



JESSICA AMARAL DE FARIA

**EXPLICIT SOLVENT MODELING OF NMR PARAMETERS OF OXIMES IN
WATER AND IONIC LIQUIDS**

Lavras - MG

2018

JESSICA AMARAL DE FARIA

**EXPLICIT SOLVENT MODELING OF NMR PARAMETERS OF OXIMES IN
WATER AND IONIC LIQUIDS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Teodorico de Castro Ramalho

Orientador

Prof. Dr. Luciano Tavares da Costa

Coorientador

Lavras - MG

2018

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

de Faria, Jéssica Amaral.

Explicit solvent modeling of nmr parameters of oximes in
water and ionic liquids / Jéssica Amaral de Faria. - 2018.

69 p. : il.

Orientador(a): Teodorico de Castro Ramalho.

Coorientador(a): Luciano Tavares da Costa.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Ressonância Magnética Nuclear. 2. Líquido Iônico. 3.
Oxima. I. Ramalho, Teodorico de Castro. II. da Costa, Luciano
Tavares. III. Título.

JÉSSICA AMARAL DE FARIA

**EXPLICIT SOLVENT MODELING OF NMR PARAMETERS OF OXIMES IN
WATER AND IONIC LIQUIDS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agroquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 07 de maio de 2018.

Dr. Teodorico de Castro Ramalho – UFLA

Dr. Jonas Leal Neto – UFLA

Dr. Daniel Henriques Soares Leal – UFES

Prof. Dr. Teodorico de Castro Ramalho

Orientador

Prof. Dr. Luciano Costa Tavares

Coorientador

Lavras - MG

2018

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela bolsa de mestrado ao longo dos dois anos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Química (DQI), pela oportunidade de realização do mestrado.

A Deus, por não me deixar desistir nos momentos difíceis do mestrado e me mostrar que me tornar mestra, fará todos os esforços valerem a pena.

Aos meus pais, Roberto e Neiva pelo incentivo em sempre buscar ser melhor e ter a melhor formação possível para continuar me aperfeiçoando no meu campo de interesse dentro da Química.

Ao meu irmão e melhor amigo, Leonardo, por todo o carinho, palavras de encorajamento, amizade e compreensão e motivação a sempre a buscar mais,

Às minhas queridas vovós, Lazara e Elenilda, pelas orações tão necessárias.

Ao meu orientador e coorientador Teodorico de Castro Ramalho e Luciano Tavares Costa, por toda a confiança em meu trabalho, pela compreensão, encorajamento e acima de tudo, pelo apoio desde o início do mestrado.

À professora Daiana, por todo o apoio, encorajamento e ajuda em me ajudar a realizar meus trabalhos da forma mais correta possível.

Ao Igor pelo amor, carinho e companheirismo dedicados a mim durante todo o mestrado.

Aos irmãos de 2010/1, às, minhas companheiras de morada, e aos colegas do grupo de Química Computacional por sempre torcerem por mim e me encorajarem durante toda minha caminhada no mestrado.

À Intercement Brasil, unidade de Ijaci, por garantir que eu pudesse aliar meu trabalho e a finalização dessa dissertação com tranquilidade e compreensão.

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo empregar a dinâmica molecular e o cálculo teórico da RMN para investigar os efeitos teóricos e do solvente nos parâmetros de RMN das oximas, em uma abordagem QM / MM sequencial. Utilizando o software GROMACS, foi realizada uma simulação clássica de dinâmica molecular para a oxima 4-PAM e 3-F-4-PAM usando água e BMIM-BF₄ como solventes com o campo de força OPLS. Posteriormente cálculos de dinâmica molecular quântica e RMN foram realizados para identificar o flúor da oxima de 3-F-4-PAM como sonda espectroscópica para o tratamento da intoxicação por OP, utilizando o software Gaussian 09, com a metodologia GIAO com o funcional híbrido B3LYP e a função de base 6-31G (d, p). Nesta linha, a partir de nossos cálculos, o uso de líquidos iônicos pode ser uma “ponte” razoável entre custo e precisão para a detecção de modelagem de agentes de contraste de RMN para compostos organofosforados inibidos por enzimas AChE.

Palavras-chave: RMN, Líquido Iônico, Oxima, Sonda Espectroscópica.

ABSTRACT

This work aims to employ the molecular dynamics and the theoretical calculation of NMR to investigate the theoretical and solvent effects on NMR parameters of oximes, in a sequential QM / MM approach. Using GROMACS software, a classic molecular dynamics simulation was performed for the 4-PAM oxime and 3-F-4-PAM using water and BMIM-BF₄ as solvents using the OPLS force field. Subsequently calculations of quantum molecular dynamics and NMR were performed to identify the fluorine of 3-F-4-PAM oxime as a spectroscopic probe for the treatment of OP intoxication, using the Gaussian 09 software, with the methodology GIAO using the hybrid functional B3LYP and the basis set 6-31G(d,p). In this line, from our calculations, the use of ionic liquids can provide a reasonable trade-off between cost and accuracy for detection of modeling MRI contrast agents for AChE enzymes inhibited organophosphorus compounds.

Keywords: NMR, Ionic Liquid, Oxime, Spectroscopic Probe.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural de gás mostarda	14
Figura 2: Fórmula estrutural do fosfogênio	14
Figura 3: Fórmula estrutural do cianeto	14
Figura 4: Fórmula estrutural da cloroacetofenona	14
Figura 5: Fórmula estrutural do composto organofosforado Sarin	15
Figura 6: Estrutura geral de um OP	16
Figura 7: Mecanismo de inibição da AChE	19
Figura 8: Mecanismo de ativação da AChE	20
Figura 9: Estruturas das oximas 2-PAM, 4-PAM e 3-Flúor-4-PAM	21
Figura 10: Exemplos de cátions e ânions utilizados em líquidos iônicos	24

LISTA DE SIGLAS

2-PAM	2-metil-piridinoaldoxima
3-F-4-PAM	3-flúor-4- [(hidroxiimino) metil] -1-metil-piridínio
4-PAM	4-metil-piridinoaldoxima
ACh	Acetilcolina
AChE	Enzima Acetilcolinesterase
AN	Agentes de Nervos
CG	Cromatografia gasosa
ChE	Colinesterase
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
OP	Organophosphorous Compounds
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TMB-4	Diporoxima
TTF-TCNQ	Tioatina de trietavaleno-tetracianoquinodimetano
UV-Visível	Ultravioleta Visível
HuAChE	Acetilcolinesterase humana
DFT	Teoria do funcional da densidade
HF	Hartree-Fock
HFR	Hatree-Fock-Roothaan
LDA	Local Density Approximation
GGA	Generalized Gradient Approximation

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	4
RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE SIGLAS	8
SUMÁRIO.....	9
1 INTRODUÇÃO	10
PARTE 1	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 ARMAS QUÍMICAS	13
2.2 COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS	15
2.3 OXIMAS.....	17
2.3.1 Preparação de Oximas	17
2.3.2 Aplicação de oximas no tratamento de intoxicação.....	18
2.3.3 Oxima 3-Flúor-4-PAM.....	21
2.4 LÍQUIDOS IÔNICOS	23
2.4.1 Aspectos Gerais	23
2.5 ESPECTROSCOPIA	25
2.5.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	26
2.5.1.1 O Núcleo de Flúor	29
2.6 MÉTODOS COMPUTACIONAIS	30
2.6.1 Dinâmica Molecular Clássica.....	31
2.6.2 Dinâmica Molecular Quântica.....	33
2.6.3 Teoria do Funcional de Densidade (DFT)	34
3 OBJETIVO	37
REFERÊNCIAS	39
PARTE 2	50
ARTIGO.....	50

1 INTRODUÇÃO

Alguns compostos químicos são tóxicos aos seres humanos, sendo verificadas irritações na pele, toxicidade no sistema pulmonar, hipoxia citotóxica, alergias fisiológicas e irritabilidade mental, e também os agentes de nervos (AN) que são responsáveis pela inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), causando vários efeitos deletérios que podem levar à morte. Os mais importantes AN são Tabun, sarin, Soman e VX, também chamados de compostos organofosforados (OP, do inglês organophosphorous compounds) (DELFINO *et al.*, 2009). Após a Segunda Guerra Mundial, os OP tiveram um interessante desenvolvimento, e seu uso foi estendido para a fabricação de pesticidas, causando uma menor instabilidade ambiental em comparação com o diclorodifeniltricloroetano (DDT). A alta toxicidade inseticida foi um dos principais fatores para o sucesso dos pesticidas organofosforados (OP), especialmente nos países em desenvolvimento (CASIDA E DURKIN, 2013; WOREK *et al.*, 2016).

O tratamento para os casos de envenenamento por OP é uma grande preocupação para os pesquisadores, tendo em vista o grande número de casos conhecidos. Esta preocupação tem crescido devido aos muitos ataques terroristas ocorridos em vários países nos últimos anos. Uma das formas de tratamento para o envenenamento por OP é o uso de oximas para reativação da enzima AChE inibida pelos pesticidas organofosforados (SHROT *et al.*, 2009). Para reativação da enzima AChE, uma oxima faz um ataque nucleofílico ao fósforo do OP formando uma fosforoxima, reativando assim a enzima AChE (KUCA *et al.*, 2006).

As oximas também são importantes tendo em vista suas características anti-inflamatórias, anti-alérgicas, antibacterianas e fungicidas, bem como seus efeitos hematotóxicos. Além disso, elas podem ser aplicadas como antídotos para agentes nervosos, vasodilatadores, fármacos anticancerígenos, pró-fármacos para cetonas farmacologicamente ativas tais como cetoprofeno e nabumetona, e têm outras aplicações em ciências alimentares, por exemplo (CHONG *et al.*, 2007). Muitas oximas são conhecidas e as suas propriedades são muito estudadas, exemplo disso são a 2-metil-piridinoaldoxima (2-PAM), 4-metil-piridinoaldoxima (4-PAM) e sua variação 3-flúor-4-[(hidroxiimino) metil]-1-metil-piridínio. A oxima 2-PAM foi utilizado no Japão em 1995,

para fins de desintoxicação por contaminação com Sarin. Neste acidente quase 14 pessoas morreram e pelo menos 5000 foram feridas no metrô de Tóquio (MIYAKI et al., 2005).

A identificação de compostos organofosforado não é muito simples ainda nos dias atuais, por isso tem estimulado pesquisadores a desenvolverem métodos sensíveis e seletivos para a detecção destes compostos (CARULLO et al., 2015). Geralmente, a detecção de OP é realizada utilizando técnicas com custos elevados, tais como cromatografia gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (BEYER e BIZIUK, 2008). Novas técnicas para detectar esses compostos organofosforados são pesquisadas, Zamfir *et al.* (2013), por exemplo, desenvolveram um biossensor de acetilcolinesterase altamente sensível para a detecção de drogas carbamato, baseadas no sensor tioatina de trietavaleno-tetracianoquinodimetano (TTF-TCNQ). O sensor foi utilizado para a detecção de dois fármacos terapêuticos com o grupo carbamato e foram obtidos limites de detecção muito baixos de esporina de 26 pmol.L⁻¹ e neostigmina de 0,3 nmol.L⁻¹. A análise da água da torneira provou a capacidade do biossensor ser usado como um método de seleção para a detecção de drogas do carbamato em águas residuais.

O uso de líquidos iônicos como suporte para sensores e biossensores e como eletrólito ainda é pouco explorado, mas muito promissor. Os líquidos iônicos são compostos por cátions orgânicos e ânions orgânicos ou inorgânicos, possuem um número de propriedades físico-químicas vantajosas, incluindo pressão de vapor desprezível à temperaturas ambiente, estabilidade térmica elevada, janela eletroquímica ampla e propriedades de solvatação ajustáveis (HALLETT e WELTON, 2011). Os elétrodos modificados com líquido iônico são amplamente utilizados para a imobilização de biomoléculas importantes, e resultados consideráveis sugeriram que o uso de líquidos iônicos poderia facilitar a transferência eficiente de elétrons de várias biomoléculas, bem como aumentar a sensibilidade da resposta do biossensor (KADOKAWA, 2011).

Os líquidos iônicos são também usados como solvente, sendo uma alternativa ao uso de solventes tradicionais, entretanto, os resultados da análise são variáveis em condições diferentes do solvente e de líquido iônico, também entre líquidos iônicos diferentes. Para isto, toda a reação deve ser monitorada. Métodos como espectroscopia no UV-Visível, análise espectrométrica de massa e análise cromatográfica (incorporando espectrometria de massa ou de outra forma), têm utilidade variável para a análise do

progresso da reação em líquidos iônicos com, na melhor das hipóteses, limitações baseadas na natureza das espécies envolvidas e na escala de tempo da reação. Assim, a técnica de RMN é uma alternativa viável que não requer nenhum processamento da mistura de reação - e não destrutiva. A reação pode ter lugar no espectrometro, tipicamente com excelente controle de temperatura ($\pm 0,1$ K é prontamente realizável) e com uma ampla gama de temperatura disponível (173-403 K) em instrumentos típicos, e outras propriedades que a torna uma técnica favorável para a detecção de reações de ativação da acetilcolinesterase (RUAN *et al.*, 1999; BUTLER *et al.*, 2016). Um exemplo do uso da RMN na detecção em reações com IL foi a aplicação da RMN *in situ* para entender o mecanismo da reação de CO₂ com aminas líquidas em sistemas não aquosos como líquidos iônicos (KORTUNOV *et al.*, 2015).

Com base neste contexto, este trabalho tem como objetivo o uso de dinâmica molecular e o cálculo de RMN para proposição de um método de identificação de compostos organofosforados em organismos biológicos, por meio da substituição da água pelo líquido iônico na interação com algumas oximas.

PARTE 1

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ARMAS QUÍMICAS

Alguns agentes químicos são empregados desde a antiguidade nas mais diversas áreas, porém apenas com a expansão da indústria é que se tornou possível a utilização desses agentes como arma de destruição em massa, chamadas de armas químicas. (GIACOPPO *et al.*, 2014). As armas químicas de guerra podem ser definidas como qualquer substância química cujas propriedades tóxicas são utilizadas para matar, ferir ou incapacitar algum inimigo na guerra ou associada a operações militares (SMART, 1997), sendo que um dos aspectos mais relevantes a respeito do uso de armas químicas está relacionado ao seu alto poder de destruição e baixo custo, quando comparadas com armas convencionais (GONÇALVES, 2009).

As armas químicas ganharam importância militar na Primeira Guerra Mundial (1914-1918), durante o qual o exército alemão utilizou gás cloro contra tropas aliadas da Bélgica, porém, na Segunda Guerra Mundial, houve o desenvolvimento de agentes de guerra mais potentes chamados organofosforados, agentes neurotóxicos ou “agentes dos nervos”, possuindo toxicidade muito mais elevada do que os anteriormente conhecidos. A alta toxicidade aliada ao baixo custo despertou o interesse de organizações terroristas, fazendo com que a defesa contra armas químicas deixasse de ser uma preocupação estritamente militar, e passasse a ser também uma preocupação civil (GIACOPPO *et al.*, 2014; GONÇALVES, 2009).

Existem cinco classes de armas químicas:

- 1) Vesicantes: substâncias que causam irritação e destruição da pele e de membranas mucosas, sobretudo nos pulmões; como exemplo, podemos citar os chamados “gases mostarda”, que causam forte efeito incapacitante.

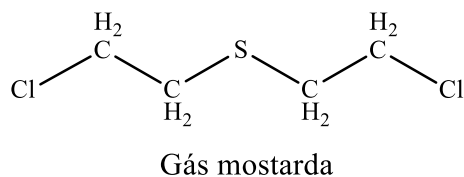


Figura 1: Fórmula estrutural de gás mostarda.

- 2) Tóxicos pulmonares: atacam os tratos respiratórios, tendo como principal representante o fosgênio (COCl_2).

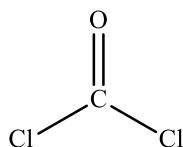


Figura 2: Fórmula estrutural do fosgênio.

- 3) Cianeto: substâncias que liberam íons cianeto no organismo, com alta capacidade mortal pela inibição da enzima citocromo-c oxidase, tendo como representantes populares o ácido cianídrico e o cianeto de cloro.

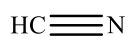


Figura 3: Fórmula estrutural do cianeto.

- 4) Agentes incapacitantes ou irritantes: compostos que levam a efeitos fisiológicos e mentais negativos que incapacitam as pessoas de realizarem suas atividades rotineiras; como exemplo temos os lacrimogênicos como cloroacetofenona e análogos, e os compostos psicoativos como o benzilato de 3-quinoclidila.

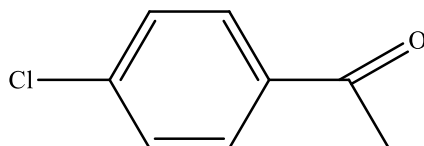


Figura 4: Fórmula estrutural da cloroacetofenona.

- 5) Agentes neurotóxicos: OP's que atuam inibindo a enzima AChE, responsável pela finalização da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses colinérgicas, cuja inibição leva à chamada crise colinérgica, com vários efeitos, inclusive a morte por deficiência respiratória (SILVA et al., 2012).

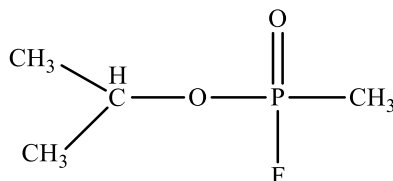


Figura 5: Fórmula estrutural do composto organofosforado Sarin.

2.2 COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS

Os OP são compostos que possuem grande interesse comercial e toxicológico. Possuem em sua estrutura básica, normalmente, ésteres ou derivados de tio ésteres de ácido fosfórico, fosfínico ou fosforamídico. Sua estrutura geral é apresentada na figura 1 e o oxigênio pode ser substituído pelo enxofre. Os radicais R₁ e R₂ podem ser grupos alquil e aril que se ligam ao átomo de fósforo diretamente para formar fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou enxofre para formar fosfatos ou fosfotioatos, respectivamente. Para geração de fosfonatos, R₁ liga-se diretamente ao átomo de fósforo, enquanto R₂ se liga através de uma ligação de átomos de oxigênio ou enxofre. Já para a formação de fosforamidatos, pelo menos um dos radicais liga-se ao fósforo através de um grupo -NH₂ (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1986).

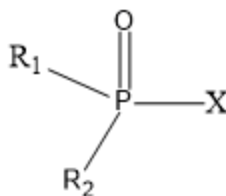


Figura 6: Estrutura geral de um OP.

O grupo X pode ser qualquer halogênio, grupos alifáticos, aromáticos ou heterocíclicos. Este grupo se ligará normalmente ao átomo de fósforo através de um

átomo de oxigênio ou de enxofre e é chamado de grupo abandonador, por ser o grupo que se separa quando o OP reage covalentemente com a proteína alvo. Muitos OP são sintetizados como forma P=S e através da sua conversão metabólica a variante "oxo" potencialmente mais tóxica é gerada subsequentemente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1986).

Os OP são amplamente utilizados como inseticidas, plastificantes e aditivos para combustíveis. Estes compostos inibem potentemente a AChE, a enzima que inativa a acetilcolina nas sinapses neuronais, e a exposição aguda a altos níveis de OP pode causar crises colinérgicas em humanos e animais (VOORHEES *et al.*, 2017). Eles foram desenvolvidos nos anos 1990 como inseticidas que matam insetos via inibição de colinesterases (ChE). Embora estes produtos químicos fossem tão eficazes quanto seus predecessores pesticidas organoclorados, os pesticidas organofosforados ofereciam uma vantagem significativa de uma persistência ambiental reduzida (MARRS *et al.*, 2007; MOSHIRI *et al.*, 2012). Infelizmente devido à conservação de ChEs em todas as espécies, inclusive humanos, os OP foram adaptados como agentes de guerra química na década de 1930, permanecendo entre os mais potentes agentes de guerra química usados atualmente. Nos dias atuais, uma das formas mais conhecidas de suicídio é a ingestão proposital de OP, principalmente em regiões onde o porte de arma é proibido ou dificultado (EDDLESTON *et al.*, 2007).

O uso de pesticidas atualmente está em declínio, especialmente nos países desenvolvidos. Desde 1997, houve uma mudança no mercado de OP's e carbamatos para piretróides e neonicotinóides, juntamente com uma variedade de pesticidas não-neuroativos, como agentes biológicos ou análogos de hormônios juvenis (CASIDA e QUISTAD, 2005). Apesar do número de compostos agindo em outros alvos, os inibidores das ChEs aumentaram nas últimas três décadas de acordo com a United States Environmental Protection Agency (USEPA, 2011). Os OP e os metil carbamatos permanecem no topo da lista entre os inseticidas comerciais e a sua importância provavelmente continuará por décadas, uma vez que são eficazes e baratos (CASIDA e DURKIN, 2013).

Devido ao uso em larga escala dos OP muitos estudos são feitos em todo o mundo, na busca de formas eficientes de diminuir os casos de suicídios por esses compostos.

Esforços para encontrar antídotos eficazes contra a intoxicação por agentes de nervos são grandes e classes de ativadores da AChE são amplamente estudadas, como é o caso das oximas.

2.3 OXIMAS

2.3.1 Preparação de Oximas

As oximas são compostos com semelhanças com às iminas (fórmula geral: $RR'C=N-R$) em que sua forma geral é: $RR'C=N-OH$. Tratam-se de compostos químicos estáveis e de fácil preparação sendo classificados como aldoximas ou cetoximas, dependendo da natureza dos radicais em sua estrutura (DIETER e DATAR, 1993; CORSARO *et al.*, 2009; DINDAR *et al.*, 2010), sendo que as cetoximas apresentam duas cadeias laterais alquila (R e R') e, nas aldoximas, um destes dois radicais é obrigatoriamente um átomo de hidrogênio. As oximas também podem atuar como quelantes sendo que os compostos contendo-as são anfóteros, pois revelam tanto um caráter ácido devido ao hidrogênio ionizável, como básico (mesmo que discretamente) devido à presença do par de elétrons livres no átomo de nitrogênio (DEMETGÜL e SERIN, 2008). Vogh (1971) sugere que as cetoximas se comportam como ácidos mais fracos que as aldoximas correspondentes. Ele sugere também que as oximas são estáveis em condições alcalinas, e este meio favorece a formação da base conjugada deste grupo, o ânion oximato ($RR'C=N-O^-$).

Na síntese orgânica as oximas merecem menção por sua versatilidade, as quais podem ser obtidas por uma série de reações químicas, e a partir de diversos grupos funcionais como: aldeídos, cetonas, olefinas, aminas, nitro compostos, nitritos e compostos que apresentam hidrogênios α -carbonila e atuam na preparação de vários grupos nitrogenados, como: amidas, anéis isoxazolínicos, nitrosos, nitro compostos, nitrilas e aminas. Neste último aspecto, destaca-se o Rearranjo de Beckmann, reação empregada na síntese industrial de lactamas, e as reações de cicloadição 1,3-dipolar, onde os anéis isoxazolínicos produzidos são promissores para a Química Medicinal e para o desenvolvimento de novos materiais tecnológicos (ARAÚJO e GONSALVES, 2015).

Classicamente as oximas são preparadas (WUTS e GREENE, 2006), por refluxo em uma solução alcoólica de um composto carbonílico com cloridrato de hidroxilamina e piridina. O método possui vários obstáculos como baixos rendimentos, longo tempo de reação, toxicidade da piridina e poluição de efluentes causados pelo solvente orgânico. Reações sem solventes têm conseguido uma considerável atenção e popularidade nos últimos anos (TANAKA e TODA, 2000), não apenas devido ao ponto de vista ambiental, mas também devido às suas vantagens sintéticas em termos de rendimento, seletividade e simplicidade do processo de reação.

2.3.2 Aplicação de oximas no tratamento de intoxicação

Uma das maiores ameaças do mundo moderno é a possibilidade de utilização de armas químicas pelas forças militares ou por grupos terroristas. Entre essas armas, os chamados agentes neurotóxicos, vulgarmente conhecidos como "agentes nervosos", constituem a maior preocupação, devido aos seus efeitos altamente deletérios sobre os seres humanos. A potencialidade de ataques que empregam estes agentes proporciona uma forte razão para a investigação contínua sobre o desenvolvimento de antídotos mais eficazes contra eles (DELFINO *et al.*, 2009).

A forma de se tratar vítimas de agentes neurotóxicos vem sendo estudada ao longo dos anos e uma delas consiste na administração de certas oximas piridínicas, que possuem a capacidade de regenerar a atividade catalítica da enzima AChE, o alvo destes compostos (SHROT *et al.*, 2009).

A AChE pertencente à família das colinesterases, sendo responsável pela finalização da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses colinérgicas pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh). A AChE está presente no sistema nervoso central e periférico (RANG, DALE, RITTER, 2001), sendo que no periférico ela é responsável pela modulação dos impulsos nervosos que controlam os batimentos cardíacos, pela dilatação dos vasos sanguíneos e pela contração dos músculos lisos, e já no sistema nervoso central ela está envolvida no controle motor, na cognição e na memória (PETRONILHO *et al.*, 2011).

A AChE possui alta eficiência catalítica, com capacidade de hidrolisar até 6×10^5 moléculas de ACh por molécula de enzima por minuto, e possui um sítio ativo onde existem três resíduos principais de aminoácidos, os quais estão envolvidos diretamente no processo de hidrólise da ACh, a serina número 200 (Ser200), a histidina número 440 (His440) e o ácido glutâmico número 327 (Glu327) (SUSSMAN *et al.*, 1991; SILMAN e SUSSMAN, 2005).

A intoxicação por organofosforados se dá pelo seguinte mecanismo (Figura 2):

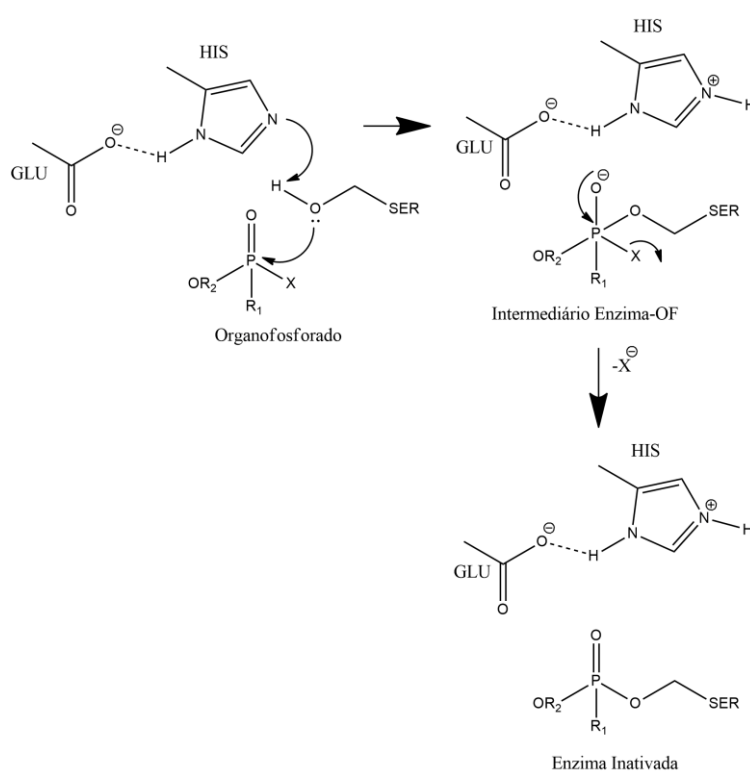


Figura 7: Mecanismo de inibição da AChE.

Esse tipo de intoxicação ocorre no sistema nervoso central e no sistema nervoso periférico. Os OP têm grande afinidade pela enzima AChE que, uma vez inibida, não será mais capaz de hidrolisar a ACh. A inibição ocorre no interior do sítio ativo, no aminoácido serina da tríade catalítica, via uma interação com o OP. No caso da AChE humana (HuAChE), o OP liga-se covalentemente a Ser 203. Esta ligação ocorre entre o átomo de

fósforo do organofosforado e o átomo de oxigênio da serina, com subsequente saída do grupo -X do OP (ORDENTLICH *et al.*, 2004).

Durante a inibição da AChE, o sítio esterásico fosforilado pode sofrer regeneração hidrolítica espontânea, porém, com uma velocidade tão baixa que pode chegar a ser insignificante. Assim, em 1951, Wilson mostrou que compostos contendo grupos nucleofílicos como oximas (RCH=NOH), e hidroxilaminas (NH₂OH), por exemplo, reativavam a enzima com maior rapidez que a hidrólise espontânea. Ele ainda constatou que a AChE fosforilada poderia ter a atividade esterase restaurada por substâncias que deslocassem o grupo fosforila da enzima. Esta reativação seletiva pode ser alcançada por um composto contendo um nitrogênio quaternário e um nucleófilo, em que um nitrogênio quaternário interaja com o sítio “aniônico” catalítico, deixando o nucleófilo em posição oposta ao átomo de fósforo (GILMAN, 2005; MUSILEK *et al.*, 2011)

Um mecanismo para a reativação da acetilcolinesterase é mostrado abaixo (Figura 3) e sugere que, para a reativação da enzima ser eficiente, esta depende da nucleofilicidade da substância, neste caso do oximato. A oxima efetua um ataque nucleofílico sobre o átomo de fósforo, formando uma fosforiloxima (KUCA *et al.*, 2006).

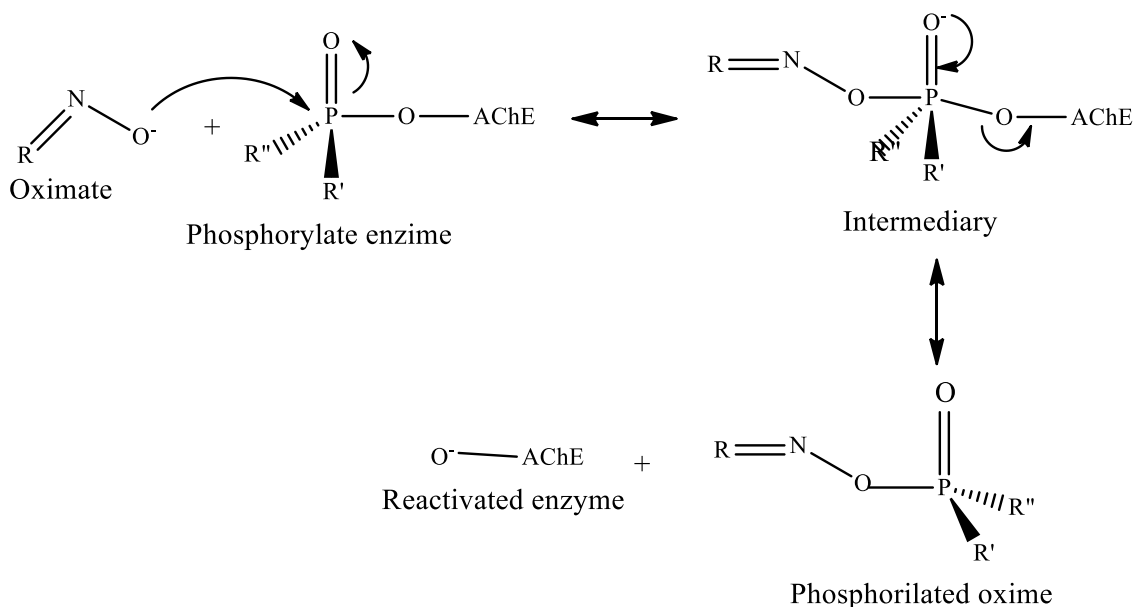


Figura 8: Mecanismo de ativação da AChE.

2.3.3 Oxima 3-Flúor-4-PAM

Segundo Ginsburg e Wilson (1957), o iodeto de 3-flúor-4-hidroxiiminometil-1-metilpiridíneo é um derivado do composto 2-PAM que contém em sua estrutura um átomo de flúor no anel de piridina do iodeto de 4-hidroxiiminometil-1-metilpiridíneo, sendo considerado relativamente reativo e também chamado 4-PAM. Ao substituir o H pelo F, observou-se que o pK_a da oxima é reduzido de 8,6 para um valor entre 8,0-8,2, sendo esse pK_a considerado como ótimo fazendo-se comparativo com o 2-PAM e a diporoxima (TMB-4) que possuem pK_a 8,0 e 8,2 respectivamente e são considerados rápidos reativadores da AChE. Devido a essas características e à baixa dissociação da oxima 4-PAM, podendo fazer o papel de uma solução tampão biológica, espera-se que a oxima 3-flúor-4-PAM deva ultrapassar o reativador clássico 2-PAM (GINSBURG e WILSON, 1957) na velocidade de reativação da AChE e também a 4-PAM (SOROF *et al.*, 1985), devido à presença do flúor que pode conferir uma maior lipofilicidade à oxima. A fim de ilustração, as estruturas dos compostos 2-PAM, 4-PAM e 3-flúor-4-PAM são mostradas na figura 9.

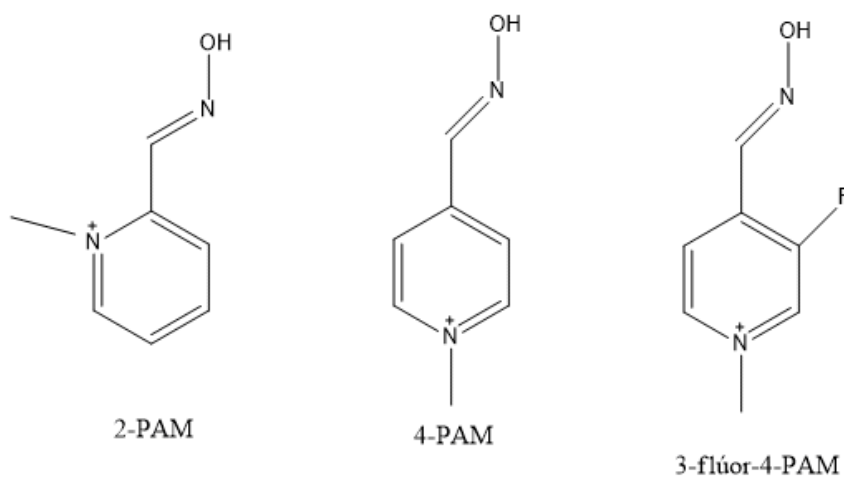


Figura 9: Estruturas das oximas 2-PAM, 4-PAM e 3-Flúor-4-PAM.

O átomo de flúor e grupo trifluorometil são de particular interesse, uma vez que promovem forte efeito de remoção de elétrons. Os grupos -F e -CF₃ contribuem para um número de propriedades moleculares biologicamente importantes. Alguns dos fármacos

mais conhecidos contendo flúor com atividade antibacteriana são as fluoroquinolonas. A substituição isostérica de hidrogênio por flúor em compostos de organofluoranos pode aumentar a lipofilicidade e assim aumentar a taxa de penetração celular, que é uma característica muito importante na liberação de fármaco, ambos referindo-se a bactérias procarióticas, Gram-negativas, assim como células eucarióticas. A maior polarizabilidade devido à ligação C-F pode dar origem a novas possibilidades de ligação ao receptor. A substituição do flúor pode também influenciar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas da molécula (SAEED *et al.*, 2009).

A lipofilicidade é um parâmetro molecular chave na química medicinal, especialmente no desenvolvimento de fármacos ativos do sistema nervoso central que requerem permeabilidade à barreira cerebral. Ela pode ser aumentada pela adição de átomos de flúor, e geralmente a troca do hidrogênio por ele, leva a molécula a se tornar mais lipofílica. O exemplo disso é mostrado nos estudos de sondagem do efeito da substituição de hidrogênio por flúor na lipofilicidade, que mostra que a substituição de um único hidrogênio por flúor eleva o valor de log D em cerca de 0,25 (JEONG *et al.*, 2009).

Pensando nisso, Jeong *et al.* (2009) trabalharam no desenvolvimento de oximas reativadoras permeáveis à barreira cerebral para a AChE inibida por agentes tóxicos organofosforados. Eles hipotetizaram que a introdução de flúor em posições de anel heterocíclico de oximas de piridina poderia representar uma estratégia viável para o aumento da lipofilicidade, a permeabilidade da barreira cerebral e assim uma melhor potência de reativação para a enzima AChE inibida, através de cálculos assistidos por computador de lipofilia para auxiliar na concepção de oximas de piridínio fluoradas ideais. Os cálculos de *ab initio* Hartree-Fock (HF) e da teoria do funcional da densidade (DFT) B3LYP usando o pacote GAUSSIAN 03 foram realizados em oximas de piridínio, incluindo 4-PAM e 3-Flúor-4-PAM, para medir e comparar as densidades eletrônicas. Como resultados eles obtiveram que 3-Flúor-4-PAM é mais lipofílico do que a substância não fluorada, 4-PAM. Conseqüentemente, o composto 3-F-4-PAM deve ser capaz de penetrar mais a barreira cerebral em comparação com a substância 4-PAM e conseqüentemente gerar uma reativação mais rápida para a enzima AChE.

2.4 LÍQUIDOS IÔNICOS

2.4.1 Aspectos Gerais

Os líquidos iônicos, em um consenso, podem ser considerados como sais com temperatura de fusão abaixo da temperatura de ebulição da água. Eles são formados por pares iônicos, os quais tanto cátions quanto ânions podem ser modificados química e estruturalmente, gerando uma imensa gama de produtos com características físico-químicas bastante diferenciadas (SPEZIALI e SINISTERRA, 2015).

A primeira pesquisa sobre líquidos iônicos é datada de 1914. Em 1914, Walden (PLECHKOVA e SEDDON, 2008), definiu líquidos iônicos como: materiais que são compostos de cátions e ânions que fundem a 100 °C ou abaixo desta temperatura. Esta temperatura não tem qualquer significado químico ou físico, mas persiste até os dias atuais, somente recentemente estudos estão sendo feitos para verificar essa afirmação. Um potencial incrível para muitas aplicações devido à sua pressão de vapor desprezível em condições normais de operação e grande faixa de temperatura de trabalho são atribuídos aos líquidos iônicos.

Duas categorias são usadas para classificar os líquidos iônicos simples (formados por apenas um cátion e um ânion) e binários (formados por mais de um cátion e ânion e envolvem um equilíbrio iônico). Exemplos das duas categorias são o $[\text{EtNH}_3]^+\text{NO}_3^-$ e o dialquilimidazólio, que têm suas propriedades vinculadas à fração molar dos constituintes de seu equilíbrio (EARLE e SEDDON, 2002; WASSERSCHIED *et al.*, 2002).

Normalmente são usados como cátions em líquidos iônicos, grupos que possuam anéis aromáticos que dispersam a carga positiva, fazendo com que ele apresente baixa polarização em sua densidade de carga na superfície do cátion. A dispersão na polarização da carga, também é observada nos cátions quaternários de amônio e fosfônio, nos quais a carga positiva está fortemente localizada no átomo central (nitrogênio ou fósforo), porém esta carga não está acessível na superfície da molécula, e por essa razão a polarização da carga é dispersa sobre as cadeias alquílicas. Os ânions que fazem parte dos líquidos iônicos devem ter uma alta simetria e sua carga negativa deve ser dispersa sobre os quatro ou seis átomos ligados ao átomo central, como no BF_4^- e PF_6^- , ou ser dispersa por

conjugação como no ânion bis (trifluorosulfanil) amida. Essas condições são necessárias para que tanto o cátion como o ânion, não apresentem forte polarização da carga em sua superfície, não havendo assim a agregação dos íons e, conseqüentemente, a formação do cristal (SILVA, 2004).

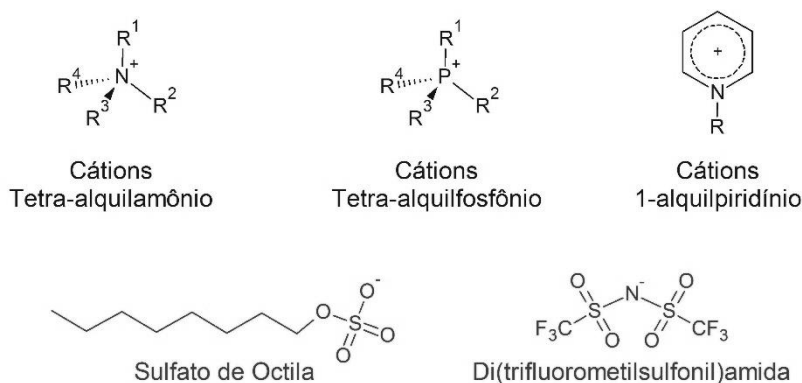


Figura 10: Exemplos de cátions e ânions utilizados em líquidos iônicos.

Uma importante aplicação para os LI's é a possibilidade de sua utilização como solvente verde em processos de síntese e catálise, pois possuem como características serem bons solventes tanto para materiais orgânicos e inorgânicos, podendo ser combinados a reagentes e introduzidos na mesma fase, por serem compostos constituídos por íons de fraca coordenação, têm potencial de serem altamente polares em solventes não coordenantes, apresentam miscibilidade em uma série de solventes orgânicos, proporcionando uma solução não aquosa polar, sendo uma alternativa quando existem sistemas bifásicos e por não serem voláteis, podem ser utilizados em sistemas de alto vácuo. (WELTON, 1999).

Por apresentarem as características citadas anteriormente, os líquidos iônicos representam uma classe única de fluidos que combinam propriedades interessantes, tais como boa estabilidade térmica, ampla gama de fluidez, alta condutividade iônica, amplo potencial eletroquímico e baixa/negligenciável volatilidade. A origem destas propriedades únicas decorre principalmente do conjunto de várias interações entre os íons (por exemplo força de Coulomb, ligação de hidrogênio, força intermolecular) (LIU *et al.*, 2010; FEDOROV e KORNYSHEV, 2014). Assim, os líquidos iônicos podem ser

estrategicamente projetados para aplicações específicas, quando as interações iônicas são entendidas em detalhe e em nível molecular.

Shi e Wang (2016) apresentaram resultados que confirmam que os líquidos iônicos possuem características únicas, citadas acima, devido à sua dupla natureza iônica e orgânica, comparando as estruturas de íons/molécula estruturadas como gaiolas, obtidas a partir de simulações de dinâmica molecular para sete líquidos prototípicos - um sal fundido inorgânico, quatro líquidos iônicos, um solvente orgânico altamente polar, e um solvente orgânico fracamente polar, que revelaram que a profundidade desse panorama de energia na gaiola caracteriza a natureza iônica dos líquidos iônicos, enquanto que a inclinação e curvatura de suas energias mínimas determinam a natureza orgânica desses líquidos, sendo uma descoberta importante para o auxílio na compreensão no comportamento dos líquidos iônicos e, portanto, ajudar em uma utilização eficiente, bem como a concepção sistemática de novos líquidos iônicos funcionalizados.

Nos últimos anos avanços significativos no uso de líquidos iônicos e água como solventes em reações como hidrogenação catalítica, hidrogenação por transferência, oxidação, hidroformilação, carbonilação, alquilação, acilação, substituição nucleofílica, halogenação, condensação, ciclização de Diels-Alder e adição de Michael, entre outros. Na química orgânica sintética, o uso de solventes verdes, mesmo em catalisadores homogêneos e heterogêneos, apresenta muitos avanços. Com relação aos compostos organofosforados, já verificou-se que tanto líquidos iônicos como a água promovem reações principais levando a substâncias de importância prática e de investigação (ALBRYCHT *et al.*, 2005). Exemplos na literatura de líquidos iônicos com compostos organofosforados são escassos, no entanto, esses princípios e métodos "verdes" entraram muito lentamente na química organofosforada em comparação com a síntese orgânica geral, aparentemente devido a advertências relacionadas à instabilidade de compostos organofosforados nestes solventes (ODINETS e MATVEEVA, 2010).

2.5 ESPECTROSCOPIA

Existem diversas maneiras de se identificar um material, da mais rudimentar até a mais tecnologicamente avançada (LEITE e PRADO, 2012). As várias técnicas

espectroscópicas existentes podem ser utilizadas para uma série de finalidades, como determinar a concentração de substâncias em alimentos e medicamentos, permitindo avanços no controle de qualidade desses produtos, melhor compreensão das propriedades microscópicas responsáveis por características macroscópicas, algo fundamental para o desenvolvimento, produção e utilização de novos materiais, procurar e descobrir elementos e substâncias que constituem a matéria de estrelas e planetas (STUART, 2004; CHALMERS e GRIFFITHS, 2012).

Particularmente, as técnicas espectroscópicas podem ser utilizadas para a caracterização de materiais, ou seja, com elas é possível obter informações sobre os tipos de ligações entre átomos, a vizinhança atômica desses átomos e ligações, a presença e a concentração de substâncias em amostras, etc (LEITE e PRADO, 2012).

2.5.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) foi desenvolvida no final dos anos quarenta para fins de estudar os núcleos atômicos. Em 1951, descobriu-se que a espectroscopia de RMN química podem ser utilizadas para determinar as estruturas de compostos orgânicos. Esta técnica pode ser usada apenas para estudar núcleos atômicos com um número ímpar de prótons ou nêutrons (ou ambos), apresentados em átomos de ^1H , ^{13}C , ^{19}F e ^{31}P . Esses núcleos são magneticamente ativos, ou seja, possuem spin, como os elétrons. À medida que os núcleos têm carga positiva e tem um movimento de rotação em torno de seu eixo spin, faz com que se comportem como se fossem pequenos ímãs. Na ausência de campo magnético, os spins nucleares são orientados aleatoriamente. No entanto, quando uma amostra é colocada num campo magnético, os núcleos com spin positivo estão orientados na mesma direção do campo, num estado de energia mínima chamado de spin α , enquanto os núcleos com spin negativo são orientados para oposto ao campo magnético, em um estado de energia mais elevado chamado estado de spin β . Existem mais núcleos com estado de spin α (devido à sua menor energia) do que na β , mas a diferença não é enorme, o que é suficiente para estabelecer a base de espectroscopia de RMN (VALCÁRCEL *et al.*, 2008).

Para obtenção dos espectros é preciso monitorar transições de *spin* nuclear sofridas por núcleos atômicos submetidos a um campo de indução magnética. Em tais condições, a energia envolvida nessas transições é quantizada, sendo que o deslocamento químico (δ), um dos parâmetros fundamentais da RMN, está diretamente relacionado com a frequência da radiação absorvida por um núcleo ao sofrer esse processo. Essa frequência (ν) depende, por sua vez, da intensidade do campo de indução magnética, B , a que o núcleo se encontra submetido. Essa relação é apresentada pela equação 1, onde γ é a chamada constante magnetogírica, que depende unicamente do núcleo monitorado (SANDERS e HUNTER, 1993).

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} |\vec{B}_0| \quad 1$$

Os núcleos atômicos em uma determinada amostra, se encontram degenerados; porém, quando esses núcleos são submetidos a um campo magnético externo (B_0), a degenerescência é quebrada e os núcleos passam a se orientar na direção de B_0 . Na ausência de um campo magnético externo ($B_0=0$), os spins nucleares se encontram no mesmo nível de energia. No caso dos átomos de ^1H , por exemplo, não há distinção entre os estados α e β . Contudo, com a imposição de B_0 , há o surgimento de diferentes níveis de energia entre esses dois estados devido à interação entre o campo B_0 e o momento magnético nuclear (μ) de cada núcleo, o qual se relaciona com o momento angular de spin nuclear e com a constante magnetogírica (γ) através da equação 2 (MONTES, 2016).

$$\vec{\mu} = \gamma * \vec{L} \quad 2$$

No espectrômetro de RMN, a amostra é submetida a B_0 , contudo, os núcleos presentes nessa amostra não estão efetivamente submetidos a este campo, pois quando submetidos a B_0 , os elétrons interagem com ele e, dessa maneira, passam a criar eles mesmos um campo magnético induzido B (toda a carga elétrica em movimento cria um campo de indução magnética), cuja intensidade é proporcional à do campo externo B_0 ,

representado pela relação $|\vec{B}| = \sigma|\vec{B}_0|$, em que σ é a constante de proporcionalidade entre os campos magnéticos, chamado de constante de blindagem (GIL e GERALDES, 1991).

Segundo Silverstein *et al.* (1991), o deslocamento químico dos diversos núcleos de uma molécula depende do ambiente eletrônico que circunda cada um deles e essa dependência se encontra expressa pela constante de blindagem. O deslocamento químico é um número pequeno e adimensional, geralmente expresso em partes por milhão (ppm).

$$\delta = \sigma_{refer\acute{e}ncia} - \sigma_{n\acute{u}cleo} \quad 3$$

Um dos fatores que interferem na blindagem magnética é a densidade de cargas ao redor do núcleo. Tomando o átomo de hidrogênio como exemplo, que possui uma distribuição de cargas com simetria esférica, há uma contribuição chamada blindagem diamagnética, σ_{dia} . Este valor pode ser calculado teoricamente, porém, para átomos maiores, os resultados obtidos são diferentes dos observados experimentalmente, por isso há também uma contribuição chamada blindagem paramagnética, σ_{para} , que corrige tal diferença com base no efeito da distribuição de cargas não-esféricas. Outros fatores que também interferem na blindagem magnética são (CLARIDGE, 2009):

- A contribuição para a anisotropia magnética de grupos vizinhos, σ_N ;
- O efeito de corrente de anel em arenos, σ_R ;
- O efeito de campo elétrico, σ_e ;
- O efeito de interações intermoleculares, σ_i .

Dessa forma, a constante de blindagem magnética pode ser calculada de acordo com a Equação 4 e é diferente para cada núcleo estudado (Claridge, 2009).

$$\sigma = \sigma_{dia} + \sigma_{para} + \sigma_N + \sigma_R + \sigma_e + \sigma_i \quad 4$$

2.5.1.1 O Núcleo de Flúor

O núcleo do flúor tem a vantagem de ter 100% de abundância natural e alta razão giromagnética, é 20% menos sensível que ^1H , e ressona a 94% da radiofrequência do ^1H . Os espectros de RMN de ^{19}F de substâncias organofluoradas são geralmente de primeira ordem e possuem o intervalo de deslocamento químico muito maior que o de ^1H , com cerca de 350 ppm. Além disso, a intensidade dos sinais no espectro de RMN de ^{19}F é bastante informativa, pois fornece o número relativo deste elemento naquele sinal, bem como os possíveis acoplamentos que estes possam realizar entre si. O número quântico de spin (I) nuclear de flúor é 1/2, permitindo o seu acoplamento com prótons e carbonos vizinhos, com tempos de relaxação suficientemente longos para serem observados e com valores de integração confiáveis. As análises das constantes de acoplamentos JH-F, JC-F e JF-F são importantes evidências na elucidação das estruturas dos organofluorados (BRANCO *et al.*, 2015).

Devido à vasta aplicação industrial dos organofluorados especialmente na indústria de plásticos, a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de flúor (^{19}F RMN) ganhou grande relevância, por isso, os espectrômetros de ressonância magnética nuclear, disponíveis em indústrias e instituições acadêmicas, possuem sondas para o núcleo de flúor, acrescido a isso, a importância dos organofluorados, faz com que o espectro de RMN de ^{19}F seja o terceiro mais utilizado, após os de ^1H e ^{13}C (DOLBIER, 2009; EVERETT, 1988; GERIG, 2001).

Levando-se em conta que moléculas fluoradas são essencialmente ausentes no meio biológico, para análises in vivo não há sobreposição de sinais de fundo, ou seja, as moléculas fluoradas aplicadas no organismo podem ser estudadas por RMN de ^{19}F sem que haja a interferências de sinais de substâncias endógenas, como há no caso dos de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{15}N (BRANCO *et al.*, 2015).

Para cálculo de RMN de substâncias que possuam núcleos de flúor, o fluorotriclorometano, o fluoroclorofórmio (CFCl_3), é o padrão interno aceito para assinalar o deslocamento zero na RMN de ^{19}F embora o sinal não seja um singleto. O sinal do CFCl_3 apresenta quatro linhas de intensidades diferentes, devido ao efeito

isotópico dos núcleos de cloro com deslocamentos químicos diferentes (BRANCO *et al.*, 2015).

2.6 MÉTODOS COMPUTACIONAIS

Com o aumento do poder computacional e maior acesso a grandes clusters observados durante a última década, métodos de simulação tornaram-se uma ferramenta cada vez mais útil para muitos campos da ciência, incluindo química, ciência dos materiais, física da matéria condensadas, e biofísica (MORALES *et al.*, 2014). A química computacional é um ramo da química que tem atingido um crescente interesse, inclusive entre químicos experimentais. Nesta área de concentração, problemas químicos são resolvidos por métodos computacionais, nos quais um modelo do mundo real é construído, tanto com propriedades mensuráveis como não mensuráveis que são computadas e comparadas com propriedades determinadas experimentalmente. Esta comparação valida ou invalida o modelo que é usado. No primeiro caso, o modelo pode ser usado para estudar as relações entre parâmetros e suposições acerca de um modelo experimental ou para prever quantidades desconhecidas ou não mensuráveis (VAN GUNSTEREN e BERENDSEN, 1990).

Desde que a química se referiu ao estudo das propriedades das substâncias ou sistemas moleculares em termos de átomos, o desafio básico para a química computacional é descrever ou mesmo prever (VAN GUNSTEREN e BERENDSEN, 1990):

1. A estrutura e a estabilidade de um sistema molecular,
2. A energia (livre) de diferentes estados de um sistema molecular,
3. Os processos de reação dentro de sistemas moleculares em termos de interações no nível atômico.

Estes três desafios básicos são listados de acordo com a dificuldade crescente. O primeiro desafio refere-se à previsão de que o estado de um sistema tem a menor energia. O segundo desafio vai mais longe: envolve predição da energia relativa (livre) de estados

diferentes. O terceiro desafio envolve predição do processo dinâmico de mudança de estados (VAN GUNSTEREN e BERENDSEN, 1990).

A maioria, se não todas, das simulações de computador usando partículas requerem a especificação da energia potencial do sistema como uma função das coordenadas das partículas (FRENKEL e SMIT, 2002). A maioria dos métodos *ab initio*, representam sistemas como feitos de elétrons e núcleos atômicos, e a lei de Coulomb é suficiente para explicar todas as interações. Em todos os outros casos, as partículas representam objetos compostos, tais como átomos ou núcleos atômicos, revestidos por elétrons do núcleo, possivelmente, incorporados em um mar de elétrons de valência descritos em algum nível aproximado de uma teoria de muitos corpos. Então, todas as interações relevantes precisam ser trabalhadas para fora em uma base caso a caso, e o esforço necessário para determinar as forças inter-partículas pode representar uma fração considerável do trabalho a ser feito para investigar sistemas de matéria condensada, por exemplo (MORALES *et al.*, 2014).

2.6.1 Dinâmica Molecular Clássica

Desenvolvido como um método simples, no final dos anos 1950, os algoritmos de dinâmica molecular clássica têm evoluído muito, especialmente para o estudo dos sistemas biológicos. Todos os átomos em simulações de dinâmica molecular clássica, empregando mecânica clássica, permitiram o estudo de uma ampla gama de sistemas biológicos, a partir de pequenas moléculas, como anestésicos (BERNARDI *et al.*, 2009) ou pequenos peptídeos (MENDES *et al.*, 2012), a complexos de proteínas muito grandes, como os ribossomos (BOCK *et al.*, 2013).

A maioria dos protocolos de dinâmica molecular clássica está bem estabelecida e pode ser aplicada a uma ampla gama de investigações, enquanto novos protocolos continuam a ser desenvolvidos, “empurrando” as limitações das simulações de dinâmica molecular clássica (BERNARDI *et al.*, 2015; PERILLA *et al.*, 2015; GOH *et al.*, 2016). Amostragens conformacionais, simulações muito longas (no regime milissegundo), sistemas muito grandes (como complexos proteicos na escala megadalton) e resolução de grandes estruturas no espaço real são algumas dessas limitações. No entanto, embora a

maioria dos protocolos esteja bem estabelecida, a necessidade de compreender os detalhes subjacentes a estes protocolos levou a dinâmica molecular clássica a ser vista por um longo tempo como uma técnica exigente e apenas acessível a um usuário com profundo conhecimento em metodologias computacionais (RIBEIRO *et al.*, 2016).

A solução numérica das equações 1 e 2 é a base dos cálculos da dinâmica molecular (NAMBA *et al.*, 2008).

$$F_i(t) = m_i a_i \quad 1$$

$$F_i(t) = \frac{\partial V(r_i)}{\partial r_i} \quad 2$$

onde F_i representa a força que atua sobre cada partícula do sistema em um instante de tempo t , e a_i é a aceleração do átomo i de massa m_i (NAMBA *et al.*, 2008).

O tratamento clássico só permite a resolução destas equações para sistemas com até duas partículas independentes. A resolução para sistemas maiores é feita com o uso de métodos numéricos. Se a posição no tempo t é $r(t)$, a posição após um intervalo de tempo curto Δt pode ser obtida pela seguinte série de Taylor (SANT'ANNA, 2009):

$$r(t + \Delta t) = r(t) + \frac{dr}{dt} \Delta t + \frac{d^2r}{dt^2} \frac{\Delta t^2}{2} + \dots \quad 3$$

Essa solução numérica então depende do conhecimento da posição $r(t)$, da velocidade $\frac{dr}{dt}$ e da aceleração $\frac{d^2r}{dt^2}$ para cada átomo, além de algumas aproximações para as contribuições de termos de maior ordem. O intervalo de tempo Δt de cada etapa da trajetória é um parâmetro de grande importância em um cálculo de dinâmica molecular. Primeiramente, Δt deve ser pequeno o suficiente para que a aceleração possa ser considerada constante neste intervalo; todavia, intervalos muito pequenos fariam com que os tempos de cálculo da trajetória completa se tornassem proibitivos. Na prática, o Δt usado é da ordem de 0,5 a 1 fs (1 fs = 10^{-15} s) (SANT'ANNA, 2009).

O tempo da trajetória avaliada é em geral curto, visto que a simulação de dinâmica é um processo computacionalmente bastante custoso. Para sistemas na faixa dos milhares de átomos, a maior parte das simulações se restringe às centenas de picossegundos ($1 \text{ ps} = 10^{-12} \text{ s}$), a menos que computadores com elevada capacidade de processamento sejam utilizados. Para sistemas menores, a trajetória pode em alguns casos alcançar a faixa dos nanossegundos (SANT'ANNA, 2009).

Para realizar cálculos de dinâmica molecular clássica, é preciso determinar um conjunto de equações empíricas e parâmetros utilizados em cada esquema de mecânica molecular, chamado de campo de forças. Definido isso, é possível determinar a força que atua sobre cada átomo, calculando-se a primeira derivada da energia potencial obtida do campo de forças escolhido com relação à posição dos núcleos. Assim, essas equações serão resolvidas simultaneamente em um pequeno espaço de tempo. Desta forma, é obtida a trajetória de cada átomo do sistema com relação ao tempo (NAMBA *et al.*, 2008).

Para que a simulação de dinâmica molecular clássica seja realizada, algumas condições iniciais são essenciais, quais sejam, a especificação das posições iniciais das partículas que compõem o sistema e a montagem do sistema que deve ser colocado dentro de uma caixa que pode adotar diferentes geometrias (embora, geralmente, seja uma caixa cúbica). Para sistemas biomoleculares, é importante adicionar moléculas de águas dentro do sistema e, na caixa, ser aplicado o modelo de condição periódica de contorno, evitando que as moléculas de água escapem do meio (NAMBA *et al.*, 2008).

O sistema deve ser minimizado ainda, antes da simulação começar, com a finalidade de se evitar maus contatos entre os átomos. A minimização, ou otimização, do sistema é feita a fim de obter uma energia próxima do mínimo local. Os algoritmos de minimização mais utilizados são o método do máximo declive (*steepest descent*), o método dos gradientes conjugados e o método quasi Newton Raphson (NAMBA *et al.*, 2008; MANCINI, 2013).

2.6.2 Dinâmica Molecular Quântica

Um fundamento rigoroso da mecânica quântica é dado pela predição de propriedades químicas, observáveis por meio de postulados e teoremas da mecânica,

segundo os primeiros princípios. De modo geral, segundo o postulado fundamental da mecânica quântica, sistemas microscópicos são descritos por funções de onda que caracterizam todas as propriedades físicas deste sistema. Em particular, há na mecânica quântica operadores correspondentes para cada caráter físico observável (CRAMER, 2004).

Os postulados da mecânica quântica foram introduzidos a partir de 1920 por vários físicos teóricos da época, tais como Bohr, Einstein, Heisenberg e, principalmente, Schrödinger, tendo como objetivo central a resolução da Equação de Schrödinger, por meio da qual é possível obter uma função de onda Ψ que descreve sistemas por completo (SANTIAGO, 2014).

A equação para estados estacionários pode ser apresentada da seguinte forma:

$$\hat{H}\psi = E\psi \quad 4$$

onde o \hat{H} é o operador Hamiltoniano, que é aplicado sobre a função de onda retornando a mesma função multiplicada pela energia do sistema em estudo, E . Como a solução exata da equação de Schrödinger não é possível para sistemas multieletrônicos, são utilizados em tais casos métodos aproximados baseados ainda no conceito da função de onda ou em outras abordagens (SANTIAGO, 2014).

2.6.3 Teoria do Funcional de Densidade (DFT)

A previsão de propriedades moleculares quantitativamente ou tendências qualitativas dessas propriedades e explicar a natureza da ligação química estão entre os principais objetivos da Química Quântica. A Teoria do funcional de densidade (DFT) emergiu como alternativa aos tradicionais métodos *ab-initio* padrão, que são baseados em equações de Hatree-Fock-Roothaan (HFR), pois apresenta maiores velocidades computacionais e espaço em memória por exigirem menores requisitos computacionais. Pensando em um sistema hipotético modelado com n funções de base, observaremos um esforço computacional aumentado na ordem de n^3 , enquanto que em métodos de Hatree-Fock, aumentam na ordem de n^4 e n^5 (LABANOWSKI e ANDZELM, 1991).

A Teoria do Funcional da Densidade baseia-se em dois teoremas propostos por Hohenberg e Kohn [H-K] (HOHENBERG e KOHN, 1964). O primeiro teorema estabelece que todas as propriedades de um sistema de partículas no estado fundamental podem ser conhecidas se for determinada a densidade de carga, $\rho_0(x,y,z)$, do sistema. Ou seja, se for conhecida a função $\rho_0(x, y, z)$, qualquer propriedade no estado fundamental pode ser determinada como um funcional da densidade de cargas no estado fundamental, como (DANTAS, 2009):

$$\langle O \rangle = O[\rho_0(x, y, z)] \quad 5$$

O segundo teorema estabelece, que se o funcional existe, então ele tem um mínimo de energia no estado fundamental do sistema. Sendo ρ a função de densidade (DANTAS, 2009).

$$E[\rho] \geq E[\rho_0] \quad 6$$

A partir do teorema de H-K pode-se escrever o valor esperado do Hamiltoniano no estado fundamental como (DANTAS, 2009):

$$E_0 = \langle \Psi | H | \Psi \rangle = E[\rho_0(x, y, z)] \quad 7$$

E a E_0 pode ser descrita com o auxílio do método variacional, que se trata de uma “ferramenta” matemática utilizada para encontrar aproximações do valor próprio de mais baixa energia ou estado fundamental. (DANTAS, 2009),

$$E_0 = \frac{\delta E[\rho(x, y, z)]}{\delta \rho} \quad 8$$

Assim, o método DFT é baseado na densidade eletrônica, designada por ρ , sendo uma função tridimensional que carrega toda informação do sistema. Para efeitos de cálculo, um funcional de densidade é utilizado para obter a energia para a densidade eletrônica, e a posterior minimização desse funcional leva à energia do estado fundamental do sistema

multieletrônico. Um funcional é uma função de uma função que, nesse caso, é a densidade eletrônica. Atualmente, inúmeros funcionais já foram propostos e outros tantos estão em estudo. Para que se faça uso de algum deles, é preciso entender as necessidades do sistema em estudo e saber quais as vantagens e desvantagens que aquele funcional pode trazer para o seu estudo (KOCH e HOLTHAUSEN, 2001, FERREIRA, 2011; ROCHA, 2013).

Para resolver a energia pelo método DFT, Kohn e Sham propuseram que o funcional tem a forma, de acordo com a equação (MANCINI, 2013):

$$E[\rho(r)] = T_e[\rho(r)] + V_{ne}[\rho(r)] + V_{ee}[\rho(r)] + E_{xc}[\rho(r)] \quad 9$$

Em que V_{ne} é a energia potencial de atração núcleo-elétron e V_{ee} a energia de repulsão elétron-elétron. Ambas são dadas pelas equações 10 e 11. (MANCINI, 2013)

$$V_{ne}[\rho(r)] = \sum_j^{nuclei} \int \frac{Z_j}{|r - r_k|} \rho(r) dr \quad 10$$

$$V_{ee}[\rho(r)] = \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1 - r_2|} dr_1 dr_2 \quad 11$$

O E_{xc} é o termo de inclusão dos efeitos de correlação eletrônica, sendo esse termo dividido em energia de troca (E_x) e energia de correlação (E_c). Assim, a dificuldade do uso do método baseado na teoria do funcional da densidade é a definição desse funcional E_{xc} , sendo o uso desses funcionais a diferença entre os métodos de DFT (MANCINI, 2013).

A aproximação mais simples para $v_{xc}[\rho](\vec{r})$, a aproximação da densidade local (LDA, de Local Density Approximation), também foi proposta por Kohn e Sham. A LDA está baseada no paradigma mais utilizado em Física do Estado Sólido, o gás homogêneo de elétrons. Com esta aproximação, as equações de Kohn-Sham são pouco mais difíceis de resolver do que o átomo de hidrogênio, porém são facilmente resolvidas num computador. Apesar da sua simplicidade, a LDA dá resultados espantosos, para sistemas

finitos, como átomos e moléculas, por exemplo, a precisão é equivalente à do método de Hartree-Fock (MARQUES e BOTTI, 2006).

Desde a proposição do LDA, já foram propostas inúmeras outras aproximações para o potencial de troca e correlação. As mais populares para o estudo de sólidos são agora as chamadas aproximações generalizadas de gradientes (GGA, de Generalized Gradient Approximation), aproximações um pouco mais complexas do que a LDA, já que envolvem o gradiente da densidade. Em Química Quântica, para o estudo de moléculas em fase gasosa, os métodos mais em voga são híbridos, contendo uma mistura de GGA com Hartree-Fock. Estes métodos híbridos têm uma precisão mais elevada do que muitos dos métodos tradicionais da Química Quântica, mantendo, contudo, uma grande simplicidade computacional, o que permite a sua aplicação a sistemas de grande complexidade (Marques e Botti, 2006).

3 OBJETIVO

Essa dissertação tem como objetivo específico:

- Avaliar o efeito térmico e do solvente utilizando simulação de dinâmica molecular e cálculo de parâmetros de RMN (deslocamento químico) em água e em líquidos iônicos de uma oxima modelo.

REFERÊNCIAS

ALBRYCHT, M. et al. **Supercritical carbon dioxide as a reaction medium for enzymatic kinetic resolution of P-chiral hydroxymethanephosphinates**. *Tetrahedron : asymmetry*: Elsevier. 16: 5 p. 2005.

ARAÚJO, C. R. M.; GONSALVES, A. A. **Oximas: Propriedades Químicas, Métodos de Preparação e Aplicações na Síntese de Grupos Funcionais Nitrogenados**. Brasil: *Revista Virtual de Química*. 7: 1469-1495 p. 2015.

BERNARDI, R. C. et al. Molecular dynamics study of biomembrane/local anesthetics interactions. **Molecular Physics**, v. 107, n. 14, p. 1437-1443, 2009. ISSN 0026-8976.

BERNARDI, R. C.; MELO, M. C. R.; SCHULTEN, K. Enhanced sampling techniques in molecular dynamics simulations of biological systems. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1850, n. 5, p. 872-877, 2015. ISSN 0304-4165.

BEYER, A.; BIZIUK, M. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. **Food chemistry**, v. 108, n. 2, p. 669-680, 2008/05// 2008. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <http://europepmc.org/abstract/MED/26059147> >. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.024> >.

BOCK, L. V. et al. Energy barriers and driving forces in tRNA translocation through the ribosome. **Nat Struct Mol Biol**, v. 20, n. 12, p. 1390-1396, 12//print 2013. ISSN 1545-9993. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nsmb.2690> >.

BRANCO, F. S. C. et al. NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE OF ORGANOFLUORINE COMPOUNDS: A CHALLENGE IN THE TEACHING OF SPECTROSCOPY. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1237-1246, 2015. ISSN 0100-4042.

BUTLER, B. J. et al. NMR spectroscopy to follow reaction progress in ionic liquids. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 423-428, 2016. ISSN 1097-458X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/mrc.4161> >.

CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Anticholinesterase insecticide retrospective. **Chem Biol Interact**, v. 203, n. 1, p. 221-5, Mar 25 2013. ISSN 0009-2797.

CASIDA, J. E.; QUISTAD, G. B. Serine hydrolase targets of organophosphorus toxicants. **Chemico-Biological Interactions**, v. 157–158, p. 277-283, 12/15/ 2005. ISSN 0009-2797. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279705002772> >.

CARULLO, P. et al. Fluorescence Spectroscopy Approaches for the Development of a Real-Time Organophosphate Detection System Using an Enzymatic Sensor. **Sensors**, v. 15, n. 2, p. 3932-3951, Feb 2015.

CHALMERS, J. M.; GRIFFITHS, P. R. **Handbook of Vibrational Spectroscopy**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd 2012.

CHONG, S.-S. et al. O–H Bond Dissociation Enthalpies of Oximes: A Theoretical Assessment and Experimental Implications. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 111, n. 50, p. 13112-13125, 2007/12/01 2007. ISSN 1089-5639. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/jp075699a> >.

CLARIDGE, T. D. W. **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**. Oxford: Elsevier: 383 p. 2009.

CORSARO, A.; CHIACCHIO, M. A.; PISTARA, V. Regeneration of Carbonyl Compounds from the Corresponding Oximes: An Update Until to 2008. **Current Organic Chemistry**, v. 13, n. 5, p. 482-501, 2009. ISSN 1385-2728/1875-5348. Disponível em: < <http://www.eurekaselect.com/node/68841/article> >.

CRAMER, C. J. *Essentials of computational chemistry: theory and models*. New York: **John Wiley**, 2004. 618 p.

DANTAS, N. S. **Simulação Computacional de Novos Materiais Através da Teoria do Funcional da Densidade**. 2009. Tese (Doutorado). Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, SP.

DE GIACOPPO, J. O. S. et al. Guerra Química: Perspectivas no Estudo de Reativadores da Enzima Acetilcolinesterase Inibida por Organofosforados. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 3, p. 653-670, 2014.

DELFINO, R. T.; RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. **Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review**. . Brasil: **Journal of the Brazilian Chemical Society**. 20: 407-428 p. 2009.

DEMETGÜL, C.; SERIN, S. Synthesis and characterization of a new vic-dioxime derivative of chitosan and its transition metal complexes. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, n. 3, p. 506-512, 5/16/ 2008. ISSN 0144-8617. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861707004973> >.

DIETER, R. K.; DATAR, R. 1,2-Nucleophilic additions of organolithium reagents to chiral oxime ethers. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 71, n. 6, p. 814-823, 1993/06/01 1993. ISSN 0008-4042. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1139/v93-108> >.

DINDAR, M. H. et al. Solid phase extraction of copper(II) ions using C18-silica disks modified by oxime ligands. **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, n. 1-3, p. 289-294, 7/15/ 2010. ISSN 0304-3894. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389410003079> >.

DOLBIER, W. R.; *Guide to Fluorine NMR for Organic Chemists*. Wiley: Hoboken, 2009.

EARLE, M. J.; SEDDON, K. R. Ionic Liquids: Green Solvents for the Future. In: (Ed.). **Clean Solvents**: American Chemical Society, v.819, 2002. cap. 2, p.10-25. (ACS Symposium Series). ISBN 0-8412-3779-4.

EDDLESTON, M. et al. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. **The Lancet**, v. 371, n. 9612, p. 597-607, 2007. ISSN 0140-6736. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61202-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61202-1) >.

EVERETT, T. S.; **J. Chem. Educ.** 1988, 65, 422.

FEDOROV, M. V.; KORNYSHEV, A. A. Ionic Liquids at Electrified Interfaces. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 5, p. 2978-3036, 2014/03/12 2014. ISSN 0009-2665. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/cr400374x> >.

FERREIRA, D. E. C. **Estudo teórico de modelos biomiméticos para a hidrólise de ésteres fosfóricos**. 2011. 154 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

FRENKEL, D.; SMIT, B. **Understanding Molecular Simulation**: San Diego: Academic Press: 1-6 p. 2002.

GERIG, J. T.; Fluorine NMR. **Online textbook**, 2001, disponível em: <http://www.biophysics.org/Portals/1/PDFs/Education/gerig.pdf>. Acessado em 20/01/2018.

GIL, V. M. S.; GERALDES, C. F. G. **Ressonância magnética nuclear: fundamentos, métodos e aplicações**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian 1991.

GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da Terapêutica**: McGraw-Hill 2005.

GINSBURG, S.; WILSON, I. B. **Oximes of the pyridine series.**: Journal of the American Chemical Society. 79: 481–485 p. 1957

GOH, B. C. et al. Computational methodologies for real-space structural refinement of large macromolecular complexes. **Annual review of biophysics**, v. 45, p. 253-278, 2016. ISSN 1936-122X.

GONÇALVES, A.S. **Estudo da reativação da acetilcolinesterase humana inibida pelo organofosforado tabun através de métodos híbridos clássicos quanto-mecânicos.** (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. 2009.

HALLETT, J. P.; WELTON, T. Room-Temperature Ionic Liquids: Solvents for Synthesis and Catalysis. 2. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 5, p. 3508-3576, 2011/05/11 2011. ISSN 0009-2665. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/cr1003248> >.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Physical review**, v. 136, n. 3B, p. B864, 1964.

JEONG, H. C. et al. Fluorinated pyridinium oximes as potential reactivators for acetylcholinesterases inhibited by paraoxon organophosphorus agent. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 17, p. 6213-6217, 9/1/ 2009. ISSN 0968-0896. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089609007020> >.

KADOKAWA, J. **Photo-Induced Reduction Reaction of Methylene Blue in an Ionic Liquid.** IZAWA, H.; OHTA, T., et al: *International Journal of Organic Chemistry*. 1: 158-161 p. 2011.

KOCH, W.; HOLTHAUSEN, M. C. A. **Chemist's guide to density functional theory.** Weinheim: Wiley-VCH 2001

KORTUNOV, P. V. et al. In Situ Nuclear Magnetic Resonance Mechanistic Studies of Carbon Dioxide Reactions with Liquid Amines in Non-aqueous Systems: Evidence for the Formation of Carbamic Acids and Zwitterionic Species. **Energy & Fuels**, v. 29, n. 9,

p. 5940-5966, 2015/09/17 2015. ISSN 0887-0624. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b00985>>.

KUCA, K.; JUN, D.; MUSILEK, K. Structural requirements of acetylcholinesterase reactivators. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 6, n. 3, p. 269-277, 2006. ISSN 1389-5575.

LABANOWSKI, J. K.; ANDZELM, J. W. **Density Functional Methods In Chemistry**. New York: Spring-Verlag 1991.

LEITE, D. O.; PRADO, R. J. Espectroscopia no infravermelho: uma apresentação para o Ensino Médio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 34, n. 2, p. 2504, 2012.

LIU, H.; LIU, Y.; LI, J. Ionic liquids in surface electrochemistry. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 12, n. 8, p. 1685-1697, 2010. ISSN 1463-9076. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1039/B921469K>>.

MANCINI, D. T. **Fenilbenzotiazóis como sonda espectroscópica para biomoléculas : cálculo de propriedades estruturais e eletrônicas**. 2013, 157 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MARQUES, M. A.; BOTTI, S. O que é e para que serve a Teoria dos Funcionais da Densidade. **Gazeta de física**, v. 29, n. 4, p. 10-15, 2006.

MARRS, T. C. et al. **Chemical Warfare Agents: Toxicology and Treatment** New York: Wiley 2007.

MENDES, Y. S. et al. The Structural Dynamics of the Flavivirus Fusion Peptide–Membrane Interaction. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e47596, 2012. ISSN 1932-6203.

MIYAKI, K. et al.. "Effects of sarin on the nervous system of subway workers seven years after the Tokyo subway sarin attack". **Journal of Occupational Health**, Vol.47, pp.229-304. 2005.

MONTES, L. F. **Caracterização e Predição de Propriedades Físicas e Químicas de Destilados de Petróleo por Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**. 2016, 97 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES.

MORALES, A. M. et al. First Principles Methods: A Perspective from Quantum Monte Carlo. **Entropy**, v. 16, n. 1, 2014. ISSN 1099-4300.

MOSHIRI, M.; DARCHINI-MARAGHEH, E.; BALALI-MOOD, M. Advances in toxicology and medical treatment of chemical warfare nerve agents.. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 20 2012.

MUSILEK, K. et al. Design, evaluation and structure—Activity relationship studies of the AChE reactivators against organophosphorus pesticides. **Medicinal Research Reviews**, v. 31, n. 4, p. 548-575, 2011. ISSN 1098-1128. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/med.20192> >.

NAMBA, A. M.; SILVA, V. B. D.; SILVA, C. H. T. P. D. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética Química**, v. 33, p. 13-24, 2008. ISSN 0100-4670.

ODINETS, I. L.; MATVEEVA, E. V. Ionic liquids and water as “green” solvents in organophosphorus synthesis. **Current Organic Chemistry**, v. 14, n. 12, p. 1171-1184, 2010. ISSN 1385-2728.

ORDENTLICH, A. et al. Stereoselectivity toward VX Is Determined by Interactions with Residues of the Acyl Pocket as Well as of the Peripheral Anionic Site of AChE.

Biochemistry, v. 43, n. 35, p. 11255-11265, 2004/09/01 2004. ISSN 0006-2960.
Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/bi0490946> >.

PANT, S. C.; VIJAYARAGHAVAN, R.; DAS GUPTA, S. Sarin induced lung pathology and protection by standard therapy regime. **Biomed Environ Sci**, v. 6, n. 2, p. 103-11, Jun 1993. ISSN 0895-3988 (Print) 0895-3988.

PERILLA, J. R. et al. Molecular dynamics simulations of large macromolecular complexes. **Curr Opin Struct Biol**, v. 31, p. 64-74, Apr 2015. ISSN 0959-440X (Print).

PETRONILHO, E. C.; PINTO, A. C.; VILLAR, J. D. F. **ACETILCOLINESTERASE: ALZHEIMER E GUERRA QUÍMICA**: Revista Militar de Ciência e Tecnologia. 28: 3-14 p. 2011

PLECHKOVA, N. V.; SEDDON, K. R. Applications of ionic liquids in the chemical industry. **Chemical Society Reviews**, v. 37, n. 1, p. 123-150, 2008. ISSN 0306-0012.
Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1039/B006677J> >.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Drogas que inibem a colinesterase**: Guanabara Koogan: 110-115 p. 2001.

RIBEIRO, J. V. et al. QwikMD — Integrative Molecular Dynamics Toolkit for Novices and Experts. **Scientific Reports**, v. 6, p. 26536, 05/24/online 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/srep26536> >.

ROCHA, M. V. J. **Propriedades estruturais e térmicas do híbrido orgânico/inorgânico pmma-óxido de ferro: um estudo teórico e experimental**. 2013. 104 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RUAN , R. R.; CHEN, P. L.; ALMAER, S. **Nondestructive analisys: HortScience**. 34: 319-321 p. 1999.

SAEED, A. et al. **Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some new 1-(fluorobenzoyl)-3-(fluorophenyl) thioureas**: Journal of Fluorine Chemistry 130: 1028–1034 p. 2009.

SANDERS, J. K. M.; HUNTER, B. K. M. **NMR spectroscopy: a guide for chemists**: Oxford: Oxford University Press 1993.

SANT'ANNA, C. M. R. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 1, p. 49-57, 2009.

SANTIAGO, R. T. **Novas parametrizações de funcionais híbridos para uso em cálculos relativísticos**. 2014, 66 p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Carlos, São Carlos, SP.

SHI, R.; WANG, Y. Dual Ionic and Organic Nature of Ionic Liquids. **Scientific Reports**, v. 6, p. 19644, 01/19/online 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/srep19644> >.

SHROT, S. et al. The possible use of oximes as antidotal therapy in organophosphate-induced brain damage. **NeuroToxicology**, v. 30, n. 2, p. 167-173, 3// 2009. ISSN 0161-813X. Disponível em: < [//www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161813X08002404](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161813X08002404) >.

SILVA, G. R. et al. Defesa química: histórico, classificação dos agentes de guerra e ação dos neurotóxicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 10, 2012.

SILVA, T. B. **Líquidos Iônicos - Alguns aspectos sobre propriedades, preparação e aplicações**. 2004. 49 p. Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

SOROF, J. M. et al. Synthesis and structure of (E)-3-fluoro-4-pyridinecarbaldehyde oxime, C₆H₅FN₂O, and conversion to its quaternary methyl iodide derivative. **Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications**, v. 41, n. 5, p. 785-788, 1985. ISSN 0108-2701.

SMART, J. K. History of chemical and biological warfare: an American perspective. *Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare*. Washington, DC: Office of the Surgeon General, 1997, 9-86.

SPEZIALI, M. G.; SINISTERRA, R. D. BUSCAS DE INFORMAÇÕES TECNOLÓGICAS COM BASE EM DADOS DE PATENTES: ESTUDO DE CASO DOS LÍQUIDOS IÔNICOS NO BRASIL. **Química Nova**, v. 38, p. 1132-1138, 2015. ISSN 0100-4042.

STUART, B. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. Nova Iorque: John Wiley & Sons 2004.

SUSSMAN, J. L. et al. Atomic structure of acetylcholinesterase from Torpedo californica: a prototypic acetylcholine-binding protein. **Science**, v. 253, n. 5022, p. 872, 1991. Disponível em: < <http://science.sciencemag.org/content/253/5022/872.abstract> >.

TANAKA, K.; TODA, F. Solvent-Free Organic Synthesis. **Chemical Reviews**, v. 100, n. 3, p. 1025-1074, 2000/03/01 2000. ISSN 0009-2665. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/cr940089p> >.

USEPA, U. S. E. P. A. **Pesticides Industry Sales and Usage 2006 and 2007 Market Estimates. Biological and Economic Analysis Division Office of Pesticide Programs**. US: U.S. Agency Office of Chemical Safety and Pollution Prevention: Washington D.C. 2011.

VALCÁRCEL M., J. P.; GONZÁLEZ S, H.; VALCÁRCEL M., D. H. **ESPECTROSCOPIA. FUNDAMENTO DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR**: Entornos: 89-94 p. 2008.

VAN GUNSTEREN, W. E.; BERENDSEN, H. J. C. **Computer Simulation of Molecular Dynamics: Methodology, Applications, and Perspectives in Chemistry**: Angewandte Chemie International Edition in English. 29: 992-1023 p. 1990.

VOGH, J. W. Isolation and analysis of carbonyl compounds as oximes. **Analytical Chemistry**, v. 43, n. 12, p. 1618-1623, 1971/10/01 1971. ISSN 0003-2700. Disponible em: < <http://dx.doi.org/10.1021/ac60306a007> >.

VOORHEES, J. R. et al. Neurotoxicity in Preclinical Models of Occupational Exposure to Organophosphorus Compounds. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, p. 590, 2017. ISSN 1662-453X. Disponible em: < <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2016.00590> >.

WASSERSCHIED, P.; VAN HAL, R.; BÖSMANN, A. **1-n-Butyl-3-methylimidazolium ([bmim]) octylsulfate—an even ‘greener’ionic liquid.**: Green Chemistry. 4: 400-404 p. 2002

WELTON, T. Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 8, p. 2071-2084, 1999/08/11 1999. ISSN 0009-2665. Disponible em: < <http://dx.doi.org/10.1021/cr980032t> >.

WOREK, F. et al. Toxicology of organophosphorus compounds in view of an increasing terrorist threat. **Archives of Toxicology**, v. 90, n. 9, p. 2131-2145, Sep 2016. ISSN 0340-5761. Disponible em: < <Go to ISI>://WOS:000385653000005 >.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, W. **Properties and analytical methods.**
Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Geneva: World Health
Organisation: 23-29 p. 1986.

WUTS, P. G. M.; GREENE, T. W. Frontmatter. In: (Ed.). **Greene's Protective Groups
in Organic Synthesis:** John Wiley & Sons, Inc., 2006. p.i-xxviii. ISBN 9780470053485.
ZAMFIR, L.-G.; ROTARIU, L.; BALA, C. Acetylcholinesterase biosensor for carbamate
drugs based on tetrathiafulvalene–tetracyanoquinodimethane/ionic liquid conductive
gels. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 46, p. 61-67, 8/15/ 2013. ISSN 0956-5663.
Disponível em: < [//www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566313001164](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566313001164) >.

PARTE 2

ARTIGO

**MODELLING OF NMR PARAMETERS OF OXIMES IN WATER AND IONIC
LIQUIDS FOR DETECTION OF ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS:
IMPLICATIONS OF SOLVATION SHELL STRUCTURE**

ABSTRACT

The use of organophosphorus (OP) compounds in agriculture is widely exploited worldwide and poisonings from its use are also constant. In addition, terrorist attacks around the world use the OPs as weapons of mass attack causing numerous damage to various populations in the world. Based on this, this work aims to employ the molecular dynamics and the theoretical calculation of NMR techniques to investigate the theoretical and solvent effects on NMR parameters of oximes, in a sequential QM / MM approach. Using GROMACS software, a classic molecular dynamics simulation was performed for the 4-PAM oxime and 3-F-4-PAM using water and BMIM-BF₄ as solvents using the OPLS force field. Subsequently calculations of quantum molecular dynamics and NMR were performed to identify the fluorine of 3-F-4-PAM oxime as a spectroscopic probe for the treatment of OP intoxication, using the Gaussian 09 software, with the methodology GIAO using B3LYP/ 6-31G(d,p). In this line, from our calculations, the use of ionic liquids can provide a reasonable balance between cost and accuracy for detection and modeling of modeling MRI contrast agents for AChE enzymes inhibited by organophosphorus compounds.

INTRODUCTION

Organophosphate (OP) compounds have been employed in the agricultural activity for several decades¹. These compounds have neurotoxic effects on the central nervous system, and their toxicity is due to the irreversible inhibition of acetylcholinesterase (AChE), enzyme responsible for the hydrolysis of the acetylcholine neurotransmitter².

The treatment for the poisoning by OP is a huge concern for the humanity, because they have toxic properties being used to kill, wound or incapacitate enemies wars or associated with military operations³. One of the most relevant aspects regarding the use of chemical weapons is related to their high destruction power and low cost, when compared to conventional weapons⁴ and the numerous terrorist attacks have been taking place in the world in recent years⁵. Currently, the use of oximes to reactivate AChE

enzyme inhibited by OPs is the most important form of treatment against the organophosphorus poisoning⁶. To reactivate the enzyme AChE, an oxime makes a nucleophilic attack on the phosphorus of the OP, forming an phosphoryloxime and reactivating the AChE enzyme, which reactivation mechanism is shown in Figure 1⁷.

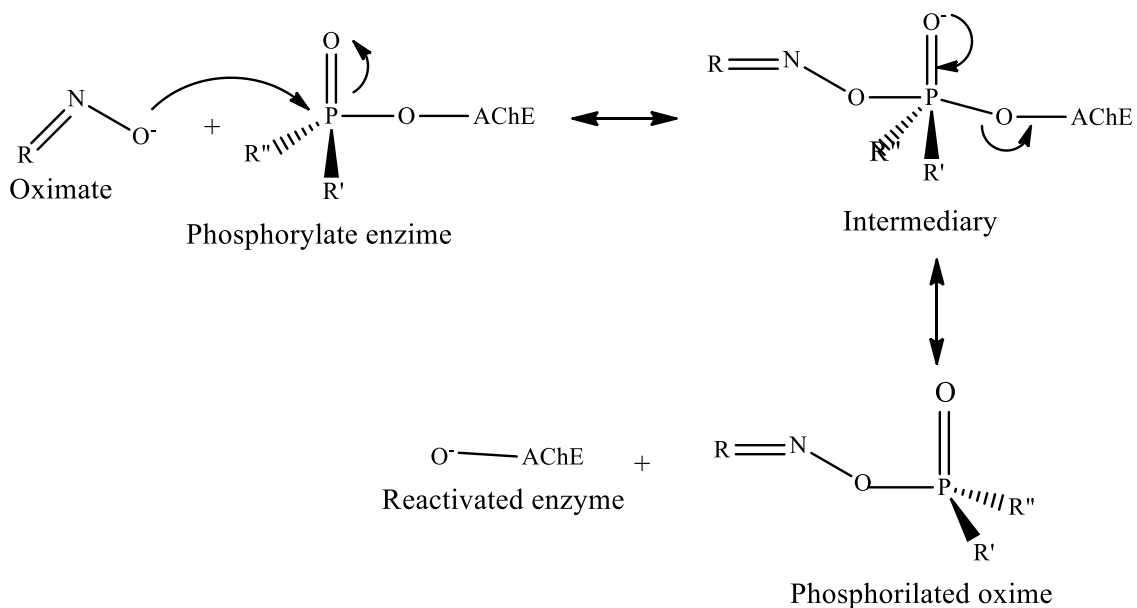


Figure 1: Reactivation Mechanism of AChE after the OP intoxication. ⁸

Oximes are also important due to their characteristics as anti-inflammatory, anti-allergic, antibacterial and fungicidal drugs, as well as their hematotoxic effects⁹. In addition, the oximes can be applied as antidotes or chemical sensors for nerve agents, vasodilators, anticancer drugs, applications in food sciences, prodrugs for pharmaceutically active ketones such as ketoprofen and nabumetone⁹. Many oximes, such as the 2-pyridinealldoxime methyl (2-PAM) and 4-pyridinealldoxime methyl (4-PAM) and this variation 3-fluoro-4-[(hydroxyimino)methyl]-1-methyl-Pyridinium (Figure 2), are known, and their properties are very studied¹⁰. In 1995, 2-PAM was used in Japan for detoxification by the contamination with Sarin. In this accident, 13 people have died and almost 5000 were injured in the subway of Tokyo ¹¹.

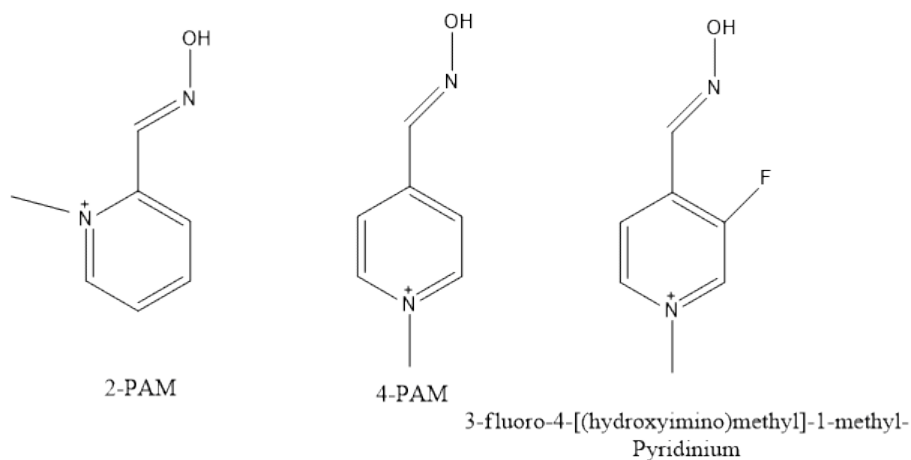


Figure 2: Molecules of oximes 2-PAM , 4-PAM and 3-F-4-PAM.

Although many research efforts have been devoted in recent years to detect OP compounds, this sort of study is difficult and progress has been made recently with the use of oximes.⁶ Generally, the detection of OP is performed employing high and expensive techniques, such as Gas Chromatography (GC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC)¹². Just recently, new techniques to detect these organophosphorus compounds have been investigated. For instance, Zamfir *et al.*¹³ developed a highly sensitive AChE biosensor for detection of carbamate drugs based on the tetrathiafulvalene–tetracyanoquinodimethane (TTF-TCNQ)–ionic liquid gel thiocholine sensor. The sensor was used for the detection of two carbamate therapeutic drugs and very low detection limits of 26 pmol.L⁻¹ eserine and 0.3 nmol.L⁻¹ neostigmine were achieved. The analysis of spiked tap water proved the biosensor capability to be used as a screening method for detection of carbamate drugs in waste waters¹⁴.

In this context, the use of Ionic Liquids as support for sensors and biosensors and as electrolyte is still little explored, but very promising. Zhu *et. al* (2015)¹⁵ discovered that the IL based on the imidazolium cations combined with a hydrophilic group such as sulfonate promotes an electrooxidation of glucose, which is an excellent alternative for developing some novel and powerful biosensors. For instance, Galpothdeniya *et. al* (2014)¹⁴ report a fluorescein-based room temperature ionic liquid (RTIL) as a fluorescent probe for highly selective and sensitive detection of albumins, observing an excellent correlation between fluorescence intensity and human albumine (HSA) concentration. Thus it was concluded that the ionic liquid [P₆₆₆₁₄]₂[FL] is a very promising material for

an inexpensive, rapid, and label-free detection of albumins in aqueous medium with a high degree of accuracy, sensitivity, and selectivity¹⁴.

Ionic Liquids can also be used as an alternative to traditional solvents employed in analytical techniques and photochemical processes. In fact, the use of ionic liquids allied to analytical methods, such as UV–Visible spectroscopy, mass spectrometric analysis and chromatographic analysis (incorporating mass spectrometry or otherwise) have revealed great utility for the analysis of complex mixtures.^{16, 17}

Among the spectroscopic techniques, NMR is widely used as analytical technique for the studies in solution as well as at the solid state. In addition, NMR is a non-destructive technique, chemical reactions can take place in the spectrometry as well as there is a precise temperature control with a broad temperature range available (173–403 K) on typical instruments and another properties that makes this technique favorable for detection of AChE inhibitors^{18,19}.

Specially, the ¹⁹F NMR spectroscopy, which is of great importance due to the vast industrial application of organofluorides has gained great relevance, so nuclear magnetic resonance spectrometers available in industries and institutions have probes for the fluorine nucleus probes, and the importance of organofluorides, make the ¹⁹F NMR spectrum the third most used after ¹H and ¹³C^{20, 21, 22} taking into account that fluorinated molecules are essentially absent in the biological environment, for in vivo analysis there is no overlap of background signals, that is, the fluorinated molecules applied in the body can be studied by ¹⁹F NMR without any signal interference of endogenous substances, as in the case of ¹H, ¹³C and ¹⁵N NMR²³.

Based on this context, this work aims to employ molecular dynamics and NMR theoretical calculation to investigate the solvent and thermal effects on NMR parameters of oximes, in a QM/MM sequential approach.

METHODOLOGY

For the study of thermal and solvent effects by NMR parameters, 3-fluoro-4-[(hydroxyimino)methyl]-1-methyl-pyridinium (3-F-4-PAM) oxime and the IL 1-Butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate (BMIM-BF₄) have been selected.

In order to describe solvent effects on the spectroscopic properties of 3-Fluoro-4-PAM oxime, some theoretical methodologies have been used and validated in previous studies, such as continuous models^{24, 25} and explicit modeling.^{24, 25, 26} For a continuous approach, we used the continuous polarizable model (PCM), which is applied in two phases: geometry optimization and the evaluation of magnetic shielding constants.²⁵

As solvation shell, only 3 molecules of BMIM-BF₄ and 5 water molecules were used, which were chosen according to the first solvation shell obtained by the radial distribution function (RDF) from the classical molecular dynamics simulation, shown in Figure 3.

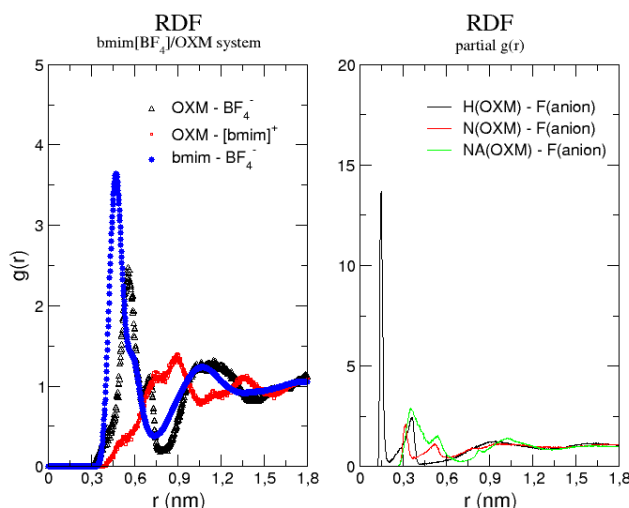


Figure 3: Radial distribution function (RDF) for the solvation layers of the 3-F-4-PAM + BMIM-BF₄ and 3-F-4-PAM + H₂O, at 300 K.

The molecular dynamics simulations were performed by using the OPLS²⁷ force field for the oxime molecule, 4-PAM, while for the BMIM-BF₄ potential model was based on GAFF²⁸ and SPC/E²⁹ for the water model. All MD calculations and analysis were supported by GROMACS 4.6.5³⁰ suite package. For the equilibrium of the density a NpT ensemble simulations were performed with the v-rescale and Berendsen methods using a coupling time of 1 ps and 2 ps for the temperature and pressure, respectively. Due to the large number of conformations generated, quantum dynamics calculations were performed to obtain 1000 points using ADMP and B3LYP/6-31G at 310K temperature, starting from the last frame using the Gaussian 09³¹.

For the NMR calculations, the GIAO methodology was used which includes the effects of the atomic orbitals in the calculations, using the B3LYP³² hybrid method with the basis set 6-31G(d,p) according to the reported by Fukaya and Ono (2004)³³ using the Gaussian program 09³¹. These calculations were performed for both the quantum dynamics systems and the static systems, which were obtained through the systems optimized with B3LYP / 6-31G, also by Gaussian 09³¹.

As a reference for the chemical displacements (δ), the molecules benzene and CFC1₃ was designed in Gauss View 5.0 and quantum molecular dynamics and NRM calculations was performed at the same conditions of the other systems and the shielding constant (σ) of ¹³C and CFC1₃, Lindon and Wilson (2015)³⁴ was obtained and used as reference. The shielding constant obtained for the carbons of a benzene molecule (C₆H₆) was 68,5 ppm and for the CFC1₃ was 136,9 ppm. The results of the ¹³C chemical shifts were converted by the usual TMS scale using the experimental value for the benzene [δ (¹³C) = 128.5 ppm]^{26, 35} and the result for the chemical displacement of ¹⁹F were set using the experimental value for CFC1₃ [δ (¹⁹F) = 0 ppm].³⁴

For validation of the NMR calculation methodology of 3-Fluor-4-PAM, experimental data, reported by Waysbort et al. (1981)³⁶ were obtained for the oxime without H substitution by F, 4-PAM, for comparative purposes. The experimental results described and the reference carbons are shown in figure 4.

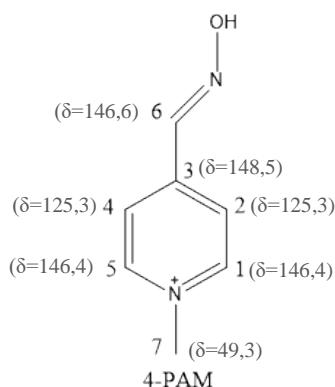


Figure 4: Representation of 4-PAM oxime, location of reference carbons and experimental results obtained by Waysbort et. al (1981)³⁶.

The 4-PAM oxime was designed and optimized using B3LYP/6-31G as the basis set and, then, quantum dynamics and NMR calculations were performed following the same procedure described for 3-F-4-PAM oxime and the studied systems were: 4-PAM + H₂O; 4-PAM in vacuum and 4-PAM with water implicit solvation (PCM).

To evaluate the behavior of the oxime in biological environment and to calculate the chemical shift of the oxime in the AChE active site, molecular docking calculations were performed with the Molegro Virtual Docker software³⁵ using 5HFA protein, taken from Protein Data Bank website.³⁹

RESULTS AND DISCUSSION

Validation of the NMR study

To validate the calculations, the NMR parameters of the 4-PAM oxime, as described by Fukaya and Ono (2004)³³, were calculated, the B3LYP hybrid functional associated with a simpler base set, such as 6-31G which are sufficient to describe the NMR parameters³³. Table 1 shows the obtained values in the simulation of 4-PAM oxime with GIAO-B3LYP / 6-31G(d,p) calculation level and comparison to the Waysbort et. al (1981)³⁶. To explain the data obtained in the study, the following notation was used: chemical shift level NMR // optimized geometry level or quantum molecular dynamics simulation.

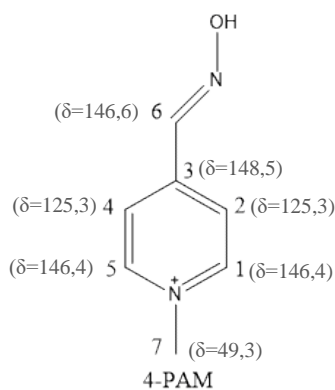


Table 1: Obtained values for the 4-PAM oxime compared to the experimental results from Waysbort (1981)³⁶.

Leve of aproximation	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)						
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
δ Experimental	146.4	125.3	148.5	125.3	146.4	146.6	49.3
δ_e (//B3LYP)	145.4	129.9	144.5	132.1	146.2	145.1	53.1
δ_e [//B3LYP/PCM(H ₂ O)]	147.4	130.9	144.5	131.9	147.8	147.8	53.8
δ_e (//B3LYP/H ₂ O)	153.6	130.2	145.0	131.2	143.7	146.2	51.2
δ_e [PCM(H ₂ O)//B3LYP/PCM(H ₂ O)]	147.9	131.7	144.3	131.9	147.5	148.3	52.7
δ_e (H ₂ O//B3LYP/H ₂ O)	144.4	116.7	122.7	119.9	143.9	186.0	32.7
$\delta^{310\text{K}}$ (//B3LYP)	147.1 \pm 5.6	128.9 \pm 6.4	142.8 \pm 4.2	129.6 \pm 5.9	147.5 \pm 5.9	149.2 \pm 5.9	50.4 \pm 4.5
$\delta^{310\text{K}}$ [PCM(H ₂ O)//B3LYP/PCM(H ₂ O)]	143.5 \pm 3.8	127.2 \pm 2.7	145.7 \pm 2.0	130.5 \pm 2.4	144.0 \pm 2.9	146.2 \pm 3.9	51.2 \pm 3.0
$\delta^{310\text{K}}$ (H ₂ O//B3LYP/H ₂ O)	145.9 \pm 3.2	125.2 \pm 3.8	148.0 \pm 3.7	125.9 \pm 3.9	146.9 \pm 2.9	147.5 \pm 2.9	50.4 \pm 2.9

In the analysis of the static equilibrium data, it is noticeable that when the oxime is in the vacuum, δ_e (//B3LYP), the δ values of the carbons, except for carbon 4, are close to the results obtained experimentally, variations of ± 5 ppm. Turning now to δ_e [//B3LYP/PCM(H₂O)], an increase in chemical shift is observed for all carbons with only carbon 4 remaining outside the range of ± 5 ppm. For δ_e (//B3LYP/H₂O), a large increase of δ for carbon 1, a less expressive increase in carbon 3 and decreases in all other carbons with respect to the oxime in vacuum and in the optimization with solvent were obtained. Thus, it is possible to conclude that the solvent leads to geometric effects on the molecule, causing increases in the chemical shift for most of the studied carbons.

In addition, increases on the δ for the carbons in relation to δ_e (//B3LYP) are observed from solvent effects, but with comparatively small increases or decreases, where carbon 7, for example, has a decrease of 0.4 with respect to the oxime. In vacuum an increase of 3.2 for carbon 6 is obtained, but still within the limit of ± 5 ppm. One can

observe that the theoretical findings are still close to the results obtained experimentally by Waysbort et al. (1981)³³, which is a good probe of the employed approach. By analyzing the solvent effects from explicit water molecules on NMR calculations, an expressive increase in carbon 6 of about 40.9 ppm in relation to gas phase, and a large decrease in carbon 7 of about 20.4 ppm is observed if compared to results obtained experimentally.

Considering the thermal and dynamic effects, the data from table 1 shows that the chemical shift values are very close to the experimental data, with small errors, when compared to the experimental data, the model δ^{310K} (H₂O/B3LYP/H₂O). By including these effects, it is possible to observe that δ of carbons 2 and 4 are close to the reference experimental value, then with no influence of the bulky groups shielding. Thus, it is possible to notice that the values obtained at the GIAO-B3LYP/6-31G level were very close to those reported by Waysbort et al. in 1981³⁶, which demonstrates that the methodology is satisfactory for calculating the NMR parameters of the molecule 3-Fluoro-4-PAM interacting with water as well as the ionic liquid BMIM-BF₄. In addition the best methodology to describe the chemical displacements of the ¹⁹F element is the methodology δ^{310K} (H₂O/B3LYP/H₂O).

The ¹⁹F NMR chemical shift

The study of the fluorine nucleus has the advantage of having 100% natural abundance and a high gyromagnetic ratio, being 20% less sensitive than ¹H. ¹⁹F NMR spectra of organofluorinated substances are generally first order and have the chemical shift range much larger than ¹H, with about 350 ppm. Moreover, the intensity of the signals in the ¹⁹F NMR spectrum is quite informative, since it provides the relative number of this element in that signal, as well as the possible couplings that they can perform with each other. The fluorine nuclear spin (I) quantum number is 1/2, allowing its coupling with neighboring protons and carbons, with relaxation times long enough to be observed and with reliable integration values²³.

Due to the wide industrial application of organofluorides, fluorine nuclear magnetic resonance (¹⁹F NMR) spectroscopy has gained great relevance in the last

years⁴⁰. So spectroscopic techniques involving F atoms able to enhancement for the better detection limit and to capture precisely information about relaxation mechanisms, are currently available in industries and academic institutions, having probes for the fluorine nucleus. So, it is evident the importance of the organofluorates, which makes the ¹⁹F NMR spectroscopy the third most used after those of ¹H and ¹³C NMR.^{24,25,26}

Considering that the fluorinated molecules are essentially rare in the biological environment, for *in vivo* analysis there is no overlap of background signals. Then the fluorinated molecules applied in the body can be studied by ¹⁹F NMR without any signal interference of endogenous substances, as in the case of ¹H and ¹³C and ¹⁵N NMR³⁷, since is the case of the environment of the molecules studies observed in the table 2.

Table 2: $\delta^{19}\text{F}$ for the 3-F-4-PAM molecule interacting with H_2O and BMIM- BF_4 in ppm.

Level of approximation	^{19}F (ppm)
δ_e (Acetylcholinesterase //B3LYP)	-64.0
δ_e (//B3LYP)	-138.5
δ_e [//B3LYP/PCM(H_2O)]	-147.4
δ_e (//B3LYP/ H_2O)	-151.5
δ_e [PCM(H_2O)//B3LYP/PCM(H_2O)]	-137.6
δ_e (H_2O //B3LYP/ H_2O)	-140.9
δ_e (BMIM- BF_4 //B3LYP/BMIM- BF_4)	-171.3
$\delta^{310\text{K}}$ (//B3LYP)	-193.5 ± 4.7
$\delta^{310\text{K}}$ [PCM(H_2O)//B3LYP/PCM(H_2O)]	-195.2 ± 4.1
$\delta^{310\text{K}}$ (H_2O /B3LYP/ H_2O)	-207.3 ± 5.9
$\delta^{310\text{K}}$ (BMIM- BF_4 //B3LYP/ BMIM- BF_4)	-213.4 ± 5.3

When the system is δ_e (//B3LYP), a chemical shift for -138.5 ppm fluorine is observed. With the insertion of the implicit solvent, δ_e [//B3LYP/PCM(H_2O)], in the NMR calculation, it is possible to notice that there is a sharp decrease for the fluorine nucleus of almost 9 ppm, compared to δ_e (//B3LYP). When δ_e (//B3LYP/ H_2O) is observed, the chemical shift underwent a smaller variation, but decreased about 4 ppm from the value observed when δ_e [//B3LYP/PCM(H_2O)] in the NMR calculation. In this way, the geometry of the molecule is strongly influenced by the presence of the solvent, because when inserted explicitly, the displacements are smaller than the observed displacements for the other systems, which may be the result of the intermolecular interactions between the fluorine atom, resulting in smaller shields as observed.

When the effects of the solvent are inserted into the optimization and NMR calculations of the molecules, the insertion of the implied solvent, δ_e [// B3LYP / PCM (H₂O)], increases the chemical shift of fluorine by approximately 1 ppm, with the insertion of water molecules explicitly δ_e (H₂O//B3LYP/H₂O), a deviation of about 3 ppm less than that of the oxime in vacuum is observed for fluorine. With the insertion of ionic liquid, δ_e (BMIM-BF₄//B3LYP/BMIM-BF₄), the chemical shifts of the fluorine presented lower δ_e values when in contact with the water inserted explicitly, δ_e (PCM(H₂O)//B3LYP/H₂O), being the smaller chemical shifts observed for the oxime interacting with the ionic liquid, which means that they are less shielding by the others atoms of the molecule due to the greater interactions with the BMIM-BF₄ molecules, which can be explained by the energies of coulomb and Lennard Jones that presents the mean values for the study systems in table 3.

Table 3: Coulomb and Lennard-Jones energies of the systems extracted from MD simulations .

System/ Energy (KJ.mol ⁻¹)	Coulomb	Lennard Jones
Oxime + Water	-83060,7	12068,0
Oxime + IL	-22186,4	-3741,18

To calculate the energy between pairs of molecules a and b, we consider an electrostatic contribution described by Coulomb potential and a non-electrostatic contribution described by the van der Waals model, here represented by a Lennard-Jones potential, which should be the smallest possible to demonstrate the stability of the system. From Table 3 we can highlight that lower energies were obtained for the ionic liquid, corroborating with that observed by the NMR results, even though the number of samples is different for each system studied in the two techniques.

With the insertion of the dynamic and thermal effects, strong decreases of the chemical displacements were observed, more evidenced for the IL, that in comparison to the δ^{310K} (//B3LYP), about 10 units. Thus, it is possible to point out that the geometry of the molecule is strongly influenced by the presence of the solvent. When inserted

explicitly, $\delta^{310\text{K}}$ ($\text{H}_2\text{O}/\text{B3LYP}/\text{H}_2\text{O}$) and $\delta^{310\text{K}}$ ($\text{BMIM-BF}_4//\text{B3LYP}/\text{BMIM-BF}_4$), the chemical shifts are smaller than the observed values for the other systems of study and that thermal effects, as observed for the oxime 4-PAM, are crucial for describing the fluorine chemical shifts of 3-F-4-PAM oxime.

Through the pharmacophoric map, it is possible to find the average bonds along the dynamics and to observe which the main connections the oxime makes in the active site of the AChE, which are described in figure 5.

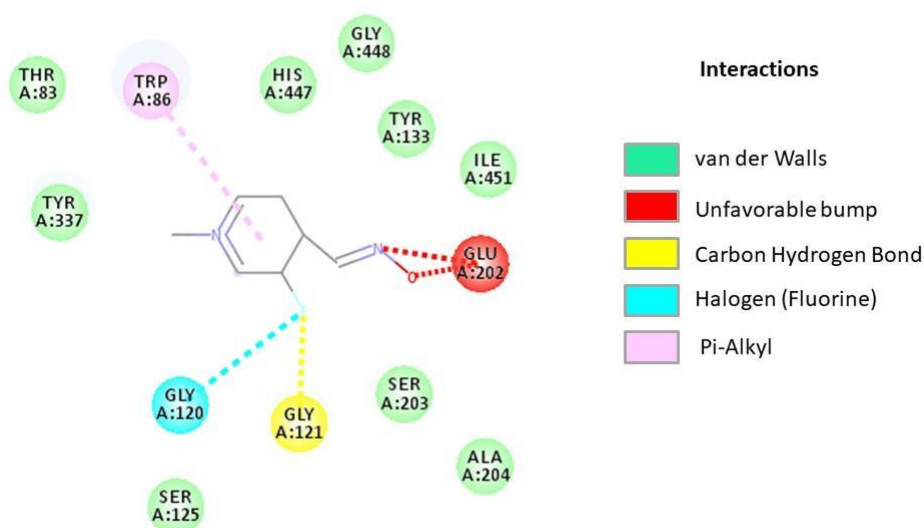


Figure 5: Pharmacophore map of the interaction of 3-F-4-PAM in the active site of the enzyme AChE.

Through the pharmacophoric map, it is possible to notice that the main oxime bonds in the active site of AChE are the connection of the halogen F with the glycine 120 and the connection of hydrogen and carbon that the F does with the glycine 121, which suggests to us that the main interactions with the solvents should be of the halogen-type bonds and the bonds between the $\text{F} \cdots \cdots \text{H} - \text{C}$, considered the strongest bond in organic chemistry because it is shorter and has a partially ionic character, which suggests that to enter more easily into the AChE site to perform the treatment of possible intoxications by organophosphorus compounds, the oxime must be in a reaction medium close to the reality of AChE, so that it reaches the active site of the oxime and does the

appropriate treatment without being lost throughout the organism, favoring also the absorption by the enzyme.

When 3-F-4-PAM is introduced in the AChE active site, δ_e (Acetylcholinesterase //B3LYP), the smallest δ for δ^{310K} (BMIM-BF₄//B3LYP/ BMIM-BF₄) are reached, which mean that they are less shielded by the other atoms of the molecule due to the greater interactions with the molecules of BMIM-BF₄. The values obtained are in agreement with those reported by Lindon and Wilson (2015)³³ who report that ¹⁹F chemical shifts in organofluorine compounds can vary from -75 to -220 ppm depending on the type of group, in which they are bound in the molecule.

It is should be kept in mind that the δ^{310K} (BMIM-BF₄//B3LYP/ BMIM-BF₄) scenario leads to the largest difference considering the drug in the enzyme active [δ_e (Acetylcholinesterase //B3LYP)]. It is well-known that by enhancing the contrast between tissues and biological medium, the use of contrast agents in magnetic resonance (MR) imaging leading to a larger difference in the drug signal facilitates a more accurate diagnosis.

CONCLUSIONS

The GIAO method associated with the DFT functional B3LYP and the function bases 6-31G are sufficient to analyze the chemical shifts for ¹⁹F NMR spectroscopy.

From the theoretical findings, it is possible to conclude that the use of the 3-F-4-PAM oxime associated to the ionic liquid BMIM-BF₄ can be a spectroscopic probe, since it has greater displacement variations if observed the system in vacuum and the oxime in the biological system, when coupled to human AChE.

In this line, from our calculations, the use of ionic liquids can provide a reasonable balance between cost and accuracy for detection and modeling of MRI contrast agents for AChE enzymes inhibited by organophosphorus compounds. Thus, the use of computational approaches in the prediction of molecules with well-defined pharmacological activities brings the expectation of reduction the time in researches and the expenses with synthesis and preclinical test.

REFERENCES

1. CARVALHO, F. P. Agriculture, pesticides, food security and food safety. **Environmental Science & Policy**, v. 9, n. 7–8, p. 685-692, 11// 2006. ISSN 1462-9011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1462901106001092> >. Acesso em: 2006/12//.
2. ČOLOVIĆ, M. B. et al. Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. In: (Ed.). **Curr Neuropharmacol**, v.11, 2013. p.315-35. ISBN 1570-159X (Print) 1875-6190 (Electronic)
3. SMART, J. K. History of chemical and biological warfare: an American perspective. **Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare**. Washington, DC: Office of the Surgeon General, 1997, 9-86.
4. GONÇALVES, A.S. Estudo da reativação da acetilcolinesterase humana inibida pelo organofosforado tabun através de métodos híbridos clássicos quanto-mecânicos. (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. 2009.
5. GUNNELL, D. et al. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review. **BMC public health**, v. 7, n. 1, p. 357, 2007. ISSN 1471-2458.
6. SHROT, S. et al. The possible use of oximes as antidotal therapy in organophosphate-induced brain damage. **NeuroToxicology**, v. 30, n. 2, p. 167-173, 3// 2009. ISSN 0161-813X. Disponível em: < [//www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161813X08002404](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0161813X08002404) >.
7. KUČA, K.; JUN, D.; MUSILEK, K. Structural requirements of acetylcholinesterase reactivators. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 6, n. 3, p. 269-277, 2006. ISSN 1389-5575.
8. BAJGAR, Jiri, et al. Cholinesterase reactivators: the fate and effects in the organism poisoned with organophosphates/nerve agents. **Current drug metabolism**, 2007, 8.8: 803-809.
9. KASSA, J. Review of oximes in the antidotal treatment of poisoning by organophosphorus nerve agents. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology** 40.6 (2002): 803-816.
10. DEMAR, James C., et al. Pro-2-PAM therapy for central and peripheral cholinesterases. **Chemico-biological interactions**, 2010, 187.1-3: 191-198.
11. MIYAKI, K. et al.. "Effects of sarin on the nervous system of subway workers seven years after the Tokyo subway sarin attack". **Journal of Occupational Health**, Vol.47, pp.229-304. 2005..
12. BEYER, A.; BIZIUK, M. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. **Food chemistry**, v. 108, n. 2, p. 669-680, 2008/05// 2008. ISSN 0308-8146. Disponível em: <

- <http://europepmc.org/abstract/MED/26059147> >.Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.024> >.
13. ZAMFIR, L.-G.; ROTARIU, L.; BALA, C. Acetylcholinesterase biosensor for carbamate drugs based on tetrathiafulvalene–tetracyanoquinodimethane/ionic liquid conductive gels. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 46, p. 61-67, 8/15/ 2013. ISSN 0956-5663. Disponível em: <
[//www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566313001164](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566313001164) >.
 14. GALPOTHDENIYA, W. I. S. et al. Fluorescein-based ionic liquid sensor for label-free detection of serum albumins. **Rsc Advances**, v. 4, n. 34, p. 17533-17540, 2014. ISSN 2046-2069. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000335227700017 >.
 15. Zhu Y, et al. Endogenic oxidative stress response contributes to glutathione over-accumulation in mutant *Saccharomyces cerevisiae* Y518. **Appl Microbiol Biotechnol**. 99(17):7069-78. 2015.
 16. KOEL, Mihkel. Ionic liquids in chemical analysis. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 2005, 35.3: 177-192.
 17. HALLETT, J. P.; WELTON, T. Room-Temperature Ionic Liquids: Solvents for Synthesis and Catalysis. 2. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 5, p. 3508-3576, 2011/05/11 2011. ISSN 0009-2665. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1021/cr1003248> >.
 18. KADOKAWA, J. **Photo-Induced Reduction Reaction of Methylene Blue in an Ionic Liquid**. IZAWA, H.;OHTA, T., et al: *International Journal of Organic Chemistry*. 1: 158-161 p. 2011.
 19. RUAN , R. R.; CHEN, P. L.; ALMAER, S. **Nondestructive analisys: HortScience**. 34: 319-321 p. 1999.
 20. DOLBIER, W. R.; **Guide to Fluorine NMR for Organic Chemists**. Wiley: Hoboken, 2009.
 21. EVERETT, T. S.; **J. Chem. Educ.** 1988, 65, 422.
 22. GERIG, J. T.; **Fluorine NMR. Online textbook**, 2001, disponível em: <http://www.biophysics.org/Portals/1/PDFs/Education/gerig.pdf>. Acessado em 20/01/2018.

23. BRANCO, F. S. C. et al. Nuclear magnetic resonance of organofluorine compounds: a challenge in the teaching of spectroscopy. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1237-1246, 2015. ISSN 0100-4042.
24. RAMALHO T. C., PEREIRA D. H., THIEL W. Thermal and solvent effects on NMR indirect spin-spin coupling constants of a prototypical Chagas disease drug. *J. Phys. Chem. A*.115, 13504, 2011.
25. MANCINI, D. T. **Fenilbenzotiazóis como sonda espectroscópica para biomoléculas : cálculo de propriedades estruturais e eletrônicas**. 2013, 157 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
26. RAMALHO, T. C.; BÜHL, M. Probing NMR parameters, structure and dynamics of 5-nitroimidazole derivatives. Density functional study of prototypical radiosensitizers. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 43, n. 2, p. 139-146, 2005. ISSN 1097-458X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/mrc.1514> >.
27. JORGENSEN, W. L., TIRADO-RIVES, J. The OPLS Potential Functions for Proteins. Energy Minimizations for Crystals of Cyclic Peptides and Crambin. **Journal of the American Chemical Society**. v. 110, n. 6, p. 1657-1666, 1988.
28. SPRENGER, K. G., JAEGER, V. W., PFAENDTNER, J. The General AMBER Force Field (GAFF) Can Accurately Predict Thermodynamic and Transport Properties of Many Ionic Liquids. **The Journal of Physical Chemistry B**. v. 119 n. 18, p. 5882–5895, 2015. DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b00689.
29. RASSOLOV, V. A. POPLE, J. A., RATNER, M. A., WINDUS, T. L. 6-31G* basis set for atoms K through Zn. **Journal Of Chemical Physics**. v. 109, n. 4, p.1223-1229, 1998. DOI: 10.1063/1.476673
30. ABRAHAM, M., APOL, E., APOSTOLOV, E. et. al. **GROMACS: GRO-ningen MAchine for Chemical Simulation**. Royal Institute of Technology and Uppsala University, Sweden, 4.6.5. ed. 2013.
31. FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 09**. Wallingford CT: Gaussian Inc 2004.
32. BECKE, Axel D. Density-functional thermochemistry. V. Systematic optimization of exchange-correlation functionals. **The Journal of chemical physics**, 1997, 107.20: 8554-8560.

33. FUKAYA, H.; ONO, T. DFT-GIAO calculations of ¹⁹F NMR chemical shifts for perfluoro compounds. **Journal of computational chemistry**, v. 25, n. 1, p. 51-60, 2004. ISSN 1096-987X.
34. LINDON, J. C.; WILSON, I. D. ¹⁹F NMR Spectroscopy: Applications in Pharmaceutical Studies. **eMagRes**, v.4, p. 189-195, 2015. ISSN 0470034599.
35. HELGAKER, T.; JASZUŃSKI, M.; RUUD, K. Ab Initio Methods for the Calculation of NMR Shielding and Indirect Spin-Spin Coupling Constants. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 1, p. 293-352, 1999/01/13 1999. ISSN 0009-2665. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1021/cr960017t> >.
36. WAYSBORT, D.; BALDERMAN, D.; AMITAI, G. Carbon-13 NMR characterization of the bispyridinium oximes, toxogonin, HS-3, HS-6 and HI-6. **Organic Magnetic Resonance**, v. 16, n. 1, p. 7-10, 1981. ISSN 1097-458X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/mrc.1270160103> >.
37. BUTLER, B. J. et al. NMR spectroscopy to follow reaction progress in ionic liquids. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 423-428, 2016. ISSN 1097-458X. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/mrc.4161> >.]
38. THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. **J. Med. Chem.**, 2006, 49(11), 3315-3321.
39. BERMAN, H.M., et al.. **The Protein Data Bank Nucleic Acids Research**, 2000, 28: 235-242.
40. OKARU, Alex O., et al. Application of ¹⁹F NMR Spectroscopy for Content Determination of Fluorinated Pharmaceuticals. **Journal of analytical methods in chemistry**, 2017, 2017.