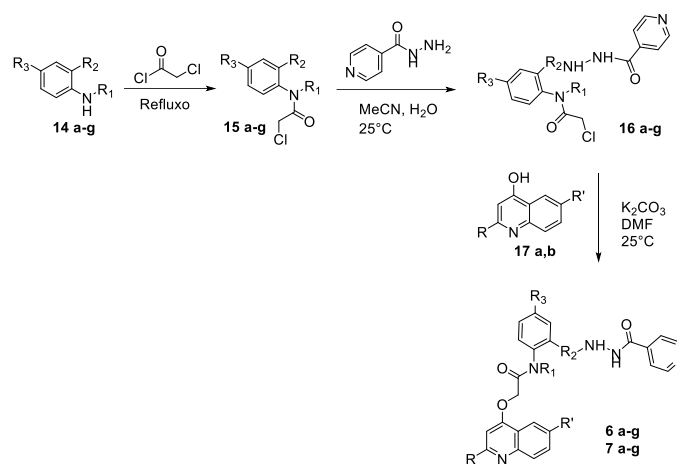
Palavras Chave: Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, quinolina, isoniazida, resistência, multialvo.

Introdução

A tuberculose (TB), é uma doença causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb).¹ O tratamento longo, cheio de efeitos adversos, multirresistência bacteriana, alto índice de abandono e a co-infecção com o vírus HIV tornam a TB uma grave emergência global de saúde. De fato é a doença infecciosa que mais mata no planeta.¹ Desta forma, como continuidade da linha de pesquisa consolidada em nosso laboratório e visando contribuir para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas mais eficazes e com menores limitações em relação ao tratamento atual da TB, este projeto propõe uma série de derivados quinolínicos e da Isoniazida, com possível mecanismos de ação multialvos, visando a melhora da potência antimicobacteriana, mitigação de desenvolvimento de resistência e a avaliação biológica quanto a capacidade inibitória do Mtb.^{2,3}

Resultados e discussão

Neste trabalho, duas séries de derivados quinolínicos **6a-g** e **7a-g** foram planejadas através da ferramenta de hibridação molecular. Estes derivados foram submetidos ao cálculo de propriedades farmacocinéticas (ADMET) pelo serviço pkCSM, o qual evidenciou um bom perfil das propriedades.⁴ Até o presente momento, foi possível obter os intermediários **15a-g** através da reação de acilação das isatinas **14a-g** e os intermediários quinolínicos **17a,b** através da reação de substituição seguida de ciclização. Os intermediários **15a-g** serão submetidos à reação de abertura do anel com a isoniazida (INH) para formar **16a-g**, cuja reação ocorre seletivamente em C-2, conforme resultados prévios de nosso grupo. Finalmente, **16a-g** serão reagidos, em uma reação de substituição nucleofílica, com as 4-hidroxiquinolinas correspondentes **17a,b**, para gerar os produtos finais inéditos **6a-g** e **7a-g**. Estas etapas estão sendo executadas no momento.



Esquema 1. Método de síntese proposto para obtenção dos derivados **6a-g** e **7a-g**.

Conclusões

Foram sintetizados os intermediários **16a-g** com rendimento de 89% e os dois intermediários quinolínicos **17a,b** com rendimento de 63-65% respectivamente. Os derivados finais **6a-g** e **7a-g** estão sendo sintetizados e serão submetido a diferentes avaliações contra o Mtb e quanto à citotoxicidade em macrófagos e células hepáticas (HepG2) com o objetivo de se determinar seu potencial como agentes contra a tuberculose.

Agradecimentos

Fiocruz, Farmanguinhos, UFRJ, CNPq; FAPERJ; CAPES.

Referências e notas

- (1) OMS - Organização Mundial da Saúde (OMS). Global Tuberculosis Report **2022**.
- (2) Castelo-branco, F. et al. European Journal of Medicinal Chemistry **2018**, 146, 529–540.
- (3) Pitta, E., et al. Journal of Medicinal Chemistry **2016**, 59, 14, 6709-28
- (4) Pires de, Blundell T.L, Ascher, D.B. Journal of Medicinal Chemistry **2015**, 58, 4066-72.

Análise da Energia Livre de Ligação dos Inibidores da TcDHODH pelo Método MM/PBSA

Eldio G. dos Santos¹ (PG), Camilo H. S. Lima² (PQ), Luiza R. S. Dias^{1*} (PQ). *Irsdias@id.uff.br

¹Laboratório de Química Medicinal, Universidade Federal Fluminense, RJ – Brasil

²Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ -Brasil

Palavras Chave: MM/PBSA, Dinâmica Molecular, *Trypanosoma cruzi*, Diidroorotato Desidrogenase.

Introdução

A doença de Chagas, causada pelo *Trypanosoma cruzi*, representa um importante problema de saúde pública. Não existe um tratamento efetivo contra essa doença parasitária, especialmente na fase crônica, e sua evolução pode levar à morte.¹ Desta forma é fundamental a busca por novos candidatos a fármaco, com menos efeitos adversos e melhor resposta terapêutica na fase crônica da doença. Dentre os alvos estudados a enzima diidroorotato desidrogenase (TcDHODH), responsável pela quarta etapa da biossíntese de pirimidina, se destaca por ser essencial para a manutenção da vida do parasita e possuir maior seletividade.²

As técnicas de desenvolvimento de fármacos auxiliadas por computador têm se consolidado como ferramentas importantes no processo de busca por novos fármacos. Dentre elas a dinâmica molecular, capaz de simular o comportamento atômico por meio de cálculos computacionais baseados em mecânica molecular, a partir dessas simulações podemos obter os valores de energia livre de ligação com a ferramenta MM/PBSA. Esses resultados podem ser úteis na construção de um inibidor mais potente contra a enzima.^{3, 4}

Resultados e discussão

Para o cálculo de MM/PBSA foram considerados os 100 frames mais representativos de simulações de dinâmica molecular de 100ns com 11 inibidores da enzima TcDHODH obtidos no banco de dados PDB, tabela 1.

Tabela 1. Resultados da análise de PB/MMSA.

LIGANTE	VARIAÇÕES DE ENERGIA - ΔE e ΔG^* (Kcal/mol)				
	ΔE VDW	ΔE ELECT	ΔE SOLV	ΔE SASA	ΔG LIGAÇÃO
OXC	-7.00 ± 7.69	-8.39 ± 9.29	16.23 ± 19.98	-1.01 ± 1.10	-0.19 ± 2.18
FOT	-3.75 ± 0.86	-39.35 ± 0.75	11.11 ± 1.23	-0.56 ± 0.05	-32.55 ± 1.25
SLL	-39.68 ± 1.77	-112.63 ± 2.01	116.77 ± 2.04	-3.58 ± 0.10	-39.14 ± 2.32
JDM	-32.06 ± 1.53	-120.07 ± 2.19	96.78 ± 2.32	-3.45 ± 0.13	-58.81 ± 2.59
QRO	-27.16 ± 1.83	-117.65 ± 4.98	99.05 ± 6.19	-3.20 ± 0.20	-49.05 ± 4.03
3RO	-37.10 ± 2.22	-84.46 ± 2.62	50.84 ± 2.36	-3.29 ± 0.13	-73.97 ± 2.15
XRO	-3.12 ± 2.21	-71.31 ± 2.41	50.96 ± 2.60	-0.80 ± 0.04	-24.24 ± 2.39
W86	-29.89 ± 9.73	-107.10 ± 29.00	100.29 ± 31.03	-3.58 ± 1.14	-40.28 ± 9.35
W87	-33.96 ± 1.38	-105.53 ± 4.64	88.96 ± 12.48	-3.84 ± 0.17	-54.45 ± 3.29
W75	-5.01 ± 1.51	-63.38 ± 2.72	45.72 ± 2.75	-0.79 ± 0.07	-23.50 ± 1.51
W7D	-24.66 ± 1.96	-65.86 ± 2.01	46.25 ± 3.58	-3.20 ± 0.07	-47.38 ± 2.99

VDW: van der Waals; ELECT: eletrostática; SOLV: solvatação; SASA: área de superfície acessível ao solvente; LIGAÇÃO: energia livre de ligação.

Os 11 inibidores apresentaram valores de energia livre de ligação negativos, indicando uma interação favorável com a enzima. Foram também extraídos os valores da contribuição individual de cada resíduo para o somatório da energia livre de ligação, os resultados estão presentes na figura 1.

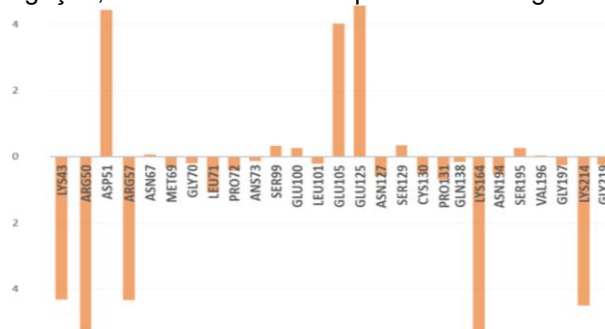


Figura 1. Contribuição residual para a energia livre de ligação.

Pode ser observado que os resíduos com cadeia lateral de caráter básico favoreceram a interação com o inibidor, enquanto os de cadeia lateral de caráter ácido geraram interações desfavoráveis.

Conclusões

O análise da energia livre de ligação foi capaz de demonstrar que existe uma ligação favorável entre os inibidores e a enzima e identificar quais são os resíduos mais importantes para a contribuição energética dessas interações.

Agradecimentos

Os autores agradecem as agências fomentadoras FAPERJ (E-26/210.068/2021) e CAPES (Código Financeiro 001)

Referências e notas

- (1) Martín-Escolano, R.; et al. *ACS Infectious Diseases*, **2021**, 7, 1727-1738.
- (2) Inaoka D. K.; et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, 10881-10891.
- (3) Sant'Anna, C.M. R. *Química Nova*, **2002**, 25, 505-512.
- (4) Genheden, S.; Ryde, U. *Expert Opinion on Drug Discovery*, **2015**, 10, 449-461.

Modelagem molecular de oxindolilideno como potenciais inibidores da enzima MPro do SARS-CoV-2

Marcus Vinicius de F. Mota¹ (PG), Bárbara V. Silva¹ (PQ), Camilo H. S. Lima¹ (PQ), Magaly G. Albuquerque^{1*} (PQ). *magaly@iq.ufrj.br

1- Instituto de Química (IQ), Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Palavras Chave: CoViD-19, coronavírus-2, protease principal, cisteíno-protease, análise conformacional, docagem molecular

Introdução

O coronavírus-2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) é o agente etiológico da doença por coronavírus de 2019 (CoViD-19, coronavirus disease 2019). Com o aumento expressivo e a propagação global de casos por CoViD-19, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou essa doença uma pandemia mundial em 11 de março de 2020, fazendo urgente a pesquisa por tratamentos que possam remediar esta enfermidade e suas complicações, como a síndrome inflamatória multissistêmica e a condição pós-CoViD-19 (ou CoViD-longa). Apesar de existirem vacinas contra a CoViD-19, o surgimento de diversas novas variantes do SARS-CoV-2, desde o início da pandemia, torna necessário a P&D de um antiviral específico contra esse vírus. Dentre os alvos essenciais no processo de replicação viral, encontra-se a protease principal (Mpro, main protease, ou 3CL-PRO ou 3CLp nsp5, 3C-like proteinase non-structural protein 5) do SARS-CoV 2, uma cisteíno-protease responsável pela hidrólise de poliproteínas virais em 11 regiões conservadas.

Resultados e discussão

Os experimentos de triagem virtual foram realizados com 19 estruturas do LPNTQ (Laboratório de Produtos Naturais e Transformações Químicas) e dentre estes compostos há 52 estruturas (considerando os estereoisômeros) para realizar a docagem molecular usando o programa GOLD. As estruturas 3D serão preparadas utilizando o PC Spartan Pro de acordo com a metodologia por nosso grupo de pesquisa. cocrystalizadas protease principal (Mpro) do SARS-

CoV-2. Na modelagem molecular, empregamos a abordagem direta (ou dependente da estrutura do receptor), onde a estrutura 3D do alvo foi obtida no banco de dados PDB (Protein Data Bank) sob o código 7BQY que corresponde a um monômero da enzima Mpro do SARS-CoV-2 em complexo covalente entre a Cys145 (resíduo nucleofílico catalítico) e um inibidor tipo peptídeo contendo um grupo éster α,β -insaturado como aceptor de Michael (composto N3). Na redocagem foi obtido valores menores de RMSD $< 2,0 \text{ \AA}$ com a função de pontuação GoldScores. O composto que na docagem obteve melhores valores foi o composto 68g (2R,2S) e analisado diante da referência do cristal do PDB 7BQY.

Conclusões

A pose (complexo ligante-proteína) de melhor pontuação foi a do ligante 68g (2R, 3S), seguido dos das poses dos isômeros (Z) de 48a e 49a. Observa-se uma interação de ligações de hidrogênio com a CYS 145. Como perspectiva, os demais compostos da quimioteca também serão avaliados.

Agradecimentos

Agradecimento a CAPES, a PGQu e ao Instituto de Química.

Referências e notas

- (1) Jones, G. et al (1997). *Journal of Molecular Biology*, **1997**, 267(3):727-748.
- (2) Silvestrini, L.; et al. *Scientific Reports*, **2021**, 11(1):9283.

Categoria: Trabalho Completo (S-PG-5)

Busca por inibidores de ODC de *L. Donovanii* via modelagem molecular

Joyce R. Melo¹ (PG), Nelilma C. Romeiro^{1*} (PQ), Paulo José de Sousa Maia¹ (PQ). * nelilmaromeiro@gmail.com

1- Instituto Multidisciplinar de Química, Centro Multidisciplinar UFRJ Macaé, RJ- Brasil

Palavras Chave ODC, Ornitina descarboxilase, Leishmaniose, Leishmania, Modelagem molecular, Química medicinal.

Introdução

A leishmaniose é uma doença tropical e subtropical que representa um grave problema de saúde mundial, sendo amplamente distribuída na América, África, Europa e Ásia, sendo considerada uma doença negligenciada, causada por *Leishmania* spp.¹ A Ornitina descarboxilase (ODC), é uma enzima limitante da via das poliaminas que tem sido descrita como alvo vital para a busca de novos inibidores de *L. donovani*.² Nesse cenário, a realização de estudos *in silico* é uma estratégia para auxiliar na descoberta e planejamento de novos candidatos a fármacos, reduzindo o custo total inerente ao processo.³ Portanto, nesse trabalho, foram realizados estudos de similaridade molecular e a construção de um modelo comparativo de ODC de *L. donovani*, visando a integração de técnicas baseadas em ligantes e na estrutura dos receptores, para identificar potenciais substâncias inibidoras de ODC.

Resultados e discussão

Após a busca no ChEMBL por inibidores conhecidos de ODC, selecionou-se 8 moléculas de referência, utilizando como critérios a potência inibitória e esqueletos moleculares inovadores. Em seguida, foi feita a busca por similaridade molecular na plataforma Knime com diferentes fingerprints, resultando em mais de 20 mil compostos, que estão sendo analisados individualmente, utilizando critérios de exclusão, tais como coeficiente de tanimoto, inibição já descrita e toxicidade. O modelo 3D da ODC foi construído a partir da sequência de aminoácidos, através do AlphaFold2 e foi validado e refinado através do Saves, ProsaWeb e Modrefiner. Posteriormente, serão realizados estudos de docking, dinâmica Molecular, e filtros ADMET.

Conclusões

Os resultados de similaridade molecular são promissores, devido à diversidade molecular identificada. O modelo 3D de ODC de *L. donovani* foi validado e é adequado para uso em futuras simulações de docking e dinâmica molecular. Com este estudo integrado de modelagem molecular, nosso grupo de pesquisa espera encontrar inibidores de ODC de *L. donovani*, como uma abordagem promissora para a descoberta de novos fármacos antileishmaniais seguros e eficazes.

Agradecimentos

UFRJ, LICC, FAPERJ, CNPQ, CAPES, IMQ-CM.

Referências e notas

- (1) Tuon, F. F. et al. Amato, V. S., Zequinaldo, T., & Cruz, J. A. W. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2022,11, 981-985.
- (2) Chakraborty, D., Saravanan, P., Patra, S., & Dubey, V. K. *Med. Chem. Res.*, 2013, 22, 466-478.
- (3) Glick, M., & Jacoby, E. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2011, 15, 540.

Categoria: Trabalho Completo (S-PG-6)

Estratégias de Modelagem Molecular Integradas Visando a Identificação de Potenciais Substâncias Multialvo contra a Doença de Alzheimer

Karina G. Gonçalves¹ (PG), Nelilma C. Romeiro^{1*} (PQ), Ana Luísa P. de Miranda² (PQ), Carlos R. Rodrigues³ (PQ). *nelilmaromeiro@gmail.com

1- Laboratório Integrado de Computação Científica-LICC, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil.

2- Laboratório de Estudos em Farmacologia Experimental - LEFEX, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil.

3- Laboratório de Modelagem Molecular e QSAR – ModMolQSAR, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil.

Palavras Chave: (Alzheimer, multialvo, quimiogenômica, farmacóforo, docking).

Introdução

A Doença de Alzheimer (DA) é uma enfermidade neurodegenerativa associada à idade. O mecanismo de desenvolvimento da doença é bastante complexo e a sua causa está relacionada a múltiplos fatores. Dentre as principais evidências do aparecimento da doença estão: a formação de placas β -amiloide, formação de emaranhados neurofibrilares e alteração nas concentrações de neurotransmissores que controlam atividades cerebrais relacionadas a cognição, memória e aprendizagem. São relatadas diversas estratégias terapêuticas, cada uma delas associadas a diferentes alvos, porém a terapia atual da DA envolve o uso de fármacos dirigidos a um único alvo molecular, que proporcionam o alívio sintomático, mas não levam à sua cura definitiva. O crescente entendimento acerca dos mecanismos que causam a doença sugere que, agir seletivamente contra uma via patogênica específica, pode ser insuficiente para enfrentar a sua natureza multifatorial.^{1,2} Dessa forma ainda se carece de fármacos mais eficazes e a busca por um único composto multialvo ainda é um desafio no tratamento da DA³. Neste trabalho propõe-se a integração de técnicas de triagem virtual aplicada a bancos de dados moleculares, com avaliação farmacológica através de ensaios de inibição enzimática, de modo a se descobrir novas moléculas com potencial multialvo para a DA ou propor o reposicionamento de fármacos.

Resultados e discussão

Para a identificação de substâncias com potencial ação multi-alvo na DA, adotou-se como critério a predição de interação, em especial, com acetilcolinesterase (AChE), histona desacetilase de classe I (HDAC 1) e beta-secretase 1 (BACE 1). A estratégia de triagem virtual adotada consiste em

duas etapas iniciais: 1)- baseada em farmacóforos e 2)- através da aplicação de Quimiogenômica. Ambas aplicadas a bibliotecas moleculares do Drug Bank. Ligantes foram selecionados por meio de consenso entre as técnicas e propriedades ADMET preditas, sendo direcionados para o docking. Por fim, os hits selecionados serão obtidos comercialmente e submetidos a ensaios farmacológicos de inibição enzimática.

Foram preditas por consenso entre as técnicas de quimiogenômica e triagem por farmacóforos 66 substâncias com ação dual e 2 com ação nos 3 alvos. Após o docking e filtros ADMET, os 16 melhores resultados foram selecionados e destes, após busca na literatura, aqueles ainda não testados e/ou com resultado negativo e disponíveis comercialmente serão obtidos para testes enzimáticos, totalizando 6 substâncias.

Conclusões

O consenso entre as etapas de triagem por quimiogenômica e a baseada em farmacóforos, somado aos estudos de docking e filtros ADMET direcionou a escolha de 6 substâncias, cuja atividade será confirmada através de testes *in vitro*, após obtenção comercial.

Agradecimentos

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências e notas

- (1) KUMAR, A. e SINGH, A. Pharmacological Reports, v. 67, n. 2, p. 195-203, 2015.
- (2) Graham, W. V.; Bonito-Oliva, A.; Sakmar, T. P. Annual review of medicine, v. 68, p. 413-430, 2017.
- (3) Oset-Gasque, M. J. e Marco-Contelles, J. Alzheimer's Disease, the "One-Molecule, One-Target" Paradigm, and the Multitarget Directed Ligand Approach. 2018.

Categoria: Trabalho Completo (S-PG-7)

Papel da sinalização de GDF11 na miogênese: potencial biofármaco no processo regenerativo

Igor Ferreira da Silva¹ (PG), Rafaella F. Reis¹ (PQ), Arnon D. Jurberg^{2,3} (PQ), Vinicius C. de Almeida¹ (PQ) e Ingo Riederer^{1*} (PQ). *riederer@ioc.fiocruz.br

1 - Laboratório de Pesquisas sobre o Timo, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), RJ - Brasil.

2 - Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ – Brasil.

3 - Escola de Medicina, Universidade Estácio de Sá/IDOMED Vista Carioca, RJ – Brasil.

Palavras-Chave: *Miogênese, GDF11, Regeneração Muscular.*

Introdução

O músculo estriado esquelético tem a capacidade de se regenerar após um dano, sendo esse evento chamado de miogênese.¹ Esse processo regenerativo é altamente regulado por diversas citocinas e moléculas liberadas pelas próprias células musculares ou por células inflamatórias, como os macrófagos. É sabido que membros da superfamília de TGF- β podem regular a miogênese.² Recentemente, outra proteína pertencente a essa superfamília, chamada de GDF11, vem ganhando destaque na literatura através de estudos que mostraram seu papel rejuvenescedor em diferentes órgãos, inclusive com bons resultados no músculo estriado esquelético.³ Entretanto, estudos posteriores mostraram papéis controversos, indicando a necessidade de melhor compreender o papel dessa proteína no processo de regeneração muscular.⁴

Resultados e discussão

Resultados parciais *in vitro* do nosso grupo indicam que o GDF11 estimula a proliferação (Figura 1A), e reduz drasticamente a diferenciação dos mioblastos humanos. Nesse contexto, poderíamos hipotetizar um biofármaco de GDF11 modificado, que não inibisse a diferenciação, mas que ainda fosse capaz de estimular a proliferação de mioblastos, permitindo um ganho no processo regenerativo. Mais estudos *in vitro* estão sendo realizados pelo nosso grupo, de modo a melhor compreender o papel do GDF11 também na adesão, migração, e hipertrofia das células musculares. Concomitantemente, estudos *in silico* estão sendo realizados, e já identificamos os aminoácidos de GDF11 que se ligam ao receptor do tipo I, chamado ALK5, através do modelo

resolvido experimentalmente depositado no PDB (Figura 1B).

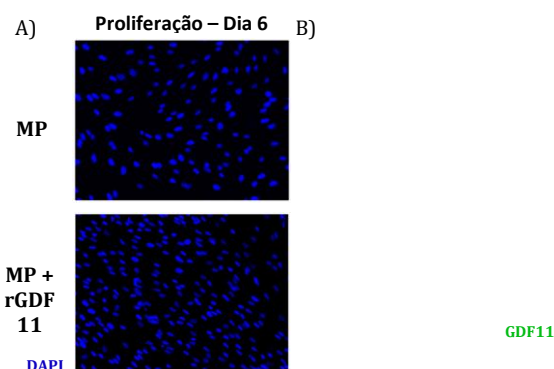


Figura 1. Resultados parciais *in vitro* e *in silico*. A - Aumento do número de núcleos após tratamento com GDF11 recombinante. Dados não publicados de Rafaella Ferreira Reis. B - Identificação dos aminoácidos de GDF11 interagem com o seu receptor a partir da estrutura tridimensional do complexo depositado no PDB (ID 6MAC)

Conclusões

Um melhor entendimento das funções biológicas do GDF11 nós permitirá propor um biofármaco inspirado no domínio maduro do GDF11, capaz de potencializar o processo regenerativo de lesões do músculo estriado esquelético.

Agradecimentos

CNPq, FAPERJ, CAPES, FOCEM e INCT-NIM por financiarem o presente projeto.

Referências e notas

- (1) Dumont, N. A.; Bentzinger, C. F.; Sincennes, M. C.; Rudnicki, M. A. *Comprehensive Physiology*. **2015**, 5, 3.
- (2) Burks, T. N.; Cohn, R. D. *Skelet Muscle*. **2011**, 1, 1.
- (3) Loffredo, F. S.; Steinhauser, M. L.; Jay, S. M.; Gannon, J.; Pancoast, J. R.; Yalamanchi, P.; et al. *Cell*. **2013**, 153, 4.
- (4) Egerman, M. A.; Cadena, S. M.; Gilbert, J. A.; Meyer, A.; Nelson, H. N.; Swalley, S. E.; et al. *Cell Metab*. **2015**, 22, 1.

Categoria: Trabalho Completo (S-PG-8)

Estudos de dinâmica molecular das enzimas anidrase carbônica humana e do parasita *Schistosoma mansoni*

Diego M. Nunes¹ (PG), Magaly G. Albuquerque^{1*} (PQ), Camilo H. S. Lima¹ (PQ). *magaly@iq.ufrj.br

1-Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ - Brasil

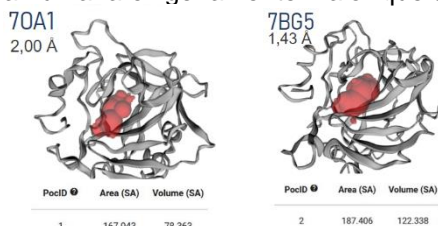
Palavras Chave: Esquistossomose, Dinâmica Molecular, Sulfonamidas

Introdução

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um conjunto de 20 doenças que afetam, principalmente, pessoas em países pobres de regiões tropicais e subtropicais do planeta.¹ Dentre essas DTNs a esquistossomose é provocada por algumas espécies de parasito do gênero *Schistosoma*. No Brasil, o *S. mansoni* é a única espécie responsável pela esquistossomose; no período de 2003 a 2018, foram registrados 18.421.113 óbitos por esquistossomose.² O fármaco utilizado no tratamento é o praziquantel, descoberto há mais de 40 anos e administrado na forma racêmica, mas somente o enantiômero (R) é ativo. Altas taxas de infecção e alta transmissão com uso excessivo deste fármaco favorecem o aumento da resistência do parasita. Diversos alvos moleculares foram estudados ao longo desses anos. Em 2020, pesquisadores descobriram que uma série de sulfonamidas são capazes de inibir a anidrase carbônica de *Schistosoma mansoni* (SmCA), impedindo o parasito de estabelecer uma infecção em camundongos, apontando essa enzima como um novo alvo de estudo.³

Resultados e discussão

Através do estudo de predição do volume das cavidades catalíticas das proteínas humana (7BG5) e do esquistossomo (7OA1) (*S. mansoni*) das estruturas cristalográficas obtidas pelo Protein Data Bank, utilizando-se o servidor web CASTp (Computed Atlas of Surface Topography of proteins) foi observado que, em média, a cavidade da proteína humana é ligeiramente maior que a do parasita.



Através de estudos de dinâmica molecular das duas proteínas com o mesmo ligante foi possível observar a conformação de um resíduo importante para proteína e a presença de dois clusters principais de interação, utilizando-se o modelo de água TIP3P, campo de força ff14SB e tempo de produção 150ns/2fs.

Conclusões

Com esse estudo foi possível obter informações importantes sobre as interações da proteína com o ligante escolhido.

Agradecimentos

UFRJ
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO

LABMLOL



Referências e notas

- (1) World Health Organization. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals. A road map for neglected tropical diseases 2021–2030, **2020**.
- (2) Pinheiro, M. et al. Tropical Medicine and International Health. **2020**.
- (3) Angeli, A. et al., J. Med. Chem. **2021**, 64, 10418–10428.

Propriedades e efeitos do mediador lipídico pró-resolução Maresina 1 (Mar1) na mediação de dor e inflamação.

Vitória R. Araújo¹ (GD), Thaila K. E. Maximiano¹ (PG), Waldiceu A. Verri¹ (PQ)*. waverri@uel.br

1 – Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

Palavras Chave: Dor inflamatória, Inflamação, Maresina 1, Mediadores lipídicos pró-resolução.

Introdução

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), a dor é definida como “uma experiência sensorial e emocional desagradável associada ou semelhante à associada a um dano tecidual real ou potencial”.¹ A dor inflamatória está relacionada a alterações provocadas pelas respostas imunológicas a estímulos nocivos causadores de inflamação.²

Estudos evidenciaram que a resolução da inflamação é um processo ativo, cronológico e altamente regulado com participação fundamental de mediadores lipídicos pró-resolução (MLPR), como as maresinas, para a recuperação da homeostase.^{3,4,5} Desse modo, este trabalho de revisão tem como objetivo abordar os principais efeitos e propriedades da Maresina 1 (MaR1) na resolução da dor e da inflamação.

Resultados e discussão

Durante o processo inflamatório, são sintetizados mediadores lipídicos pró-inflamatórios (fator de necrose tumoral α (TNF- α) e interleucina 1-beta (IL-1 β), prostaglandina E2, dentre outros) que atuam sensibilizando nociceptores (neurônios sensitivos especializados na percepção da dor), promovendo baixa no limiar de ativação e isso facilita a ativação neural causando hiperalgesia (aumento da percepção sensorial da dor).^{6,7,8,9}

A Maresina 1 é um SPM derivado do ácido docosahexanoico (DHA) que apresenta atividade anti-inflamatória e desempenha um importante papel na ativação de mecanismos endógenos para resolução da inflamação.¹⁰

Dados da literatura apontam que esse SPM possui grande potencial terapêutico, porque age via receptores específicos, como ALX/FPR2 (receptor 2 do peptídeo N-formil) e o TRPV1 (receptor da capsaicina subfamília V, membro 1) modulando a atividade de diversas células atuando na faixa de nanogramas. A MaR1 caracteriza células imunes como os macrófagos com um perfil pró-resolução, de uma forma que esse macrófagos sejam capazes de eliminar agentes infecciosos, mantendo sua

capacidade microbicida, regulando a liberação de mediadores inflamatórios. Além disso, esses MLPR possuem efeitos em nociceptores diminuindo a ativação neuronal e a liberação de neuropeptídeos promovendo analgesia e redução da inflamação.^{10,11,12,13} Outro importante mecanismo de atuação da MaR1 é por meio da modulação direta e indireta de canais envolvidos na percepção da dor, como o TRPV1.¹⁴

Conclusões

Atualmente, as terapias disponíveis mais utilizadas para o tratamento da dor e da inflamação apresentam efeitos colaterais adversos e eficácia limitada. Desse modo, considerando o potencial analgésico e anti-inflamatório da Maresina 1, esse mediador se mostra um importante objeto de estudo para o desenvolvimento de novos medicamentos para o tratamento de dor e inflamação.

Agradecimentos

Agradeço à minha equipe de trabalho, à Fundação Araucária e a Universidade Estadual de Londrina.

Referências e notas

- (1) IASP. 2017. International Association for the Study of Pain. Available at: <https://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698>. Acesso em: 20 de julho 2023.
- (2) Medzhitov, R. *Nature*, **2008**, 454(7203): 428-35
- (3) Serhan, C. N. *Am. J. Pathol.* **2010**, 177: 1576–1591.
- (4) Buckley, C. D.; Gilroy, D. W.; Serhan, C. N. **2014**, 40(3): 315-27
- (5) Colas, R. A., et al. *Am. J. Physiol. - Cell Physiol.* **2014**, 307: 39-54.
- (6) Verri, W. A., et al. *Pharmacol. Ther.* **2006**, 112: 116–138.
- (7) Binstok, A. M., et al. *J. Neurosci.* **2008**, 28: 14062–14073.
- (8) Zarpelon, A. C., et al. *Neuropharmacology*. **2013**, 71: 1.
- (9) Gudes, S., et al. *J. Neurophysiol.* **2015**, 113: 601–619.
- (10) Serhan, C. N., et al. *J. Exp. Med.* **2009**, 206: 15-23.
- (11) Francos-Quijorna, I., et al. *J. Neurosci.* **2017**, 37: 11731–11743.
- (12) Ji, R. R.; Chamesian, A.; Zhang, Y. Q. *Science*. **2012**, 354, 6312, 572.
- (13) Fattori, V., et al. *British Journal of Pharmacology*. **2019**, 176(11): 1728–1744.
- (14) Fattori, V., et al. *Pharmacol Res.* **2020**, 151: 104549.

Categoria: Revisão (R-S-G-2)

Análise da hepatotoxicidade do paracetamol

José Lucas Gomes Izidorio¹ (GD)* lucassizidorio@gmail.com.

¹Biomedicina, Centro Universitário Christus, CE – Brasil.

Palavras-Chave: Paracetamol, Hepatotoxicidade, Automedicação.

Introdução

O paracetamol ou acetaminofeno (Figura 1), é um dos medicamentos analgésicos mais utilizados no mundo, fazendo parte dos AINEs (anti-inflamatórios não esteroidais) isentos de prescrição médica.¹ Podem ser utilizados no tratamento de dores fracas, moderadas e mais intensas, podendo ser usados associados a outros medicamentos. O seu consumo de forma excessiva, pode levar insuficiência hepática aguda, necrose hepática centrolobular, além de doenças renais, toxicidade gastrointestinal, reações de hipersensibilidade, distúrbios neurológicos, cardiovasculares, sintomas esses, que devem levar a uma avaliação de transplante de fígado.² O objetivo desse trabalho é analisar a hepatotoxicidade do paracetamol.

Resultados e discussão

Foi realizada uma revisão integrativa de literatura, sendo selecionados 10 artigos publicados entre os anos de 2018 e 2023, utilizando as bases de dados: PubMed e Scielo, e as palavras-chaves: Paracetamol; Hepatotoxicidade; Acetaminofeno; Automedicação; Lesão hepática.

No fígado, o paracetamol é metabolizado, através de três mecanismos, sendo a conjugação hepática com ácido glicurônico, sulfatação e oxidação. Sua intoxicação ocorre quando a sobredose de GSH esgota, acarretando o acúmulo de *N*-acetil-p-benzo-quinona (NAPQI, Figura 1). Essa substância é altamente tóxica para as mitocôndrias, causa fragmentação nuclear, levando a um processo irreversível de necrose dos hepatócitos.²

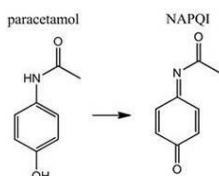


Figura 1: Estruturas do Paracetamol e de seu metabólito tóxico (NAPQI).

Estudos apontam, que o paracetamol é um fármaco, amplamente usado, podendo ocorrer a sua intoxicação tanto de maneira intencional como não intencional, por conta disso, é comumente associado a overdose agudas e falência hepática

no mundo, com risco de hepatotoxicidade leve de 15,6% e grave de 6,4%.³⁻⁵ A primeira superdosagem foi observada pela primeira vez em 1966 com relatos de necrose fatal e não fatal. Além do exposto, recentemente, estudos observaram, um risco elevado de lesão hepática aguda por paracetamol, quando associado ao consumo excessivo de álcool e transtornos alimentares. Um outro estudo apontou que no Brasil foram registrados 89.375 casos de intoxicação em 2010, dos quais 26,9% foram ocasionados por uso de medicamentos, totalizando 24.050.⁶ Algumas pesquisas apontam, sobre a falta de conhecimento da população sobre a dose diária máxima segura para o consumo do paracetamol e de que se trata de um fármaco hepatóxico. Assim, por conta do seu baixo custo e alta acessibilidade acaba sendo utilizado de maneira irracional ou imprudente.⁷ Por fim, poucos estudos caracterizaram a descrição da hepatotoxicidade do paracetamol, sendo uma lacuna nos artigos utilizados nesta revisão.

Conclusões

Através desse estudo foi possível analisar que o paracetamol possui riscos de toxicidade quando consumido em excesso ou administrado acima da dose considerada segura, principalmente por conta da automedicação, acarretando riscos à saúde como a lesão hepática. Constatou-se também que a não exigência de prescrição médica, acaba tornando o seu uso irracional, tornando necessária a orientação de um profissional da saúde apesar de ser um medicamento considerado seguro.

Agradecimentos

Ao III SIMQFAM, à Universidade de Fortaleza e ao Centro Universitário Christus.

Referências e notas

- (1) COSTELLO, E *et al.* Environ Health Perspect. 2022.
- (2) CHIEW, A L. *et al.* Cochrane Database Syst Rev. 2018
- (3) BRAYNER, NF *et al.* Revista Científica da faculdade Sete de Setembro, v. 12, n. 16, 2018.
- (3) RIBEIRO, ACR *et al.* Mostra Científica da Farmácia, v. 5, mar. 2019. ISSN 2358-9124.
- (4) MOREIRA, Dalilla V. *et al.* SCISAUDE, 2023.
- (5) OLIVEIRA, Camila N. *et al.* Revista Inovação Tecnológica. São Paulo, v. 11, n. 2: Volume 11, No 2, 2021.
- (6) BOMFIM. *et al.* Trabalho de conclusão de curso (Farmácia) – Ânima Educação, 2022.
- (7) NECA, C. S. M.*et al.* Research, Society and Development, v. 11, n. 17, 2023.

Categoria: Revisão (R-S-PG-1)

O potencial terapêutico da Protectina DX na dor e inflamação

Jessica Aparecida Carneiro^{1*} (PG), Beatriz H. S. Bianchini¹ (PG), Waldiceu Aparecido Verri Junior¹ (PQ).
jessicacarneiro@uel.br

1 – Departamento de Ciências Patológicas, Universidade Estadual de Londrina, PR – Brasil.

Palavras Chave: Mediadores Lipídicos Pró-resolução, Protectina DX, Anti-inflamatório, Analgésico, Antioxidante

Introdução

Cronologicamente, a resposta inflamatória possui uma fase inicial e uma fase de resolução, em que em ambas há participação de mediadores lipídicos, os quais variam quanto a sua biossíntese e ação promotora^{1,2}. Na fase inicial, estes mediadores envolvidos são os eicosanóides (prostaglandinas e leucotrienos) sintetizados a partir do ácido araquidônico (ômega-6) (AA) e que geram ações pró-inflamatórias (alterações vasculares, recrutamento leucocitário, geração de citocinas pró e espécies reativas de oxigênio (ERO), além ativarem neurônios sensoriais gerando dor)¹. Já na fase resolutive, há os mediadores lipídicos pró-resolução (MLPRs) que incluem quatro famílias: as lipoxinas, resolvinas, maresinas e protectinas, sintetizadas a partir do ômega-3, com exceção das lipoxinas geradas pelo AA². Os MLPRs limitam e modulam a resposta inflamatória, induzindo ações antiinflamatórias e pró-resolutivas, os tornando alvo de diversas pesquisas que visam o tratamento de doenças inflamatórias². Assim, o foco desta revisão foi o potencial terapêutico da Protectina DX (PDX) em modelos de inflamação e dor.

Metodologia

A busca bibliográfica foi feita pela plataforma digital "Pubmed", considerando trabalhos publicados nos últimos 10 anos (2013-2023) e utilizando como palavras-chave "Protectin DX", "Pain" e "Inflammation". Devido a limitação de páginas do resumo, foram selecionados apenas 5 trabalhos que demonstram as características terapêuticas relevantes PDX em modelos de dor e inflamação.

Resultados e discussão

A PDX é membro da família das protectinas, biossintetizada a partir do ácido docosahexaenóico via 15-lipoxigenase e atua via receptor acoplado à proteína G (ainda desconhecido)². Como proposto para esta revisão, buscamos evidências que demonstrassem o perfil terapêutico da PDX em modelos de dor e inflamação. Abaixo, a Tabela 1 resume algumas dessas características.

Tabela 1. Evidências terapêuticas da PDX em modelos de dor e inflamação.

Artigos	Evidências terapêuticas
Zhao et al., 2021 ³ Piao et al., 2020 ⁴	↓ Mediadores pró-inflamatórios e do recrutamento leucocitário
Liu et al., 2014 ⁵ Hwang et al., 2019 ⁶	↓ Geração ERO e ↑ enzimas antioxidantes
Zhao et al., 2021 ³	↓ Hiperalgisia mecânica e térmica
Xia et al., 2017 ⁷	Polarização para fenótipo M2 em macrófagos

Assim, como ilustrado acima, a PDX possui efeito antiinflamatório^{3,4}, antioxidante^{5,6}, analgésico³ e pró-resolutivo⁷ em modelos agudos e crônicos de dor e inflamação, tanto *in vivo*^{3,4,7} quanto *in vitro*^{5,6} o que, desta forma, lança luz a uma nova potencial abordagem terapêutica para o tratamento de diversas doenças de cunho inflamatório e doloroso, como a osteoartrite⁴, dor neuropática lombar³ e sepse⁷, além de outros quadros inflamatórios não citados neste resumo, como artrite reumatóide, colite e doença aguda pulmonar.

Conclusões

Conclui-se que a PDX possui potencial terapêutico significativo para o tratamento da dor e inflamação.

Agradecimentos

Agradeço à UEL, LADINC, PRONEX, CNPq, CAPES, Fundação Araucária e ao III SIMQUIFAM.

Referências

- (1) Freire, M.O.; Van Dyke, T.E. *Periodontology*, **2000**, 63, 1.
- (2) Serhan, C. N.; Chiang, N.; Dalrymple, J. *Seminars in Immunology* **2015**, 27, 3.
- (3) Zhao Q. X. et al. *Frontiers in Physiology*, **2021**, 12.
- (4) Piao S. et al. *Int. Immunopharmacology*, **2020**, v. 78.
- (5) Liu M. et al. *Lipids*, **2014**, 49, 1.
- (6) Hwang H. J. et al. *Cellular Signalling*, 2019, v. 53.
- (7) Xia H. et al. *Scientificreports*, **2017**, 7, 1.

Categoria: Projeto (P-PG-1)

Triagem Virtual Para Identificação De Inibidores De Proteassoma De *Mycobacterium tuberculosis* Com Potencial Atividade Antimicobacteriana

Ana Carolina Ramos Gimenes¹ (PG), Marcelle de Lima Ferreira Bispo^{1*} (PQ). *mlfbispo@uel.br

1- Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR-Brasil, mlfbispo@uel.br.

Palavras-Chave: Tuberculose, Modelagem Molecular, ADMET.

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa ocasionada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, que foi responsável por 10 milhões de infectados mundialmente em 2019.¹ A TB é a maior causa de morte provocada por um agente infeccioso isolado, além de encontrar-se entre as dez maiores causas de óbitos mundiais.¹ Somado a isso, os fármacos de 1ª linha para a TB, devido a regime terapêutico longo e numerosos efeitos adversos, apresentam uma grande evasão de tratamento, permitindo o desenvolvimento de bactérias resistentes.² Este contexto, demanda novas estratégias de tratamento para a TB. Dessa forma, destacam-se as estratégias de descoberta de novos fármacos auxiliados por computadores, as quais permitem a economia de tempo e recursos. Dentro dessas tem-se as estratégias baseadas na estrutura do alvo molecular, como é o caso da triagem virtual baseada em *docking* molecular.³ Um dos alvos moleculares de importância para a TB é o proteassoma micobacteriano. Este é um complexo proteico extremamente importante para a reciclagem de proteínas, presente em diferentes organismos, como o *Homo sapiens* e as actinobactérias (*M.tuberculosis*).⁴ O proteassoma humano apresenta um núcleo central (20S) e duas subunidades regulatórias, sendo responsável por degradar proteínas, como as danificadas e citoplasmáticas.⁵ Enquanto o proteassoma bacteriano apresenta apenas a partícula 20S, voltando-se para a degradação de proteínas próprias e reciclagem de aminoácidos.⁶ Ainda, esse complexo apresenta uma ATPase regulatória e sequências únicas de α e β em 20S, específicas para o agente da TB, possibilitando o desenvolvimento de inibidores seletivos desse proteassoma e que venham a apresentar efeito antimicrobiano.⁷ Assim, o projeto propõe realizar uma triagem virtual da quimioteca do LaSMMed buscando identificar possíveis moléculas inibidoras do proteassoma de *M.tuberculosis* e analisar *in silico* as propriedades físico-químicas e o perfil de *druglikeness*.

Metodologia

A estruturas dos proteassomas de *M.tuberculosis* e *Homo sapiens* obtidas do Protein Data Bank serão submetidas a análise de *docking* molecular utilizando-se do software GOLD Suite (v.2020-1). No qual as estruturas serão tratadas adicionando-se os átomos de hidrogênio e extraído os ligantes co-cristalizados. Estes últimos terão suas coordenadas copiadas, assumindo um raio mínimo de 15 Å para as análises. Admitindo-se o modo semi-flexível para a análise molecular, com 10 poses de ancoragem dos ligantes nas quatro funções do GOLD (GoldScore, ChemScore, ChemPLP, ASP). Esse protocolo será validado por meio do *redocking* (RMSD < 2,0 Å). As interações ligante-alvo serão analisadas no *Discovery Studio Visualizer* (v.19.1.0.18287).

Os parâmetros físico-químicos e de *druglikeness* serão posteriormente analisados nas plataformas online de SwissADME e ADMETLab 2.0.

Resultados esperados

O projeto pretende selecionar possíveis inibidores de proteassoma micobacteriano que possam agregar novas estratégias de tratamento para a TB.

Considerações finais

Para os compostos que apresentarem as melhores pontuações e interações nas análises *in silico* pretende-se avaliá-los *in vitro* frente ao *M.tuberculosis*.

Agradecimentos

A UEL pela oportunidade de realizar o projeto.

Referências e notas

- (1) World Health Organization. 2020. *Global Tuberculosis Report*.
- (2) Branco, F. et al. *RVq*. **2012**, 4, 287.
- (3) Macalino, S. J. Y. et al. *Arch. Pharm. Res.* **2015**, 38, 1686.
- (4) Kavalchuk, M. et al. *Nat. Commun.* **2022**, 13, 276.
- (5) Jung, T.; Grune, T. *PMBTS*. **2012**, 109, 1.
- (6) Humbard, M.; Maupin-Furlow, J. A. *JMMB*. **2013**, 23, 321.
- (7) Li, D. et al. *The EMBO Journal*. **2010**, 29, 2037.

Categoria: Projeto (P-PG-2)

Síntese e avaliação do potencial antiplasmodial de triazóis e triazinas.

Fabrizio Santos¹ (PG), Giovana S. M. Pereira¹ (IC), Gustavo H. R. Viana² (PQ), Anna Paola Butera¹ (PQ).
*fabrizio.santos@uel.br

1- Departamento de Química, Universidade Estadual de Londrina, PR - Brasil.

2- Departamento de Biotecnologia, Universidade Federal de São João Del Rei, MG - Brasil.

Palavras Chave: Malária, plasmodium, fármacos, antiplasmodial.

Introdução

A malária representa um grande problema sanitário, dado a evolução constante no número de casos, sendo responsável por 247 milhões de casos e 617 mil mortes no ano de 2021.¹ Devido ao baixo direcionamento de recursos, encaixando-se como doença negligenciada², e à ocorrência de resistências aos fármacos utilizados clinicamente,³ faz-se necessária a busca de novos potenciais fármacos antimaláricos. Derivados de 3-alkilpiridinas são ligantes do grupo heme,⁴ sendo potenciais inibidores da formação da hemozoína, o que pode impedir a sobrevivência do parasito no corpo humano. Com base na estrutura desses derivados, foram desenhados alquiltraizóis e triazinas que em estudos de triagem virtual mostraram-se ligantes de enzimas plasmodiais.⁵ Portanto, a síntese dessas estruturas, a avaliação do perfil de interação com a hematina e da atividade antiplasmodial são o foco do presente projeto.

Metodologia

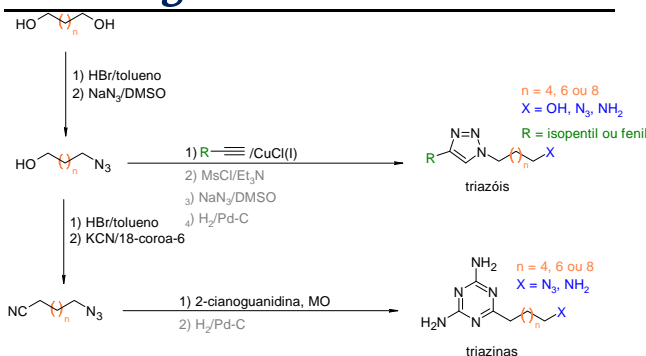


Figura 1: Rota sintética sugerida para as triazinas e triazóis.

Os dióis (Figura 1) serão convertidos a azidoálcoois, em duas etapas, com HBr, em seguida com azida de sódio. Para a síntese dos triazóis, as alquilazidas serão submetidas a reação com alcinos em presença de cloreto de cobre (I). As derivatizações na porção terminal da cadeia

alquílica serão obtidas por reações de substituição da hidroxila pelo grupo azida e posteriormente redizadas à amino. Para a síntese das triazinas, os azido-álcoois serão convertidos em ciano-azidas, em duas etapas, com HBr, seguida por reação com cianeto de potássio. As ciano-azida serão submetidas a condensação com cianoguanidina em micro-ondas.

Os estudos de interação entre as estruturas e o grupo heme serão realizados por espectrofotometria UV-vis. Serão feitas adições da solução em hematina (5 µmol/L) dos ligantes. A variação das absorvidades será determinada em 401 nm para determinação da constante de dissociação calculada pela plataforma BindFit. A atividade antiplasmodial dos compostos sintetizados, frente a *P. falciparum*, será avaliada em ensaio de incorporação de hipoxantina, empregando-se como controle positivo a cloroquina.

Resultados esperados

O presente trabalho visa ampliar a quimioteca de heterocíclis sujeitos a avaliação frente a ensaios celulares (atividade antiplasmodial, citotoxicidade e interação com o grupo heme).

Considerações finais

Com bons resultados parte-se para a síntese de dímeros de triazinas e triazóis com outras estruturas já sintetizadas e testadas previamente em busca do aumento da quimioteca para um melhor candidato a fármaco contra a malária.

Agradecimentos

Agradeço aos CAPES pelo auxílio financeiro, aos laboratórios associados (LasmMed e LabSPEC) pelas análises e disponibilidade de materiais.

Referências e notas

- (1) WHO. *World Malaria Report 2022*. 2022. 15.
- (2) Saviano, M. et al. **2019**, *Sustainability*, 11(5), 1289.
- (3) Ashley, E. et al. *N Engl J Med*. **2014**, 371(5), 411-23.
- (4) Ribeiro-Viana, R. et al. *J. Chem. Inf. Model*. **2016**, 56, 571.
- (5) Sousa, J. Qualificação (Doutorado). **2021**

