

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Física “Gleb Wataghin”

***Investigação da Atividade Biológica de Taxóides e
Benzo[c]quinolizin-3-onas Através de Descritores Teóricos.***

por

Scheila Furtado Braga Llanes

Orientação: Prof. Dr. Douglas Soares Galvão

Tese apresentada ao Instituto de Física “Gleb Wataghin” da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do
título de Doutora em Física.

GSONM – DFA – IFGW

Campinas, Abril de 2003

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO IFGW - UNICAMP**

L77i

Llanes, Scheila Furtado Braga

Investigação da atividade biológica de taxóides e Benzo[c]quinolizin-3-onas através de descritores teóricos / Scheila Furtado Braga Llanes. -- Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador: Douglas Soares Galvão.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Física "Gleb Wataghin".

1. Drogas - Relação estrutura-atividade. 2. Métodos semi-empíricos. 3. Taxol. I. Galvão, Douglas Soares. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Física "Gleb Wataghin". III. Título.

(vsv/ifgw)



Instituto
de Física
Gleb Wataghin

C.P. 6165
CEP: 13083-970
Tel. (19) 788-5305
e-mail: secpos@ifi.unicamp.br

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE DOUTORADO DE SCHEILA FURTADO BRAGA LLANES – RA 993827 APRESENTADA E APROVADA AO INSTITUTO DE FÍSICA “GLEB WATAGHIN”, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, EM 25/04/2003.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Douglas Soares Galvão (Orientador da Candidata) –
DFA/IFGW/UNICAMP

Prof. Dr. Pedro Geraldo Pascutti – IBCCF/UFRJ

Prof. Dr. Fernando Luis Barroso da Silva – FCFRP/USP

Prof. Dr. Bernardo Laks – DFA/IFGW/UNICAMP

Prof. Dr. Omar Teschke – DFA/IFGW/UNICAMP

“O que me tranqüiliza é que tudo o que existe, existe com uma precisão absoluta.....Pena é que a maior parte do que existe com essa exatidão nos é tecnicamente invisível. O bom é que a verdade chega a nós como um sentido secreto das coisas. Nós terminamos adivinhando, confusos, a perfeição.”

Clarice Lispector

Agradecimentos

Durante o desenvolvimento desta tese recebi a contribuição e o apoio pessoal de muitas pessoas.

Meus sinceros agradecimentos:

- ❖ ao professor Douglas pela oportunidade e orientação neste trabalho, pela confiança, liberdade e apoio,
- ❖ aos companheiros de grupo Fernando, Sérgio, Karla, Vítor e Giro pelo convívio agradável, pelas incontáveis ajudas e discussões de resultados;
- ❖ às amigas da Unicamp: Lúcia, Renata, Roma, Ana Luiza, Laura, Marta, Daniela, Ana Claudia e Lisandra pelos momentos de descontração e por todo o apoio e a amizade,
- ❖ aos amigos pessoais que acompanham e incentivam minha caminhada desde longa data,
- ❖ à Márcia e ao Totó pelo convívio saudável e por estarem sempre dispostos a me auxiliar,
- ❖ aos meus pais, Eduardo e Carminha, e aos meus irmãos Eduardo, André e Helena pelo apoio incondicional, pelo carinho e sacrifícios pessoais para que eu chegasse até aqui,
- ❖ ao meu marido Ariel, pela paciência nos dias de “stress” e de insegurança, pelas discussões sobre química e por todo amor e compreensão durante estes anos,
- ❖ aos funcionários da Coordenadoria de Pós Graduação e do Departamento de Física Aplicada por toda atenção e eficiência,
- ❖ à Fapesp e Faep pelo apoio financeiro,
- ❖ ao Cenapad pelo ambiente computacional.

Resumo

Este trabalho envolveu a investigação da atividade biológica de fármacos por meio de descritores quânticos teóricos e a investigação de um sistema molecular de chaveamento ótico.

Em uma primeira parte, apresentamos o estudo realizado para um conjunto de 20 taxóides, compostos caracterizados por uma estrutura molecular complexa, e por uma atuação diferenciada no combate ao câncer. Investigamos a estrutura destes compostos através de métodos semiempíricos partindo de seu precursor sintético 10-deacetilbaccatin III. Investigamos a relação entre a atividade experimental dos taxóides e descritores teóricos através de três metodologias de reconhecimento de padrões: a metodologia de índices eletrônicos, a análise de componentes principais e análise hierárquica de clusters. Para estas três investigações distintas pudemos correlacionar a atividade dos taxóides estudados com parâmetros teóricos, em sua maioria eletrônicos.

Seguindo o mesmo tipo de análise aplicada para os taxóides, estudamos um conjunto de 41 derivados da benzo[c]quinolizin-3-onas, compostos inibidores das enzimas 5alfa-reductase humana. Aplicando os três métodos acima citados selecionamos descritores relacionados à resposta biológica destes compostos e construímos regras e padrões que os diferenciasses quanto à atividade biológica. Numa investigação especulativa, aplicando as regras e padrões construídos, sugerimos a atividade biológica para alguns compostos ainda não avaliados experimentalmente.

Na segunda parte deste trabalho investigamos um sistema orgânico de chaveamento, baseado no comportamento fotocromico de moléculas quirais. Este é um sistema de grande interesse no desenvolvimento de memórias moleculares que utilizem uma lógica binária. Utilizamos métodos semiempíricos na investigação estrutural e energética do sistema e propusemos uma rota para o funcionamento do sistema, capaz de explicar qualitativa e quantitativamente o seu comportamento.

Abstract

This work deals with the structure-activity relationship investigation of pharmacological compounds using theoretical quantum descriptors, and the investigation of an optical molecular switching system.

In the first part, we present a study of 20 taxoids, remarkable molecules by their complex molecular structure and dissimilar mode of action as antitumor agent. We investigated the compounds structure with semiempirical methods initiating with their synthetic precursor 10-deacetylbaconin III. Taxoids experimental activity relationship was investigated with theoretical descriptors applying three pattern recognition methodologies: the electronic indices methodology, principal component analysis and hierarchical cluster analysis. With these three distinct methods we were able to correlate the biological activity of the studied taxoids with theoretical parameters.

In a similar approach we studied a set of 41 benzo[c]quinolizin-3-ones derivatives, applied as human 5 α -reductase inhibitors. Making use of the three methods mentioned above we selected the descriptors related to the compounds biological indices and constructed the rules and patterns able to separate them according to their activity. Considering a speculative approach, we proposed the biological activity to untested compounds, via the obtained rules.

In a second part of the work we investigated an organic switching system, based on the photocromic behavior of chiral molecules. This is a system of great interest for molecular memories development based on binary logics. We applied semiempirical methods in the system structural and energetic investigations, and proposed a route able to explain qualitative and quantitatively how the system works.

Índice

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIACÕES	13
CAPÍTULO 1 - TAXÓIDES	15
1.1 – INTRODUÇÃO	16
1.2 - 10-DEACETILBACCATIN III	23
1.2.1 - INTRODUÇÃO	23
1.2.2 - METODOLOGIA E RESULTADOS	24
1.2.2.1 - Análise Conformacional	24
1.2.3.2 – Análise de Propriedades Eletrônicas.....	36
1.2.3.3 – Análise de Propriedades Óticas	39
1.3 - TAXÓIDES ESTUDADOS	45
1.3.1 – INTRODUÇÃO	45
1.3.2 - METODOLOGIA E RESULTADOS	47
1.3.2.1 - Análise Conformacional	47
1.3.2.2 - Investigação da Atividade Biológica dos Taxóides Através da Metodologia de Índices Eletrônicos – MIE	58
1.3.2.3 - Investigação da Atividade Biológica dos Taxóides Através da Análise de Componentes Principais (PCA) e da Análise Hierárquica de Clusters (HCA).	64
1.4 – CONCLUSÕES	70
1.5 – REFERÊNCIAS	72
CAPÍTULO 2 - BENZO[C]QUINOLIZIN-3-ONAS	79
2.1 – INTRODUÇÃO	80
2.2. – METODOLOGIA E RESULTADOS	85
2.2.1 – ANÁLISE CONFORMACIONAL	85

2.2.2 – GRUPO DE CONTROLE - INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS BENZO ATRAVÉS DA METODOLOGIA DE ÍNDICES ELETRÔNICOS – MIE	89
2.2.3 – GRUPO DE CONTROLE - INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS BENZO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS – PCA E ANÁLISE HIERÁRQUICA DE CLUSTERS – HCA.....	97
2.2.4 – GRUPO DE TESTE - PREVISÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS BENZO ATRAVÉS DA METODOLOGIA DE ÍNDICES ELETRÔNICOS – MIE.	105
2.2.5 – GRUPO DE TESTE - PREVISÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS BENZO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS – PCA.	110
2.2.6 – GRUPO DE TESTE - PREVISÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS BENZO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE PRIMEIROS VIZINHOS – KNN.	113
2.3 – CONCLUSÕES.	120
2.4 – REFERÊNCIAS	121

CAPÍTULO 3 - CHAVEAMENTO ÓTICO - INTERCONVERSÃO REVERSÍVEL DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS POR IRRADIAÇÃO DE LUZ.

3.1 – INTRODUÇÃO	124
3.2 - METODOLOGIA E RESULTADOS.....	128
3.2.1 - ANÁLISE CONFORMACIONAL.....	128
3.2.2 – INVESTIGAÇÃO ELETRÔNICA DO FUNCIONAMENTO DO SISTEMA.	133
3.2.3 – TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS E ESPECTRO DE ABSORÇÃO UV	141
3.3 – CONCLUSÕES	146
3.4 - REFERÊNCIAS.....	147

APÊNDICE A - MÉTODOS DE RECONHECIMENTO DE PADRÕES E ANÁLISE TEÓRICA DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DE FÁRMACOS.

A.1 – INTRODUÇÃO	150
A.2 – METODOLOGIA DE ÍNDICES ELETRÔNICOS – MIE.....	151
A.3 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS - PCA	156
A.4 – ANÁLISE HIERÁRQUICA DE CLUSTERS – HCA	159
A.5 – ANÁLISE DE PRIMEIROS VIZINHOS – KNN	162
A.6 – REFERÊNCIAS	163

APÊNDICE B - OUTROS TRABALHOS RELACIONADOS COM A TESE.....	165
B.1 – INTRODUÇÃO	166
B.2 – FORMAS ALOTRÓPICAS DO CARBONO E DISPOSITIVOS DINÂMICOS.	167
B.2.1 – Os NANOTUBOS DE GRAFINO.	168
B.2.2 – OSCILADORES DE NANOTUBOS	170
B.3 – REFERÊNCIAS.....	172
APÊNDICE C - PRODUÇÃO CIENTÍFICA	175
C.1 - TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS	176
C.2 - PUBLICAÇÕES EM PERIÓDICOS INTERNACIONAIS	180

Índice de Figuras

Figura 1.1 –Estrutura do paclitaxel (Taxol®).....	17
Figura 1.2 –Estrutura do docetaxel (Taxotere®).....	17
Figura 1.3 –Estrutura do 10-deacetilbaccatin III.....	18
Figura 1.4 – Representação dos microtúbulos celulares. As estruturas tubulares são os cromossomos celulares e as várias linhas finas ligadas aos cromossomos são os microtúbulos.....	19
Figura 1.5 –Regiões espaciais e grupos laterais do paclitaxel e sua importância na atividade biológica dos taxóides. (Adaptado das referências 1e 2).....	20
Figura 1.6 –Estrutura do 10-deacetilbaccatin III. ϕ e φ indicam os ângulos diedrais flexíveis responsáveis pelas várias conformações que a molécula pode adotar.....	24
Figura 1.7 - Estrutura do 2'-carbamato paclitaxel (CTAX).....	25
Figura 1.8 – Numeração dos átomos do DBAC utilizada nas tabelas 1.1, 1.2 e 1.3.....	26
Figura 1.9 – Superposição de estruturas experimentais e teóricas para a molécula DBAC: dados de raios-X (em linha cheia) e estruturas calculadas com os métodos (A) PM3. (B) AM1 (C) DFT.....	31
Figura 1.10 - Busca sistemática da conformação mais estável do DBAC. (A) Hiper-superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais ϕ e φ , passos de 20 graus. (B) Curvas de nível da superfície em (A).....	33
Figura 1.11 – Representação tridimensional do 10-deacetyl baccatin III (DBAC) através das esferas de Van der Waals.....	34
Figura 1.12 – Espectros de absorção de energia na faixa de UV para os conformémeros destacados pela distribuição de Boltzman (Tabela 1.5) e para o mínimo global (M.G.).....	43
Figure 1.13 –Estrutura dos taxóides estudados. Os radicais (Rn) e a estereoquímica dos carbonos da cadeia lateral estão indicados na tabela 1.9.....	46
Figura 1.14 – Ângulos diedrais responsáveis pela flexibilidade da cadeia lateral fenilisoserina dos taxóides.....	49

Figura 1.15 - Busca sistemática da conformação mais estável do composto TX3-A no vácuo. (A) Hiper-superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais α e β em passos de 15 graus. (B) Conformação geométrica do mínimo global.....	50
Figura 1.16 - Busca sistemática da conformação mais estável do composto TT1-A no vácuo. (A) Hiper-superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais α e β em passos de 15 graus. (B) Conformação geométrica do mínimo global.....	51
Figura 1.17- Busca sistemática da conformação mais estável do composto TT1-A na água. (A) Superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais α e β a passos de 15 graus. (B) Conformação geométrica do mínimo global.....	56
Figura 1.18 – Divisão das regiões dos taxóides para as quais η foi calculada separadamente.....	59
Figura 1.19- Resultados da PCA. (A) – Gráfico SCORES - distribuição dos compostos no plano das componentes principais PC1 e PC2. (B) – Gráfico LOADINGS - distribuição dos descritores responsáveis pela separação dos compostos em grupos distintos de atividade.....	67
Figura 1.20 – Dendograma da distribuição hierárquica dos taxóides. Os compostos ativos e inativos estão separados em grupos distintos e apresentam uma baixa similaridade entre eles.....	69
Figura 2.1 - Estrutura geométrica da testosterona.....	80
Figura 2.2 - Estrutura geométrica da diidrotestosterona.....	80
Figura 2.3 - Primeiros inibidores da 5alfa-reductase comercializados: (A) PROSCAR [®] e (B) AVODART [™]	81
Figura 2.4. Estrutura básica das benzo[c]quinolizin-3-onas estudadas: (A) compostos da série 4aH e, (B) compostos da série 1H.....	82
Figura 2.5 – Numeração dos átomos adotada nas tabelas 2.2, 2.3 e 2.4. (A) molécula 1H42 e (B) molécula 4aH27.....	86
Figura 2.6 – Divisão das regiões dos BENZO para as quais η foi calculado separadamente.....	90

Figura 2.7 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos quanto à atividade biológica, segundo as variáveis do conjunto A.....	99
Figura 2.8 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos quanto à atividade biológica, segundo as variáveis do conjunto B.....	99
Figura 2.9 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos quanto à atividade biológica, segundo as variáveis do conjunto C.....	100
Figura 2.10 - Resultados da análise de HCA. Gráfico de separação dos compostos em agrupamentos, segundo as variáveis do conjunto A.....	102
Figura 2.11 - Resultados da análise de HCA. Gráfico de separação dos compostos em agrupamentos, segundo as variáveis do conjunto B.....	102
Figura 2.12 - Resultados da análise de HCA. Gráfico de separação dos compostos em agrupamentos, segundo as variáveis do conjunto C.....	103
Figura 2.13 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos desconsiderando os descritores eletrônicos da MIE.....	104
Figura 2.14 - Estrutura básica dos 19-nor10-azaesteróides.....	105
Figura 2.15 - Estrutura dos compostos 5 (A) e 7 (B), com o anel C saturado, citados na tabela 2.8.....	106
Figura 2.16 - Estrutura básica das 4-azaesteróides	107
Figura 2.17 - Resultados da análise de PCA para as variáveis do conjunto A. Gráfico de separação dos compostos do GC e proposição de atividade para os compostos do GT.....	111
Figura 2.18 - Resultados da análise de PCA para as variáveis do conjunto B. Gráfico de separação dos compostos do GC e proposição de atividade para os compostos do GT.....	112
Figura 3.1 – Ilustração da interconversão de dois estados estáveis. A e B representam as duas formas dos sistemas e S1 e S2 referem-se aos diferentes estímulos externos responsáveis pelo comportamento de conversão reversível.....	125
Figura 3.2 – Sistema de chaveamento ótico. Isômeros cis e trans neutros (P-1 e M-2) e protonados (P-3 e M-4) biestáveis.....	126
Figura 3.3 – Estrutura esquemática da molécula P-1. Os números indicam os átomos de carbono que compõem a molécula, enquanto o símbolo S mostra a presença de átomos de enxofre.....	129

Figura 3.4 – Barreira de energia para rotação ao redor da ligação dupla C1=C2.....	134
Figura 3.5 – Esquema da interconversão entre P-1 e M-2 indicando a transferência de cargas ocorrida em resposta à foto-excitação das moléculas.....	136
Figura 3.6 – Curvas do Calor de Formação para o giro ao redor do eixo da dupla ligação C1=C2 para as 4 moléculas (neutras e protonadas). As curvas em cor rosa simulam a rotação dos isômeros no estado fundamental e as curvas em violeta o ajuste para o estado excitado dubleto.....	138
Figura 3.7 – Rota proposta para a interconversão entres os isômeros cis/trans.....	139
Figura 3.8 – Simulação do espectro de absorção ótica das quatro moléculas que constituem o sistema de chaveamento. As setas indicam o limiar de absorção.....	142
Figura 3.9 – Isosuperfícies PM3 dos orbitais (A) HOMO e (B) LUMO para a molécula M-2.....	145
Figura A.1 - Distribuição discreta típica da LDOS e DOS. Cada linha vertical representa um estado e sua altura indica quanto a região molecular estudada contribui para a formação do orbital associado a esta energia. ΔH representa a diferença em energia entre dois estados e ηH a diferença nas LDOS.....	153
Figura A.2 – Construção típica dos componentes principais PC1 e PC2 para uma distribuição de pontos.....	157
Figura A.3– Gráfico de score. Distribuição típica de amostras agrupadas pelo método PCA.....	158
Figura A.4– Gráfico de loading. Distribuição dos descritores responsáveis pela separação das amostras na figura A.2.	158
Figura A.5– Cálculo da distância entre grupos e pontos para os métodos de vizinhos mais próximos e mais distantes.....	160
Figura A.6- Cálculo da distância entre grupos para o método dos centróides.....	160
Figura A.7– Representação típica de um dendograma obtido pelo método HCA.....	160
Figura B.1 – Estrutura química e representação para a célula unitária para: (A) grafeno, (B) α -grafino e (C) γ -grafino.....	168
Figura B.2 - Estrutura de um nanotubo γ -grafino.....	169
Figura B.3 – Parte do vídeo de retração do tubo interno após ser telescopado (fonte: referência 17).....	170

Figura B.4 – Figura artística do oscilador selado na forma de um halter.....171

Índice de Tabelas

Tabela 1.1 – Comprimentos de ligação mais relevantes para a molécula DBAC. Comparação entre os valores experimentais e teóricos calculados com métodos semiempíricos (AM1 e PM3) e DFT.....	27
Tabela 1.2 – Ângulos de ligação mais relevantes para a molécula DBAC.....	28
Tabela 1.3 – Ângulos diedrais mais relevantes para a molécula DBAC.....	29
Tabela 1.4 – Desvio quadrático médio (Eq. 1.1) dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedrais calculados para a molécula DBAC, comparando diferentes métodos teóricos com dados de raios-X	30
Tabela 1.5 - Resultado da análise da população de Boltzmann para a distribuição de conformações apresentadas na figura 1.10.....	35
Tabela 1.6 – Variação na distribuição espacial dos orbitais de fronteira H (HOMO), H-1, L (LUMO) e L+1, devido à rotação dos grupos benzoato (ϕ) e acetato (φ).....	37
Tabela 1.7 – Resultados PM3 para o Calor de Formação (C.F.), Momento de Dipolo (M.D.), Potencial de Ionização (P.I.) e distribuição espacial dos orbitais de fronteira para as conformações de mínimo global (M.G.) e as destacadas pela distribuição de Boltzman.....	39
Tabela 1.8 - Energia, força de oscilador e principais contribuições para o limiar de absorção (primeira transição) e pico máximo (máxima absorção) para espectros simulados pelo método Zindo. A notação [A→B] utilizada indica uma configuração gerada pela excitação de um elétron do orbital molecular A para o orbital molecular B.....	41
Tabela 1.9 – Os 20 taxóides investigados. Os índices A, B, C e D representam compostos com estereoquímica distinta. A atividade qualitativa (A.Q.) dos taxóides está apresentada como A (ativa) e I (inativa).....	47
Tabela 1.10- Principais diedrais da cadeia lateral da TT1-A, otimizados em vácuo com métodoPM3, comparados com dados de raios-X para docetaxel. $ \Delta $ indica o módulo da diferença entre os valores teórico e experimental.....	54
Tabela 1.11- Principais diedrais da cadeia lateral da TX3-A , otimizados em vácuo com métodoPM3, comparados com dados de raios-X para paclitaxel . $ \Delta $ indica o módulo da diferença entre os valores teórico e experimental.....	55

Tabela 1.12- Principais diedrais da cadeia lateral da TX3-A, otimizados na água com método PM3, comparados com dados de raios-X para paclitaxel . $ \Delta $ indica o módulo da diferença entre os valores teórico e experimental.....	57
Tabela 1.13 – Variáveis eletrônicas aplicadas na MIE: energia dos orbitais HOMO (H) e HOMO-1 (H-1), sua diferença (ΔH), a contribuição dos átomos da região chain para a formação dos orbitais H e H-1 [C(H) e C(H-1)] e sua diferença (ηH). A atividade biológica experimental está apresentada de forma qualitativa como ativo -A e inativo -I (A.Q.).....	61
Tabela 1.14 – Tabela Booleana de atividade dos taxóides para os parâmetros da MIE.....	62
Tabela 1.15 – Classificação dos taxóides de acordo com as regras da MIE. Os símbolos +/- são definidos pelas regras Booleanas acima. As células em cinza destacam as moléculas para as quais a classificação da MIE discorda da classificação experimental (A.Q.).....	63
Tabela 2.1 – Conjunto dos BENZO investigados (Figura 2.4) ¹⁷ . A potência de inibição à 5AR1 é dada pelo índice IC ₅₀	83
Tabela 2.2 - Comprimentos de ligação teoricamente obtidos para as moléculas 1H42 e 4aH27.....	86
Tabela 2.3 - Ângulos de ligação teoricamente obtidos para as moléculas 1H42 e 4aH27.....	87
Tabela 2.4 – Ângulos diedrais teoricamente obtidos para as moléculas 1H42 e 4aH27.....	88
Tabela 2.5 – Desvio Quadrático Médio (Eq. 1.1) dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedrais calculado para as moléculas 1H42 e 4aH27, comparando os resultados ab initio e semiempíricos.....	88
Tabela 2.6 - Variáveis eletrônicas aplicadas na MIE calculadas com os métodos AM1 e PM3: ΔH e ηH calculado para as 4 regiões (Rn) estudadas (Figura 2.6).....	92
Tabela 2.7 - Classificação dos BENZO de acordo com as regras da MIE para Δ e para η referente a 3 regiões moleculares (Rn). A atividade biológica experimental dos compostos está representada por sua classificação qualitativa (A.Q.) como ativa (A) ou inativa (I).....	95
Tabela 2.8 – Modificação na inibição dos derivados BENZO quando da presença de saturação no anel C.....	107
Tabela 2.9 –Descritores ηH para diferentes regiões dos compostos BENZO do GT.....	109

Tabela 2.10 - Erros na previsão de atividade dos compostos do GC em função do número K de vizinhos considerados na metodologia KNN.....	114
Tabela 2.11 - Previsões de treinamento do conjunto de parâmetros A para os compostos do GC considerando diferentes números de vizinhos (Kn), na metodologia KNN.....	115
Tabela 2.12 - Previsões de treinamento do conjunto de parâmetros B para os compostos do GC considerando diferentes números de vizinhos (Kn), na metodologia KNN.....	116
Tabela 2.13 – Resultados da metodologia KNN na indicação de atividade para os compostos do GT. Os índices indicam: 1 muito ativo, 2 moderadamente ativo e 3 inativo.....	117
Tabela 2.14 – Sumário da atividade proposta para os compostos BENZO do GT segundo diferentes metodologias.....	118
Tabela 3.1 – Comprimentos de ligação da molécula P-1 (Figura 3.3) obtidos por dados de Raios $-X^7$ e otimizados pelos métodos PM3 e AM1.....	130
Tabela 3.2 – Ângulos de ligação da molécula P-1 (Figura 3.3) obtidos por dados de Raios $-X^7$ e otimizados pelos métodos PM3 e AM1.....	131
Tabela 3.3 – Ângulos diedrais da molécula P-1 (Figura 3.3) obtidos por dados de Raios $-X^7$ e otimizados pelos métodos PM3 e AM1.....	132
Tabela 3.4 – Desvio quadrático médio (Eq.1.1) dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedrais calculado por métodos semiempíricos frente aos dados experimentais de Raios $-X^7$	132
Tabela 3.5 – Calor de Formação para moléculas em estado fundamental, com as conformações referentes aos pontos inicial, máximo (ou intermediário) e final das curvas de giro (Figura 3.4).....	134
Tabela 3.6 – Barreira e Desnível das Bordas da curva do calor de formação para um giro de 180 graus entre as duas metades componentes dos isômeros em seu estado fundamental.....	135
Tabela 3.7 – Calor de Formação, em Kcal/mol, para moléculas em seu primeiro estado excitado (dubleto), com as conformações referentes aos pontos inicial, intermediário e final das curvas de giro (Figura 3.4).....	137
Tabela 3.8 - Profundidade do Vale e Desnível das Bordas da curva do calor de formação, em Kcal/mol, para os isômeros em seu estado excitado (dubleto).....	137
Tabela 3.9 – Energia de excitação do sistema para um estado dubleto.....	139

Tabela 3.10 – Sumário dos resultados PM3 para o estado fundamental, primeiro estado excitado e barreira de rotação ao redor da ligação C1=C2 (Figura 3.2). São mostrados os calores de formação para o estado fundamental (A, B), excitado (A', B') e pontos intermediários (C, C'). As diferenças de energia para as transições verticais (X para X'), a altura da barreira (Barreira) e a energia de estabilização (C'para A'ou C'para B') (EE) são indicadas.....	141
Tabela 3.11 - Transições eletrônicas para as quatro moléculas que constituem o sistema de chaveamento.Energias de transições e principais configurações.....	144
Tabela A.1 – Sumário dos resultados obtidos pela MIE e por outros métodos (em alguns casos) para diferentes as classes de compostos estudadas.....	155

Lista de Abreviações

FDA – *Food and Drug Administration*

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

DBAC – 10-deacetilbaccatin-III

M.G. – Mínimo Global

MNDO – *Modified Neglect of Differential Overlap*

AM1 – *Austin Method 1*

PM3 – *Parametric Method 3*

ZDO – *Zero Differential Overlap*

ZINDO/S – *Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap/Spectroscopic*

COSMO – *Conductor-like Screening Model*

MIE – Metodologia de Índices Eletrônicos

PCA – *Principal Component Analysis* (Análise de Componentes Principais)

PC – *Principal Component* (Componentes Principais)

HCA – *Hierarchical Clusters Analysis* (Análise Hierárquica de Clusters)

LCAO – *Linear Combination of Atomic Orbitals* (Combinação Linear de Orbitais Atômicos)

KNN – *K Nearest Neighbors* (K Primeiros Vizinhos)

CTAX – 2' carbamato paclitaxel

AT - Anéis Tetracíclicos

DFT – *Density Functional Theory*

DQM – Desvio Quadrático Médio

R-X – Raios-X

D_B – Distribuição de Boltzmann

DOS – *Density of States* (Densidade de Estados)

LDOS – *Local Density of States* (Densidade Local de Estados)

HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital* (Último Orbital Molecular Ocupado)

LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (Primeiro Orbital Molecular Desocupado)

C.F. – Calor de Formação

M.D. – Momento de Dipolo

P.I. – Potencial de Ionização
CI – Interação de Configurações
UV- Ultra Violeta
TX – Taxol ou derivado do Taxol
TT- Taxotere ou derivado do Taxotere
A.Q. – Análise Qualitativa de Atividade Biológica
A – Ativo
I – Inativo
T- Testosterona
DT – Diidrotestosterona
5AR- Enzimas 5alfa-reductase humana
BENZO – Benzo[c]quinolizin-3-onas
GC – Grupo de Controle
GT – Grupo de Teste
19NAZ – 19-nor-10-azasteróides
4AZ – 4-azasteróides
NT - Nanotubo de Carbono

Capítulo 1

Taxóides

1.1 – Introdução

A busca por produtos, naturais ou sintéticos, que superem a cada dia os resultados obtidos com os tratamentos disponíveis contra tumores malignos tem sido incessante. Dentre as drogas anticancerígenas até hoje investigadas, o composto natural paclitaxel (Taxol®/Bristol-Myers-Squibb) (Figura 1.1) e seu derivado semi-sintético docetaxel (Taxotere®/Rhone-Poulenc Rorer) (Figura 1.2) têm se destacado como potentes agentes quimioterápicos. Desde suas aprovações respectivas em 1992 e 1996 pelo FDA (*Food and Drug Administration*) estes compostos vêm sendo efetivamente aplicados no combate ao câncer de ovário e de mama. Atualmente, indústrias farmacêuticas como a Koreana Samyang Genex¹, a Canadense IVAX Corporation² e a Norte Americana NaPro BioTherapeutics³, dentre outras, são responsáveis pela fabricação e comercialização destes medicamentos.

Por ser uma molécula hidrofóbica, a baixa solubilidade aquosa apresentada pelo paclitaxel é uma das maiores dificuldades encontradas para sua administração em pacientes com câncer. Em função disso, investigações recentes têm se dedicado ao desenvolvimento de sistemas alternativos capazes de facilitar a aplicação e distribuição deste medicamento no interior do corpo humano. Estes sistemas incluem esferas poliméricas (cápsulas) de dimensões micro-⁴ e nanométricas^{5,6}, implantes contendo paclitaxel⁷, complexos paclitaxel-ciclodextrina⁸, pastas cirúrgicas⁹ e formulações injetáveis de liberação contínua¹⁰. A administração de medicamentos (nano)encapsulados apresenta muitas vantagens bioquímicas, favorecendo uma distribuição seletiva da droga até o seu alvo e protegendo-a de reações químicas indesejáveis, podendo até mesmo agir como um redutor da dosagem crítica efetiva da mesma. O paclitaxel e seus derivados, por suas estruturas complexas e baixa solubilidade são bons candidatos a serem encapsulados.

O paclitaxel foi isolado pela primeira vez em 1971 por Wall e colaboradores¹¹, que identificaram sua estrutura química assim como sua atividade contra alguns tumores malignos.

Apesar da atividade inquestionável, esta droga não pode, ainda hoje, ser facilmente aplicada em larga escala devido à dificuldade na sua obtenção. O paclitaxel é um produto natural extraído da árvore *Pacific Yew*, de nome científico *Taxus Brevifolia*, nativa no oeste

da América do Norte¹². Esta é uma árvore rara e de crescimento lento e, além disso, são necessárias cerca de 2500 árvores para obtenção de 1Kg da droga, uma vez que a mesma está presente apenas na casca desta árvore numa concentração baixa^{13,14}.

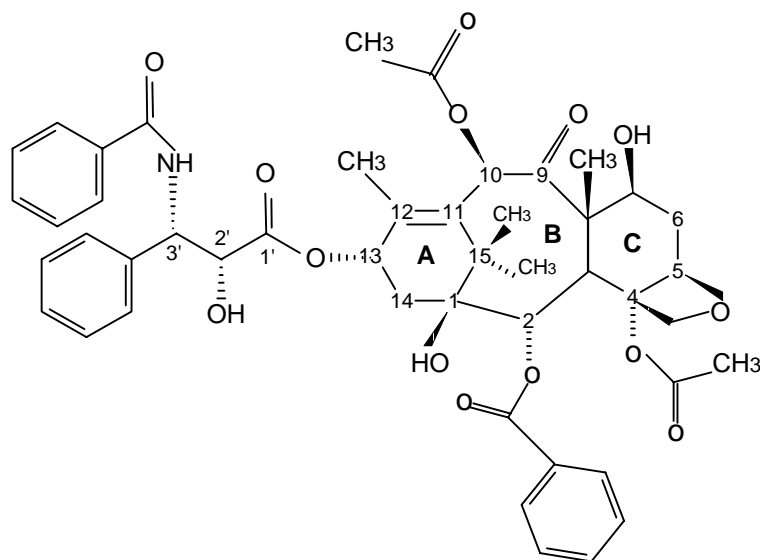


Figura 1.1 –Estrutura do paclitaxel (Taxol®).

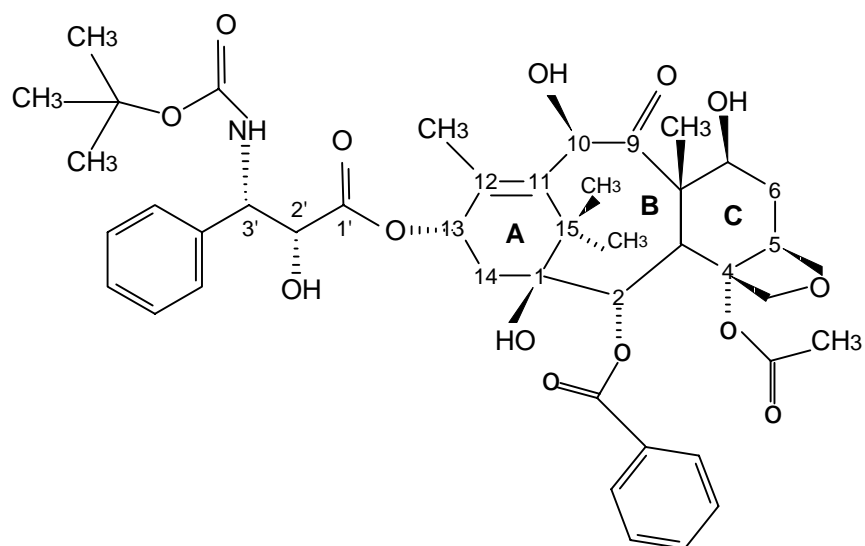


Figura 1.2 –Estrutura do docetaxel (Taxotere®).

A escassez de recursos naturais como fonte para sua obtenção foi a primeira motivação para a investigação de uma possível produção do paclitaxel por meio de sínteses totais ou parciais¹⁶⁻¹⁷. Durante as pesquisas de síntese, derivados biologicamente ativos foram alcançados motivando ainda mais a investigação sintética e a busca por novos compostos, primando por uma solubilidade e potência antitumoral otimizadas¹⁸⁻²¹. A solução mais promissora adotada para a obtenção do paclitaxel e/ou derivados ativos, considera sua semi-síntese partindo da molécula 10-deacetilbaccatin III (Figura 1.3), um composto natural extraído das folhas da árvore *Taxus Baccata*^{22,23}. Apesar de rotas de sínteses totais para o paclitaxel já terem sido propostas e comprovadas, elas são extremamente complexas para serem adotadas numa produção industrial^{13,23,24}.

A molécula docetaxel por sua vez, foi obtida no Institute de Chimie des Substances Naturelles durante uma rota semi-sintética¹³ proposta para o paclitaxel, partindo-se do 10-deacetilbaccatin III. Já de início, o docetaxel apresentou resultados surpreendentes em testes *in vitro*^{25,26} e *in vivo*²⁷ para tratamentos antitumorais.

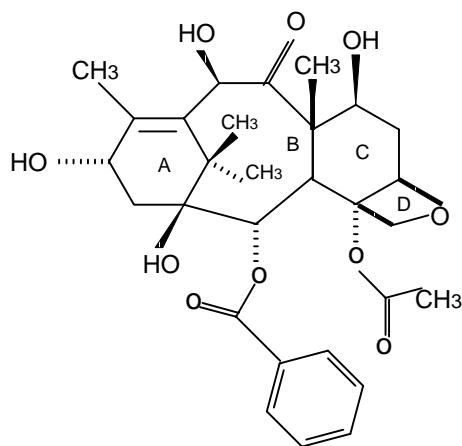


Figura 1.3 –Estrutura do 10-deacetilbaccatin III.

Paclitaxel e docetaxel apresentam um mecanismo de ação ímpar no combate ao câncer, através do bloqueio do ciclo de reprodução celular de uma forma nunca antes observada. Eles estimulam a polimerização dos heterodímeros da proteína tubulina para a formação dos microtúbulos celulares. Os microtúbulos têm um papel primordial durante o

processo de reprodução celular, uma vez que são os responsáveis por separar os cromossomos duplicados para a formação de duas células irmãs. A polimerização estimulada pelos taxóides ocorre mesmo sob condições pouco favoráveis como baixa temperatura e ausência das proteínas associadas aos microtúbulos. Além disso, estas drogas estabilizam os microtúbulos inibindo sua despolimerização²⁸⁻³², processo este que bloqueia o ciclo de reprodução celular na fase da mitose (Figura 1.4).

A estrutura dos derivados do paclitaxel e docetaxel, os chamados taxóides, é bastante complexa apresentando um esqueleto diterpenóide com 8 grupos oxofuncionais e uma variedade de cadeias laterais num total de 11 centros estéreos³³. A complexidade estrutural observada nestas moléculas é uma das grandes responsáveis pelo número limitado de estudos de raios-X e análise conformacional desta família³⁴⁻³⁷.

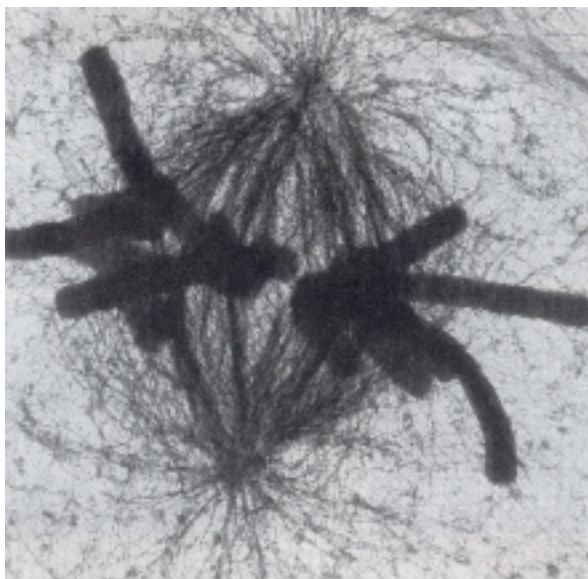


Figura 1.4 –Representação dos microtúbulos celulares. As estruturas tubulares são os cromossomos celulares e as várias linhas finas ligadas aos cromossomos são os microtúbulos.

A primeira estrutura cristalina de um taxóide foi obtida em 1990 para o docetaxel³⁸ e somente em 1995 um estudo de raios-X do paclitaxel foi publicado³⁹. Estes resultados traduziram toda a estereoquímica dos anéis de taxano e da cadeia lateral (fenilisoerina ligada ao carbono 13, Figuras 1.1 e 1.2) dos taxóides³⁶.

Os trabalhos que investigam a estrutura tridimensional dos compostos tipo-paclitaxel na presença de solventes mostram uma grande dependência da conformação de sua cadeia lateral com os diferentes solventes aplicados no processo de cristalização molecular e nas análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)⁴⁰⁻⁴⁷. O próximo passo neste estudo, já sob investigação, é a obtenção das conformações das drogas ligadas ao seu alvo biológico^{48,49}.

O entendimento da estrutura conformacional destes compostos é uma das primeiras necessidades para a formulação de novos taxóides ativos capazes de interagir com a tubulina, seu sítio alvo no corpo humano. Um grande número de investigações de estrutura-atividade, de caráter experimental, elucidaram a necessidade da presença ou não de grupos laterais específicos em todas as regiões que compõem o esqueleto molecular, assim como qual a orientação estereoquímica que estes grupos devem assumir⁵⁰⁻⁵². A figura 1.5 sumariza algumas das conclusões experimentais a respeito da influência dos substituintes laterais do anel taxano na atividade antimetabólica dos compostos.

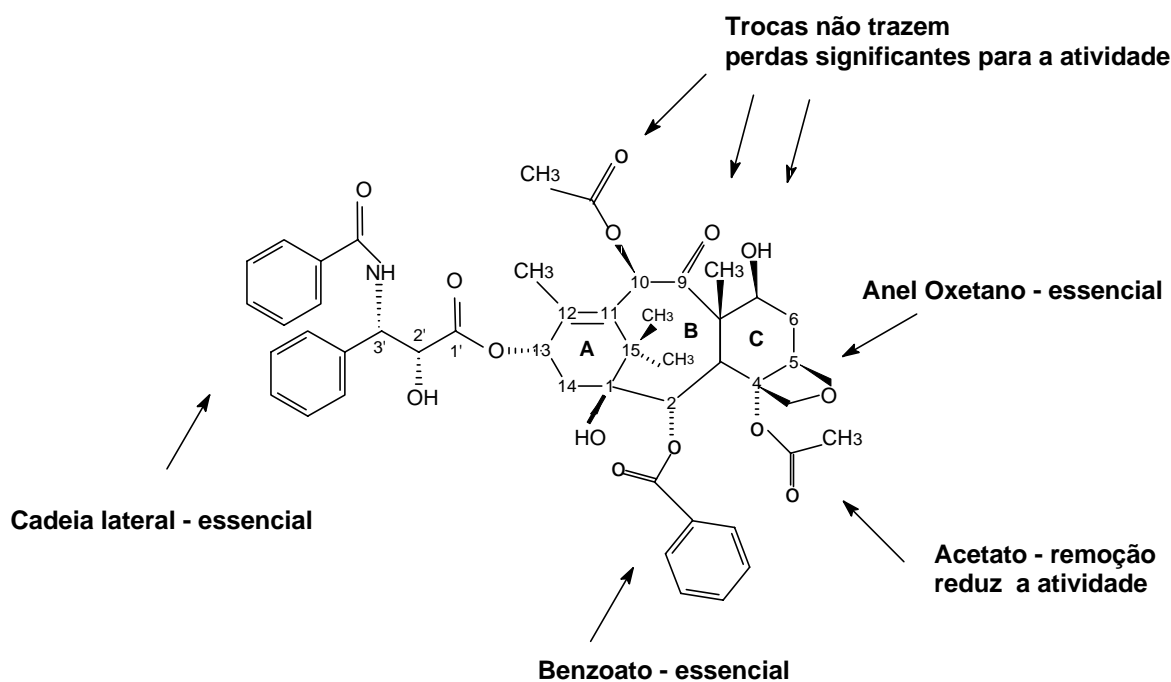


Figura 1.5 –Regiões espaciais e grupos laterais do paclitaxel e sua importância na atividade biológica dos taxóides. (Adaptado das referências 1e 2).

Experimentalmente observou-se que mudanças nos grupos ligantes na parte superior do esqueleto molecular (anéis A, B e C) não alteram a atividade biológica dos taxóides. O mesmo não ocorre para os substituintes inferiores, a presença dos grupos benzoato e acetato é importante para a atividade dos taxóides e para a intensidade da mesma. A região de maior importância, no entanto, é a cadeia lateral longa e flexível ligada ao carbono 13. Para o anel de oxetano os resultados experimentais são controversos. Duas hipóteses têm sido consideradas para explicar sua importância: a participação direta na rigidez do caroço do paclitaxel favorecendo a manutenção de uma conformação ou a diminuição das interações dipolo-dipolo que facilitam a ligação com a tubulina. No entanto, estudos recentes de Wang⁵⁵ questionam a importância do oxetano.

As dificuldades enfrentadas no estudo e desenvolvimento de fármacos são muitas, iniciando-se com a complexidade envolvida na fase de síntese dos compostos e prosseguindo com a demora e o elevado custo monetário dos testes de atividade biológica. Uma grande contribuição para o desenvolvimento de novos fármacos pode ser dada pelos estudos moleculares teóricos, buscando, pelo menos em linhas gerais, por propriedades teóricas que, quando satisfeitas, otimizem o desempenho de uma família de compostos, assim como por informações que sirvam de orientação no processo de síntese de novas moléculas.

Considerando a grande importância de uma análise preliminar das características seletivas para novos análogos a serem sintetizados, nós realizamos uma investigação teórica sistemática da relação de estrutura e/ou conformação-atividade biológica para um conjunto de derivados do paclitaxel e docetaxel. Essa investigação leva em conta parâmetros estruturais, eletrônicos e físico-químicos possivelmente correlacionados com o efeito antimitótico dos compostos da classe dos taxóides.

Neste trabalho, desenvolvemos o primeiro estudo que correlaciona a atividade biológica experimentalmente medida de um grupo de taxóides com propriedades derivadas de cálculos quânticos.

Considerando a complexidade dos taxóides iniciamos nossa investigação com a obtenção da conformação de menor energia de seu precursor sintético 10-deacetilbaccatin III.

A investigação geométrica do composto 10-deacetilbaccatin III e a caracterização de seus conformeros estáveis (locais e global) estão apresentadas em detalhes na próxima seção.

Na seção 1.3 os taxóides estudados são introduzidos e a investigação realizada é discutida em detalhes. Apresentamos separadamente a análise conformacional dos compostos e sua investigação teórica de atividade.

Para finalizar, as conclusões deste capítulo são apresentadas na seção 1.4

1.2 - 10-deacetilbaccatin III

1.2.1 - Introdução

O 10-deacetilbaccatin III (DBAC) é um produto natural extraído em abundância das folhas das árvores da espécie *Taxus*⁵⁶. Por ser obtido de uma fonte considerada renovável, este composto tem sido utilizado de forma promissora como ponto de partida na semi-síntese do paclitaxel e de outros taxóides.

Considerando a estrutura topológica, o composto DBAC apresenta 3 das 4 regiões consideradas essenciais para a atividade dos taxóides (Figura 1.5). No entanto, por não possuir a cadeia lateral fenilisoserina (fator primordial para a atividade da família de drogas que apresentam o esqueleto taxano) o DBAC não possui atividade contra a proliferação de células cancerígenas.

Do ponto de vista da análise conformacional, a molécula de DBAC apresenta-se como um ótimo ponto de partida para o estudo dos taxóides. Ela é razoavelmente menor quando comparada aos taxóides e ao mesmo tempo mantém o esqueleto molecular comum a todos eles. O DBAC possui 39 átomos comparado aos 60 do paclitaxel (excluindo aqui todos os átomos de hidrogênio), e conseqüentemente um número reduzido de graus de liberdade, o que facilita o estudo de sua geometria.

Nesta seção, apresentamos o estudo da estrutura geométrica do DBAC⁵⁷. Determinamos sua estrutura mais estável e ao mesmo tempo analisamos sistematicamente o espaço de configurações (estatístico) formado pelas várias conformações que a molécula pode adotar. Este extenso conjunto de conformações é fruto da flexibilidade de seus grupos laterais. Varremos as conformações através da variação dos ângulos de torção flexíveis (ou diedrais flexíveis, como serão chamados daqui por diante) do composto, apresentados na figura 1.6.

Investigamos também se e como as regiões biologicamente importantes para os taxóides (benzoato, acetato, oxetano e esqueleto) poderiam ser mapeadas através da investigação de propriedades eletrônicas (pelos parâmetros da metodologia de índices eletrônicos) e óticas (por seu espectro de absorção) do DBAC.

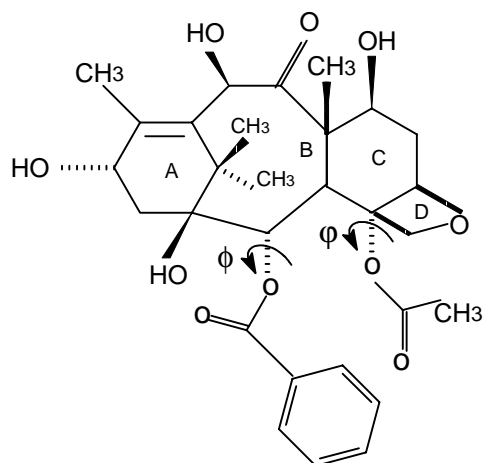


Figura 1.6 –Estrutura do 10-deacetilbaccatin III. ϕ e ϕ indicam os ângulos diedrais flexíveis responsáveis pelas várias conformações que a molécula pode adotar.

1.2.2 - Metodologia e Resultados

1.2.2.1 - Análise Conformacional

O DBAC, assim como os taxoides, é uma molécula composta de muitos átomos e apresenta grupos flexíveis. A variedade e o número de conformações geradas pela flexibilidade dos ângulos diedrais, ϕ e ϕ (Figura 1.6), torna imprescindível uma análise detalhada dos seus vários conformeros acessíveis na busca de sua geometria mais estável.

Considerando a flexibilidade, o número de átomos da molécula DBAC e a necessidade de realizarmos uma busca conformacional refinada para a obtenção de sua estrutura geométrica de mínimo global (M.G.), o uso de métodos mecânico quânticos de primeiros princípios (*ab-initio*) tornou-se inviável. A utilização de métodos semi-empíricos, largamente aplicados, foi então a alternativa adotada.

Métodos como MNDO⁵⁸ (Modified Neglect of Differential Overlap), AM1⁵⁹ (Austin Method 1) and PM3⁶⁰⁻⁶² (Parametric Method 3) têm sido utilizados com sucesso na investigação geométrica de muitos compostos orgânicos⁶³ e têm oferecido resultados de qualidade, obtidos com um baixo custo computacional.

O método AM1 foi desenvolvido visando corrigir algumas falhas apresentadas nos resultados obtidos com o MNDO. O método PM3 por sua vez, elaborado após o surgimento do AM1, trouxe como inovação a utilização de parâmetros puramente teóricos (não derivados de resultados espectroscópicos, como no caso do AM1) nas integrais de um e dois centros. Apesar de haver um consenso de que os métodos AM1 e PM3 são, em geral, melhores do que o MNDO, ainda existe um grande debate a respeito do mérito relativo desses dois métodos. Muitos estudos apresentam resultados que favorecem o PM3⁶⁴⁻⁷¹, enquanto outros demonstram uma superioridade para os resultados AM1⁷²⁻⁷⁴.

De forma a escolhermos o melhor método para a otimização geométrica do DBAC e dos taxóides em geral, iniciamos nosso estudo através de testes comparativos entre os métodos AM1 e PM3. Para tal, baseamo-nos nos resultados de otimização do caroço diterpenóide comum a todos os taxóides. Apesar de não haver disponível na literatura dados de raios-X para a molécula de DBAC, dados experimentais foram reportados para compostos similares como o 2'-carbamato paclitaxel (CTAX – Figura 1.7)⁷⁵.

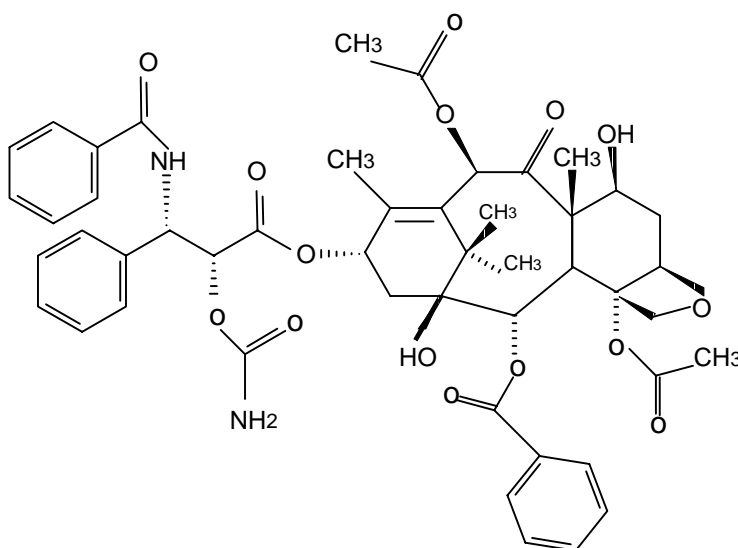


Figura 1.7 - Estrutura do 2'-carbamato paclitaxel (CTAX).

O CTAX possui essencialmente o mesmo conjunto de anéis tetracíclicos (AT-formado pelos anéis A, B, C e D nas figuras 1.3 e 1.6) presentes no DBAC, paclitaxel e docetaxel⁷⁶. A geometria deste conjunto de anéis é tratada em diversos trabalhos

experimentais como sendo uma estrutura bastante rígida^{39-41,77,78}, e constitui nosso sistema ideal de teste para os métodos de otimização.

Um estudo baseado na Teoria do Funcional de Densidade (DFT) foi realizado por Ballone e Marchi⁷⁶ para a investigação da geometria da molécula baccatin-III. O baccatin-III apresenta o mesmo conjunto AT do DBAC, o que nos permitiu utilizar os resultados obtidos com a DFT como mais um parâmetro de comparação dentro da nossa análise dos métodos semi-empíricos. Comparamos então os dados experimentais da geometria do conjunto AT (raios-X do CTAX) com os resultados obtidos para os métodos AM1, PM3 (otimização do DBAC) e DFT (baccatin-III).

Uma vez que uma busca sistemática de conformações é uma abordagem de investigação proibitiva para cálculos com o nível de exigência da DFT⁷⁶, a estratégia adotada por Ballone e Marchi neste estudo foi partir de um pequeno número de geometrias iniciais, construídas com base nos dados de raios-X da molécula docetaxel, para então obter através de otimização a geometria de menor energia do composto. Adotamos inicialmente este mesmo procedimento de forma a compararmos nossos resultados com os obtidos com a DFT.

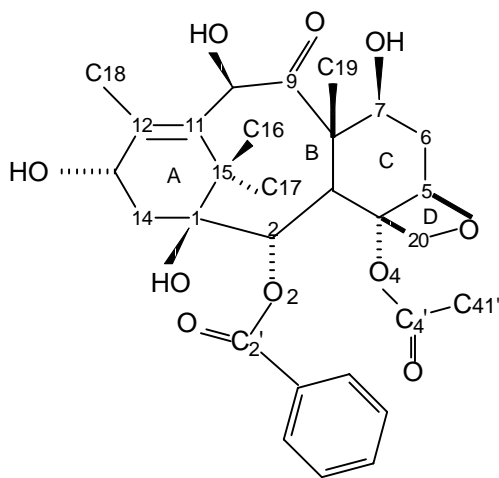


Figura 1.8 – Numeração dos átomos do DBAC utilizada nas tabelas 1.1, 1.2 e 1.3.

Nas tabelas 1.1, 1.2 e 1.3, apresentamos os comprimentos e ângulos de ligação e ângulos diedrais mais relevantes para a geometria de DBAC.

As medidas dos desvios entre os valores experimentais e teóricos para os diferentes métodos estão sumarizadas, através do desvio quadrático médio (DQM), na tabela 1.4.

Tabela 1.1 – Comprimentos de ligação mais relevantes para a molécula DBAC. Comparação entre os valores experimentais e teóricos calculados com métodos semiempíricos (AM1 e PM3) e DFT.

Comprimento de Ligação (Å)											
Átomos	R-X ⁷⁵	PM3	AM1	DFT ⁷⁶	M.G.	Átomos	R-X	PM3	AM1	DFT	M.G.
O1-C1	1,424	1,422	1,427	1,452	1,424	C1-C15	1,564	1,577	1,554	1,570	1,577
O2-C2	1,452	1,430	1,442	1,473	1,430	C2-C3	1,565	1,570	1,543	1,575	1,572
O2-C2'	1,358	1,369	1,373	1,364	1,372	C3-C4	1,547	1,553	1,532	1,560	1,552
O4-C4	1,455	1,432	1,430	1,477	1,435	C3-C8	1,564	1,563	1,543	1,588	1,561
O4-C4'	1,359	1,366	1,371	1,366	1,362	C4-C5	1,542	1,585	1,574	1,559	1,585
O5-C5	1,467	1,457	1,461	1,480	1,457	C4-C20	1,534	1,572	1,566	1,540	1,570
O5-C20	1,427	1,442	1,452	1,464	1,441	C5-C6	1,528	1,516	1,504	1,522	1,515
O7-C7	1,440	1,407	1,415	1,435	1,407	C6-C7	1,526	1,528	1,520	1,531	1,529
O9-C9	1,212	1,222	1,239	1,221	1,217	C7-C8	1,585	1,567	1,559	1,588	1,566
O10-C10	1,443	1,411	1,42	1,463	1,405	C8-C9	1,547	1,549	1,533	1,568	1,559
O13-C13	1,458	1,416	1,428	1,459	1,406	C8-C19	1,546	1,531	1,525	1,541	1,531
O21-C2'	1,202	1,219	1,236	1,229	1,214	C9-C10	1,524	1,543	1,527	1,549	1,546
O41-C4'	1,206	1,216	1,233	1,224	1,217	C10-C11	1,503	1,505	1,497	1,503	1,508
C11-C15	1,535	1,511	1,505	1,539	1,512	C11-C12	1,345	1,352	1,353	1,356	1,353
C12-C18	1,498	1,487	1,480	1,506	1,484	C12-C13	1,515	1,512	1,506	1,525	1,513
C15-C16	1,559	1,540	1,535	1,553	1,544	C13-C14	1,524	1,543	1,532	1,542	1,544
C4'-C41'	1,490	1,502	1,490	1,507	1,504	C15-C17	1,548	1,540	1,527	1,544	1,535
C1-C2	1,567	1,605	1,568	1,580	1,600	C2'-C21'	1,481	1,488	1,470	1,492	1,490
C1-C14	1,557	1,546	1,536	1,549	1,552						

Tabela 1.2 – Ângulos de ligação mais relevantes para a molécula DBAC.

Ângulo de Ligação (graus)											
Átomos	R-X ⁷⁵	PM3	AM1	DFT ⁷⁶	M.G.	Átomos	R-X	PM3	AM1	DFT	M.G.
C2-O2-C2'	116,4	119,9	118,2	118,6	119,8	O4-C4-C3	108,7	110,6	110,2	109,5	110,4
C4-O4-C4'	117,2	122,4	119,9	117,1	121,9	O4-C4-C5	113,3	112,7	111,8	112,0	112,4
C5-O5-C20	91,5	93,7	93,3	90,	93,6	O4-C4-C20	108,6	105,1	106,1	108,5	105,3
O1-C1-C14	110,2	104,4	104,1	104,6	108,4	C3-C4-C5	119,2	120,4	120,6	119,7	120,7
O1-C1-C15	107,8	109,7	109,8	109,9	110,1	C3-C4-C20	120,5	121,0	120,7	119,9	121,2
C2-C1-C14	111,3	112,3	111,0	112,6	112,2	C5-C4-C20	84,7	84,1	84,8	85,2	84,1
C2-C1-C15	111,4	110,5	112,2	112,4	111,3	O5-C5-C4	90,5	91,4	90,6	90,7	90,3
C14-C1-C15	111,1	112,3	112,7	110,7	111,5	O5-C5-C6	113,6	111,6	112,0	112,7	111,7
O2-C2-C1	104,9	106,2	105,4	104,8	105,3	C4-C5-C6	120,3	118,2	119,0	120,3	117,9
O2-C2-C3	109,0	109,0	107,6	107,9	109,9	C5-C6-C7	113,3	111,6	110,7	113,9	111,4
C1-C2-C3	118,5	116,9	116,3	119,5	116,6	C12-C13-C14	112,2	110,7	112,4	112,7	110,2
O7-C7-C6	106,7	110,6	110,9	110,0	110,4	C1-C14-C13	115,4	115,0	116,1	117,5	115,3
O7-C7-C8	109,5	113,1	111,6	113,8	113,2	C1-C15-C11	105,5	104,7	105,7	105,8	104,7
C6-C7-C8	110,7	112,1	111,6	112,8	112,1	C1-C15-C16	110,5	109,2	110,8	110,5	110,1
C3-C8-C7	104,8	107,4	106,6	105,5	107,7	C1-C15-C17	110,8	113,3	111,5	110,7	112,9
C3-C8-C9	115,4	115,3	116,2	117,8	115,2	C11-C15-C16	110,8	109,4	110,2	115,9	109,5
C3-C8-C19	113,2	110,1	112,3	112,9	110,0	C11-C15-C17	116,3	116,9	114,8	109,9	116,5
C7-C8-C9	102,4	104,0	104,0	102,2	104,2	C16-C15-C17	103,0	103,7	104,0	104,1	103,4
C7-C8-C19	113,7	112,9	110,5	111,2	112,5	O5-C20-C4	92,4	91,4	91,3	92,1	91,5
C9-C8-C19	107,0	107,1	106,8	106,6	107,3	O2-C2'-O21	123,3	119,2	118,6	123,9	120,5
O9-C9-C8	119,9	120,7	119,4	119,6	119,2	O2-C2'-C21'	111,6	114,1	113,5	111,5	112,5
C8-C9-C10	119,3	124,7	122,4	120,8	122,4	O21-C2'-C21'	125,1	126,7	127,9	124,7	127
O10-C10-C9	109,9	110,7	111,8	108,6	112,9	C9-C10-C11	114,3	111,9	112,4	114,4	112,2
O10-C10-C11	110,8	111,3	108,8	110,3	112,1	C10-C11-C15	120,8	121,4	119,3	119,6	120,7
C10-C11-C12	118,7	119,5	121,0	120,6	120,4	C11-C12-C13	116,7	118,8	119,0	118,9	118,4
C12-C11-C15	119,7	118,8	119,4	119,5	118,7	C13-C12-C18	117,3	117,8	116,5	115,8	117,4
C11-C12-C18	126,0	123,3	124,4	125,3	124,2	O4-C4'-O41	122,7	120,6	119,1	123,5	121,0
C2-C3-C4	113,6	114,7	112,6	111,3	114,8	O4-C4'-C41'	109,7	111,9	112,2	110,9	112,6
C2-C3-C8	114,2	112,0	114,0	115,9	112,2	O41-C4'-C41'	127,6	127,4	128,7	125,7	126,5
C4-C3-C8	111,0	111,5	111,5	111,0	111,5						

Tabela 1.3 – Ângulos diedrais mais relevantes para a molécula DBAC.

Ângulos Diedrais (graus)											
Átomos	R-X ⁷⁵	PM3	AM1	DFT ⁷⁶	M.G.	Átomos	R-X	PM3	AM1	DFT	M.G.
C1-C2-C3-C4	-125,8	-123,1	-127,3	-132,2	-124,1	O1-C1-C2-O2	53,3	46,9	53,9	55,9	50,5
C1-C2-C3-C8	105,6	108,5	104,5	99,65	107,5	C6-C5-O5-C20	130,6	115,8	123,8	131,4	115,1
C1-C2-O2-C2'	-104,3	-96,0	-86,3	-93,7	-103,5	C6-C7-C8-C19	51,4	51,2	49,1	53,2	51,2
C2-C3-C4-C5	-154,6	-154,3	-151	-154,4	-153,7	C6-C7-C8-C9	166,4	166,9	163,4	166,6	167,1
C2-C3-C4-C20	-52,6	-51,9	-47,8	-51,9	-51,1	C6-C5-C4-C20	-124,4	-110,4	-117,5	-124,6	-110,1
C2-C3-C4-O4	73,6	71,5	76,3	74,4	72,4	C7-C8-C9-O9	-104,8	-97,7	-96,7	-96,1	-98,8
C2-C3-C8-C7	-171,1	-178,3	-179,1	-175,3	-179,2	C7-C8-C9-C10	66,7	76,3	74,1	74,9	75,2
C2-C3-C8-C9	-59,2	-62,9	-63,7	-62,0	-63,5	C8-C9-C10-O10	-171,1	-179,1	-179,2	179,9	-172,9
C3-C2-O2-C2'	127,9	137,2	148,9	137,9	130,2	C9-C10-C11-C12	-123,2	-118,8	-122,8	-122,6	-123
C3-C4-C5-C6	-2,4	12,0	5,2	-2,8	12,8	C19-C8-C9-O9	15,0	22,0	20,3	20,7	20,6
C3-C4-C20-O5	-114,3	-126,7	-120,9	-114,0	-127,5	O7-C7-C8-C19	-65,9	-74,6	-75,7	-73,1	-74,5
C3-C4-C5-O5	115,5	127,2	120,9	114,3	127,7	C9-C10-C11-C15	46,9	55,3	50,8	50,9	52,1
C3-C4-O4-C4'	79,5	78,8	75,8	77,4	76,9	O9-C9-C10-O10	0,5	-4,7	-8,2	-9,0	1,1
C3-C8-C7-O7	169,9	163,8	162,0	164,1	164,3	O10-C10-C11-C15	-77,9	-69,2	-73,5	-72,0	-76,0
C3-C8-C7-C6	-72,7	-70,4	-73,2	-69,7	-70,1	C10-C11-C12-C13	164,8	168,4	163,6	166,8	168,4
C4-C5-C6-C7	-8,8	-26,1	-21,4	-7,0	-27,3	C10-C11-C15-C16	7,5	1,3	4,1	2,3	2,6
C4-O4-C4'-O41'	-1,8	0,2	-1,4	-3,2	2,7	C10-C11-C15-C17	124,6	118,6	121,1	120,0	119,5
C4-O4-C4'-C41'	178,6	180,3	178,9	176,4	183,4	C10-C11-C15-C1	-115,6	-119,7	-119,2	-120,5	-119,2
C2-O2-C2'-O21'	-9,0	-6,4	-6,5	-4,2	-14,5	C10-C11-C12-C18	-13,6	-8,4	-12,3	-12,1	-10,4
C2-O2-C2'-C21'	172,6	174,6	175,1	176,2	167,1	C11-C12-C13-O13	-159,3	-161,9	-151,9	-152,9	-168,7
O2-C2'-C21'-C22'	9,4	6,4	0,9	-3,3	56	C11-C12-C13-C14	-42,1	-41,7	-34,6	-34,4	-42,1
O2-C2'-C21'-C26'	-170,9	-173,4	-178,8	175,8	-125	C11-C15-C1-C14	-53,9	-54,9	-53,5	-56,2	-54,8
C5-C6-C7-O7	165,4	183,4	181,0	172,1	184,1	C11-C15-C1-O1	-174,7	-170,6	-169,1	-171,3	-175,1
C5-C6-C7-C8	46,4	56,2	55,7	43,9	56,9	C11-C15-C1-C2	70,7	71,2	72,6	70,6	71,3
C2-C3-C8-C19	64,5	58,5	59,7	63,1	57,9	C12-C13-C14-C1	36,9	35,8	30,7	26,3	37,6
C4-C3-C8-C19	-65,6	-71,7	-69,2	-65,2	-72,2	C12-C11-C15-C16	177,5	175,4	177,8	176,1	177,8
C4-C3-C8-C7	58,9	51,6	52,0	56,5	50,6	C12-C11-C15-C17	-65,4	-67,2	-65,2	-66,2	-65,3
C4-C3-C8-C9	170,8	167	167,4	169,7	166,4	C12-C11-C15-C1	54,3	54,5	54,5	53,3	56,1
C5-C4-C3-C8	-24,3	-25,6	-21,5	-23,7	-24,9	O13-C13-C12-C18	19,3	15,0	24,3	26,1	10,2
C5-C4-O4-C4'	-55,5	-59,2	-61,2	-57,8	-61,1	C14-C1-C2-C3	55,9	54,5	60,3	62,9	56,3
C13-C14-C1-C15	11,6	12,0	13,5	19,2	10,5	C14-C1-C2-O2	-65,9	-67,4	-58,8	-58,1	-65,9
O13-C13-C14-C1	159,3	161,2	152,4	149,3	166,2	O1-C1-C15-C16	58,7	63,4	65,6	62,5	58,9
C13-C14-C1-O1	130,9	130,7	132,4	137,5	131,8	O1-C1-C15-C17	-54,8	-51,5	-49,8	-52,3	-56,1
C14-C1-C15-C16	179,4	179,0	181,2	177,6	179,3	C20-C4-O4-C4'	-147,8	-149,1	-152	-150,1	-150,9
C14-C1-C15-C17	65,9	64,1	65,8	62,8	64,9						

O DQM foi calculado de acordo com a equação:

$$DQM = \sqrt{\frac{\sum^n (D_{raios-X} - D_{teórico})^2}{N}} \quad (\text{Eq. 1.1})$$

onde o somatório inclui todos os N comprimentos (ou ângulos ou diedrais) (D) da molécula.

Tabela 1.4 – Desvio quadrático médio (Eq. 1.1) dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedrais calculados para a molécula DBAC, comparando diferentes métodos teóricos com dados de raios-X.

Desvio Quadrático Médio			
	Comprimento de Ligação	Ângulo de Ligação	Ângulo Diedral
R-X e PM3	0,018	2,15	6,65
R-X e AM1	0,085	1,99	6,56
R-X e DFT	0,079	0,50	0,83

Na figura 1.9 apresentamos superpostas as estruturas teóricas de menor energia e a obtida através de análise de raios-X. Esta comparação direta das estruturas nos permite verificar que todos os métodos de um modo geral descrevem os resultados experimentais satisfatoriamente.

Na comparação entre geometrias experimentais de raios-X e geometrias teoricamente obtidas em vácuo, uma discordância é esperada devido ao efeito dos solventes e do empacotamento do sistema cristalino. Neste caso as maiores distorções deverão ocorrer para os valores dos ângulos diedrais, seguidos dos valores dos ângulos de ligação. Os comprimentos de ligação são parâmetros geométricos para os quais maior acordo é esperado entre análises teóricas e dados de raios-X. Este padrão é observado na tabela 1.4.

Observando os dados nas tabelas 1.1, 1.2 e 1.3 e figuras 1.9 (A), (B) e (C) notamos que os resultados produzidos pelo método PM3 são superiores aos produzidos pelo AM1. Apesar do desvio nos ângulos de ligação e diedrais serem similares para PM3 e AM1, a diferença nos comprimentos de ligação (cerca de 5 vezes menor) favorece a escolha do

método PM3. Vale a pena destacar que o método PM3 superou até mesmo o resultado da DFT na reprodução dos valores experimentais para os comprimentos de ligação. Baseado nestes resultados, o método PM3 foi selecionado para a investigação detalhada da estrutura geométrica do DBAC

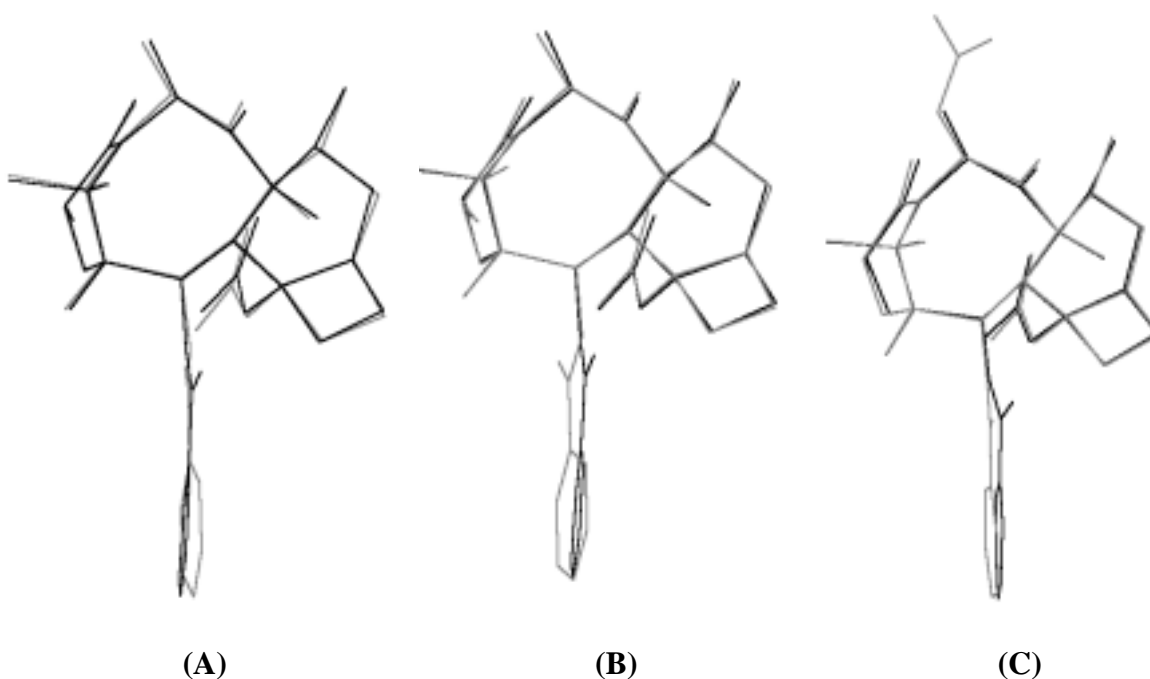


Figura 1.9 – Superposição de estruturas experimentais e teóricas para a molécula DBAC: dados de raios-X (em linha cheia) e estruturas calculadas com os métodos (A) PM3. (B) AM1 (C) DFT.

Para um estudo detalhado da geometria do DBAC varremos o espaço de configurações formado pelas conformações geométricas, construídas através da variação dos ângulos diedrais ϕ e φ (grupos laterais flexíveis benzoato e acetato). O ângulo diedral ϕ é constituído pelos átomos C1, C2, O2 e C2' e o ângulo φ pelos átomos C5, C4, O4 e C4' (Figuras 1.6 e 1.8). Para uma busca sistemática, variamos simultaneamente estes ângulos diedrais dentro do intervalo de 360 graus, em passos de 20 graus (em um total de 324 conformações). As geometrias obtidas foram então otimizadas mantendo fixos os diedrais variados.

Estes cálculos foram realizados utilizando-se o programa Chem2Pac⁷⁹. Este programa facilita o estudo sistemático de geometria permitindo uma variação simultânea de até dois diedrais flexíveis. O método PM3 foi aplicado nesta busca através do pacote computacional MOPAC⁶², integrado ao Chem2Pac.

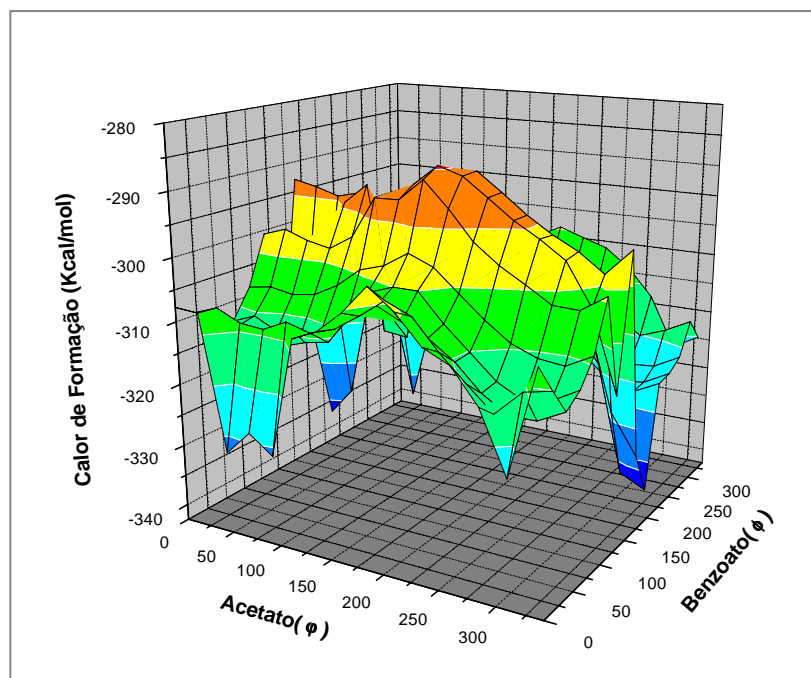
Esta é uma investigação importante uma vez que nos permite mapear a distribuição de conformações estáveis que o DBAC possui, assim como localizar seu mínimo global. Na figura 1.10 apresentamos a hiper-superfície do calor de formação (Kcal/mol), obtida para as estruturas otimizadas como função da variação simultânea dos ângulos diedrais ϕ e φ .

As porções em tons de azul indicam os vários vales rasos da superfície, regiões de mínimo local para o calor de formação e, portanto, de estruturas localmente estáveis. É importante notar que estes vales ocorrem para valores diversos do diedro do acetato, enquanto para a variação do diedro do benzoato a região correspondente ao intervalo entre 25 e 75 graus, não apresenta nenhum vale.

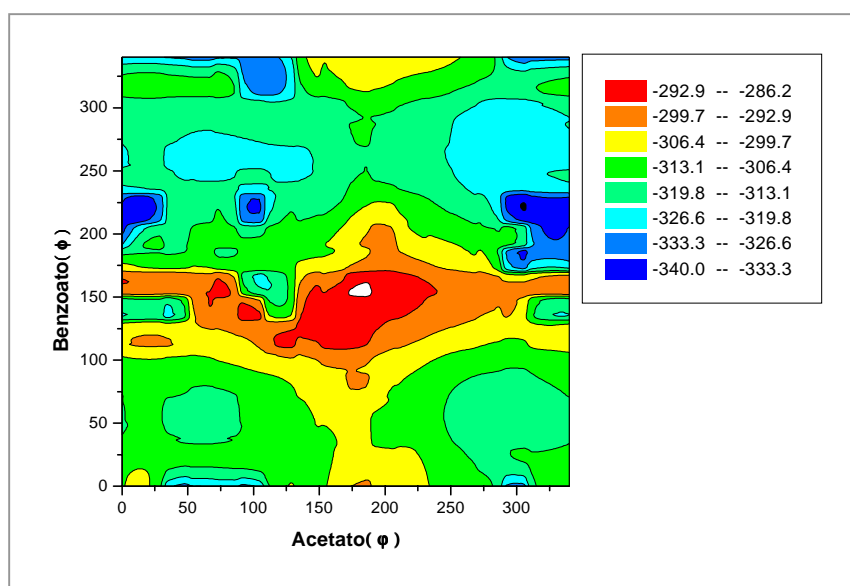
Observando as geometrias referentes a estes arranjos diedrais, verificamos um impedimento estérico para estas conformações.

A estrutura apresentada na figura 1.11, onde ϕ e φ valem 40 e 160 graus, respectivamente, exemplifica este comportamento. Para o intervalo angular de 25 a 75 graus, o átomo de oxigênio do grupo benzoato aproxima-se do carbono C20 do anel de oxetano (átomos em negrito na figura 1.11). O impedimento estérico representado pela aproximação excessiva destes átomos dificulta/impossibilita o movimento do grupo benzoato elevando o valor do calor de formação destes confórmeros.

Analisamos a distribuição de mínimos locais para molécula DBAC, verificando a probabilidade relativa de que uma conformação possa ser encontrada dentro do espaço de conformações através do cálculo da distribuição de Boltzman⁸⁰. A distribuição de Boltzman expressa a probabilidade de ocorrência de uma conformação (um estado) em função de sua energia, dada uma temperatura fixa. Isto nos permite determinar, dentro da gama de valores possíveis para os diedrais, os intervalos angulares energeticamente favoráveis dos diedrais ϕ e φ .



(A)



(B)

Figura 1.10 - Busca sistemática da conformação mais estável do DBAC. (A) Hiper-superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais ϕ e φ , passos de 20 graus. (B) Curvas de nível da superfície em (A)(Kcal/mol).

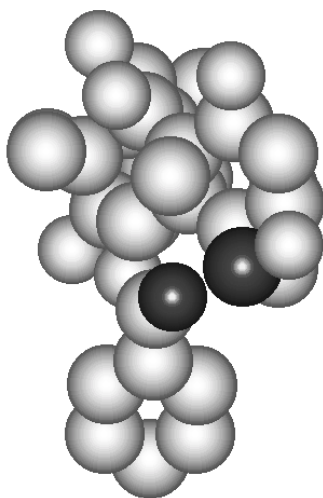


Figura 1.11 – Representação tridimensional do 10-deacetylbaccatin III (DBAC) através das esferas de Van der Waals.

As equações 1.2, 1.3 e 1.4 apresentam as expressões utilizadas para o cálculo da distribuição de Boltzman⁸⁰ (D_B).

$$D_B = \frac{f_{E_r}}{Z_c} \quad (\text{Eq. 1.2})$$

$$f_{E_r} = \frac{1}{kT} e^{-E_r/kT} \quad (\text{Eq. 1.3})$$

$$Z_c = \frac{1}{kT} \sum_r f_{E_r} \quad (\text{Eq. 1.4})$$

onde k é a constante de Boltzman (1.38×10^{-23} J/K), T a temperatura do sistema (K) e E_r a energia da conformação r . Para cada estado com energia E_r está associada uma probabilidade dada pela função de distribuição f_{E_r} . A função de partição Z_c é uma medida do número de moléculas distribuídas dentro do intervalo de energia investigado. O somatório na equação 1.4 ocorre sobre todas as conformações, no caso específico que estamos analisando, sobre as 324 conformações obtidas considerando a molécula DBAC a uma temperatura de 300K (27° C).

A tabela 1.5 apresenta as 10 conformações mais estáveis referentes à distribuição de confórmeros da figura 1.10 e a população de Boltzmann (D_B) associada a

cada uma delas. Selecionamos os mínimos locais mais prováveis (mais populados) dentre as conformações obtidas como sendo aqueles cuja soma da distribuição de Boltzman corresponda a 99% da distribuição de probabilidades. Como pode ser observado, as 5 primeiras conformações correspondem às conformações mais populadas. Estes confórmeros estão associados com uma ampla variação do ângulo φ , enquanto nenhuma mudança ocorre no ângulo ϕ .

A conformação do mínimo global de energia do DBAC foi obtida a partir da re-otimização das estruturas mais populadas sem nenhum vínculo geométrico.

Tabela 1.5 - Resultado da análise da população de Boltzmann para a distribuição de conformações apresentadas na figura 1.10.

Confórmeros	φ(graus)	ϕ(graus)	ΔE	D_B
1	300	220	0	0,43
2	340	220	0,033	0,40
3	320	220	0,863	0,10
4	20	220	1,132	0,06
5	0,0	220	2,689	$5,0 \times 10^{-3}$
6	100	220	3,899	$5,9 \times 10^{-4}$
7	0,0	200	4,444	$2,5 \times 10^{-4}$
8	320	200	5,804	$2,5 \times 10^{-5}$
9	340	200	6,562	$7,0 \times 10^{-6}$
10	300	180	6,718	$5,4 \times 10^{-6}$

Os resultados da busca conformacional mostram que embora o procedimento, muitas vezes adotado, de se tomar como guia estruturas de raios-X para otimizações moleculares em vácuo pareça suficiente para um estudo teórico, isso nem sempre é verdade. O que se obtém partindo da estrutura de raios-X pode ser apenas um mínimo local. Em nossa busca conformacional encontramos estruturas que apresentam calor de formação pelo menos 1Kcal/mol inferior ao da estrutura otimizada partindo-se dos dados de raios-X (método PM3).

Os dados geométricos da melhor estrutura obtida através da busca sistemática da conformação de menor energia do DBAC (denominado mínimo global - M.G.) estão

apresentados em conjunto com os dados das tabelas 1.1, 1.2 e 1.3. Como pode ser observado nas tabelas, existem diferenças significativas em alguns ângulos diedrais das conformações de mínimo local e global. Concluimos que para moléculas apresentando o nível de complexidade conformacional dos taxóides uma busca conformacional sistemática deve sempre ser realizada. Devido ao custo computacional que este procedimento acarreta (o que corresponderia a um período superior a dois meses de cálculos para cada composto) o uso de métodos semi-empíricos continua sendo a melhor opção para estes estudos.

Para o mínimo global e para os mínimos locais selecionados, analisamos características eletrônicas sobre regiões moleculares específicas, explorando o conceito de densidade de estados através dos parâmetros utilizados pela metodologia de índices eletrônicos.

1.2.3.2 – Análise de Propriedades Eletrônicas

Além da investigação estrutural do composto DBAC, procuramos estudar também as mudanças ocorridas na distribuição dos orbitais de fronteira [através da densidade local de estados (LDOS)] devido à variações geométricas. A análise da LDOS é uma forma prática, rápida e computacionalmente barata de se determinar a distribuição espacial dos orbitais moleculares.

A LDOS foi analisada em detalhes para os orbitais de fronteira HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital), HOMO-1, LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) e LUMO+1 sobre quatro regiões moleculares específicas: o *esqueleto molecular* formado pelos anéis A, B e C, o anel de *oxetano* (anel D) e os grupos flexíveis *acetato* e *benzoato* (Figura 1.6).

Analisamos as variações da LDOS em função das rotações dos grupos benzoato e acetato separadamente. Para esta investigação, mantivemos um destes grupos fixo (com o valor do diedral referente à conformação M.G.) enquanto o outro era variado de 0 a 360 graus, em passos de 30 graus.

Os resultados, apresentados na tabela 1.6, mostram que os orbitais de fronteira concentram-se sobre o *esqueleto molecular* e sobre o grupo *benzoato*. Nenhuma

contribuição relevante dos orbitais foi observada sobre as regiões do grupo *acetato* e do anel *oxetano*.

Tabela 1.6 – Variação na distribuição espacial dos orbitais de fronteira H (HOMO), H-1, L (LUMO) e L+1, devido à rotação dos grupos benzoato (ϕ) e acetato (φ).

Molécula	ϕ (graus)	Esqueleto	Benzoato	Molécula	φ (graus)	Esqueleto	Benzoato
1Bz	0	H, L+1	H-1, L	1Ac	0	H, L+1	H-1,L
2Bz	30	H, L	H-1, L+1	2Ac	30	H, L	H-1, L+1
3Bz	60	H, L+1	H-1, L	3Ac	60	H, L	H-1, L+1
4Bz	90	H, L	H-1, L+1	4Ac	90	H-1, L	H, L+1
5Bz	120	H, L	H-1, L+1	5Ac	120	L	H-1, H, L+1
6Bz	150	H, L+1	H-1, L	6Ac	150	L	H-1, H, L+1
7Bz	180	H	H-1, L, L+1	7Ac	180	H, L	H-1, L+1
8Bz	210	H, L+1	H-1, L	8Ac	210	H, L+1	H-1, L
9Bz	240	H, L+1	H-1, L	9Ac	240	H, L+1	H-1, L
10Bz	270	H, L+1	H-1, L	10c	270	H, L+1	H-1,L
11Bz	300	H, L+1	H-1, L	11Ac	300	H, L+1	H-1, L
12Bz	330	H, L	H-1,L	12Ac	330	H, L+1	H-1, L

A maior contribuição para a formação do orbital HOMO (H) vem dos átomos do *esqueleto molecular*, mais especificamente dos átomos dos anéis A e B. Os orbitais HOMO-1 (H-1) e LUMO (L) localizam-se na região *benzoato*, concentrados sobre o anel fenílico.

Quanto às variações geométricas, a rotação do benzoato produz uma pequena mudança na localização dos orbitais de fronteira. O orbital LUMO+1 (L+1) por sua vez é mais sensível às rotações do benzoato e acetato. Observamos um padrão para sua distribuição com relação à orientação espacial do grupo acetato. Para as configurações em que átomo de oxigênio do grupo acetato encontra-se próximo do grupo oxetano, o orbital L+1 localiza-se sobre os anéis A e B do *esqueleto molecular*, e para as demais configurações o orbital concentra-se sobre o anel fenílico do *benzoato*.

Nosso interesse particular em investigar a sensibilidade na distribuição dos orbitais de fronteira às mudanças estruturais deve-se ao fato de que o estudo do DBAC é o início de uma investigação de atividade dos taxóides baseada nestes parâmetros.

Na tabela 1.7, mostramos os resultados para grandezas eletrônicas [calor de formação (C.F.), momento de dipolo (M.D.), potencial de ionização (P.I.)], estruturais e de LDOS para as 10 principais conformações na distribuição de Boltzman. Para referência os resultados para o conformero de menor energia M.G. também estão indicados.

Os valores do calor de formação nos mostram que a barreira em energia para a rotação dos grupos acetato e benzoato, com relação à conformação M.G., é alta, já para o momento de dipolo observamos variações esperadas devido à presença de grupos altamente polares nas regiões flexíveis. O potencial de ionização por outro lado não se mostra sensível às mudanças conformacionais, apresentando variações pouco significativas (~0.2 eV). Para a localização dos orbitais de fronteira, todos os conformeros seguiram o padrão de distribuição observado para o M.G..

Estes resultados nos dão uma indicação da importância de determinadas regiões da molécula DBAC para a atividade biológica dos taxóides.

De acordo com resultados experimentais, o benzoato, acetato, oxetano e alguns grupos ligados ao esqueleto (Figura 1.5) são considerados essenciais para a atividade biológica dos taxóides. Estes grupos, com exceção do oxetano são também destacados no DBAC por nossos resultados. Isto sugere que a importância destes grupos poderia ser traçada pela estrutura eletrônica do DBAC. O anel de oxetano é reportado na literatura como sendo essencial para a atividade biológica do paclitaxel, mas nossos resultados mostram que ele não participa ativamente da formação dos orbitais de fronteira. Como citado por Wang et. al⁵⁵, enquanto alguns estudos reforçam a importância biológica das cadeias laterais para os taxóides, o papel do oxetano tem sido especulativo (vide discussão na página 17). Estudos mostram que análogos do paclitaxel sem a presença do grupo oxetano apresentam atividade biológica. Nossa análise eletrônica é consistente com estes resultados experimentais e sustenta a conclusão de que o grupo oxetano não é essencial para a atividade biológica dos taxóides.

Tabela 1.7 – Resultados PM3 para o Calor de Formação (C.F.), Momento de Dipolo (M.D.), Potencial de Ionização (P.I.) e distribuição espacial dos orbitais de fronteira para as conformações de mínimo global (M.G.) e as destacadas pela distribuição de Boltzman.

Confórmeros	C.F. (Kcal/mol)	M.D. (Debye)	P.I. (eV)	φ (graus)	ϕ (graus)	Esqueleto	Benzoato
M.G.	-345,63	5,51	9,85	299	256	H	H-1,L,L+1
1	-338,35	4,27	9,78	300	220	H	H-1,L,L+1
2	-338,32	5,51	9,93	340	220	H,L+1	H-1,L
3	-337,49	4,25	9,77	320	220	H	H-1,L,L+1
4	-337,22	5,90	9,89	20	220	H,L+1	H-1,L
5	-335,66	4,55	9,84	0	220	H,L+1	H-1,L
6	-334,45	4,46	9,89	100	220	H,L+1	H-1,L
7	-333,91	5,46	9,91	0	200	H,L+1	H-1,L
8	-332,55	4,30	9,79	320	200	H	H-1,L,L+1
9	-331,79	4,50	9,82	340	200	H,L+1	H-1,L
10	-331,63	5,18	9,86	300	180	H	H-1,L,L+1

Além da investigação da distribuição dos orbitais de fronteira para DBAC, realizamos um estudo considerando seu comportamento de excitação eletrônica.

1.2.3.3 – Análise de Propriedades Óticas

Partindo das geometrias dos 10 confórmeros mais prováveis do DBAC (vide subseção anterior) nós investigamos também seu comportamento de excitação eletrônica. Assim como para o estudo das propriedades eletrônicas, nós investigamos os efeitos da rotação dos grupos flexíveis (diedrais ϕ e φ) no comportamento dos espectros de absorção. Determinamos também, através dos coeficientes da interação de configurações (CI), a importância relativa das regiões geométricas associadas com os níveis moleculares (eletrônicos) envolvidos nas configurações dos estados de excitação.

Para obtermos uma descrição mais realista das transições eletrônicas, isto é, para simularmos o espectro de absorção do DBAC utilizamos um método desenvolvido especialmente para análises espectrais. Características como comprimentos, ângulos de ligação e ângulos diedrais, assim como calores de formação, momentos de dipolo etc., são

bem descritos pelo método PM3. Mas grandezas como energias de transições eletrônicas são superestimadas por este método, uma vez que este se baseia na aproximação ZDO (Zero Differential Overlap) desconsiderando a correlação eletrônica. O método ZINDO/S-CI (Zerner's Intermediate Neglect of Differential Overlap – Spectroscopic) foi o escolhido para a investigação espectral por apresentar uma versão calibrada especialmente para o estudo de compostos orgânicos^{81,82}.

Os espectros foram simulados, considerando as geometrias obtidas dos cálculos PM3 e utilizando um conjunto médio de 200 configurações eletrônicas (singleto/triplete). A aproximação de Mataga-Nishimoto foi utilizada para as integrais gama com os fatores de interação⁸² já usuais de 1,267 e 0,585. Os erros médios cometidos pelo método ZINDO são de apenas 1.000-2.000 cm⁻¹ (~0,1-0,2 eV) para todas as bandas abaixo de 45.000 cm⁻¹. Os espectros de absorção gerados através destes cálculos são plotados usando-se um envelope Lorentziano (largura média de 0,03 eV) para as energias de transição cujos pesos são dados pelos valores da força de oscilador⁸³.

O cálculo de espectros utilizando-se o método ZINDO para geometrias obtidas através de cálculos PM3 tem apresentado resultados de qualidade em estudos de moléculas orgânicas^{66,67,83,84}.

Na tabela 1.8, referente à figura 1.12 resumizamos os resultados obtidos para a simulação de absorção na região de energia das frequências Ultra Violeta (UV).

Os estados eletrônicos que mais contribuem para a formação das configurações correspondentes ao limiar de absorção e à absorção mais forte estão apresentados na tabela 1.8. A notação [**A**→**B**] utilizada na tabela indica que uma configuração foi gerada retirando-se um elétron do orbital molecular **A** e colocando-o no orbital molecular **B**.

Tabela 1.8 - Energia, força de oscilador e principais contribuições para o limiar de absorção (primeira transição) e pico máximo (máxima absorção) para espectros simulados pelo método Zindo. A notação [A→B] utilizada indica uma configuração gerada pela excitação de um elétron do orbital molecular A para o orbital molecular B.

Confórmeros	Limiar de absorção (eV) / cm ⁻¹	Força de Oscilador (a.u.)	Principais contribuições	Absorção máxima (eV) / cm ⁻¹	Força de Oscilador (a.u.)	Principais contribuições
M.G.	3,44/ 27.748,9	0,0013	0,829[H-3→L+3]-0,456[H-3→L+5]- 0,196[H→L+3] + 0,101[H→L+5]	6,94/ 55.932,8	0,7309	0,555[H-2→L+4]+0,452[H-1→L+2]+ 0,339[H-1→L+9]+0,330[H-1→L+4]
1	3,48/ 28.064,7	0,0020	0,621[H-3→L+2]-0,565[H-3→L+1]+ 0,388[H-3→L+5]-0,207[H→L+2]	6,81/ 54.942,3	1,0197	-0,509[H-1→L]+0,715[H-2→L+3]- 0,248[H-4→L]+0,215[H-1→L+4]
2	3,48/ 28.043,3	0,0018	-0,559[H-3→L+1]-0,494[H-4→L+1]- 0,315[H-3→L+5]-0,280[H-4→L+5]	6,88/ 55.485,5	0,8459	0,531[H-1→L+3]+0,519[H-2→L+4]- 0,358[H-1→L+9]-0,315[H-2→L]
3	3,48/ 28088,7	0,0020	0,654[H-3→L+2]-0,535[H-3→L+1]+ 0,391[H-3→L+5]+0,223[H→L+2]	6,83/ 55.085,2	0,9592	0,649[H-2→L+3]+0,406[H-1→L+4]- 0,379[H-1→L]-0,221[H-4→L]
4	3,44/ 27.713,1	0,0007	0,608[H-3→L+2]+0,414[H-4→L+2]- 0,413[H-3→L+5]-0,283[H-4→L+5]	6,91/ 55.745,1	0,5816	-0,494[H-1→L+9]+0,491[H-2→L+4]- 0,410[H-1→L+3]+0,300[H-2→L+3]
5	3,46/ 27.906,7	0,0016	0,779[H-4→L+1]-0,388[H-4→L+5]- 0,291[H-3→L+1]-0,281[H→L+1]	6,86/ 55.296,0	0,8560	-0,596[H-2→L+3]-0,476[H-1→L+4]- 0,328[H-1→L]-0,269[H-5→L]
6	3,40/ 27.422,8	0,0010	0,794[H-4→L+1]+0,369[H→L+1]+ 0,364[H-3→L+2]+0,214[H-4→L+4]	6,86/ 55.296,0	0,8560	-0,596[H-2→L+3]-0,476[H-1→L+4]- 0,328[H-1→L]-0,269[H-5→L]
7	3,46/ 27.875,2	0,0015	0,719[H-4→L+1]+0,382[H-4→L+5]- 0,283[H-3→L+1]-0,292[H-4→L]	6,84/ 55.196,3	1,0404	0,663[H-1→L+3]-0,494[H-2→L]- 0,443[H-2→L+4]-0,187[H-2→L+1]
8	3,48/ 28.031,0	0,0016	0,660[H-3→L+1]+0,525[H-3→L+2]+ 0,390[H-3→L+5]-0,229[H→L+1]	6,82/ 55.005,3	0,8554	-0,643[H-2→L+3]-0,367[H-1→L]+ 0,396[H-1→L+4]-0,286[H-4→L]
9	3,47/ 28.009,3	0,0005	0,633[H-3→L+1]-0,466[H-3→L+5]+ 0,414[H-3→L+2]+0,218[H-4→L+1]	6,81/ 54.937,4	0,9491	0,696[H-2→L+3]-0,442[H-1→L]- 0,331[H-1→L+4]-0,281[H-5→L]
10	3,47/ 28.018,6	0,0014	0,621[H-3→L+1]-0,503[H-3→L+2]+ 0,392[H-3→L+5]+0,233[H→L+2]	6,88/ 55.500,7	0,9494	-0,606[H-2→L+4]-0,576[H-1→L+3]+ 0,306[H-2→L]+0,244[H-2→L+3]

Observamos que as principais características para o comportamento de absorção [valores do limiar de absorção e absorção máxima (em energia)] não apresentam grande sensibilidade às rotações dos grupos flexíveis do DBAC, mantendo-se próximos de 3,4 e 6,9 eV, respectivamente.

As contribuições para as CI, por outro lado, são mais sensíveis às mudanças conformacionais. A análise das contribuições para a formação dos estados CI nos dá uma informação dinâmica (de excitação) complementar na investigação dos resultados da LDOS. Através dos coeficientes dos estados CI podemos identificar os orbitais moleculares que estarão possivelmente envolvidos em uma transição eletrônica específica. Observando a distribuição espacial destes orbitais (que pode ser obtida dos cálculos LDOS) é possível identificar a(s) região(ões) molecular(es) envolvida(s) nessa transição. Esta informação pode ser utilizada como guia para modificações estruturais realizadas na intenção de modular uma transição ótica.

As configurações predominantes para o limiar de absorção são formadas em sua maioria da transição envolvendo elétrons retirados dos orbitais **H-4**, **H-3** e **H** e colocados nos orbitais **L+1** e **L+5**. Para o pico de absorção máxima, as principais contribuições são de elétrons retirados dos orbitais **H-1** e **H-2** e colocados nos orbitais **L** e **L+4**.

O que podemos extrair destes dados é que a primeira transição eletrônica envolve os elétrons da região do esqueleto central, enquanto a transição de absorção máxima envolve os elétrons do grupo benzoato.

A partir de nossa simulação do espectro de absorção, a primeira absorção significativa e a absorção máxima ocorrem próximas de 5,2 eV e 6,8 eV respectivamente (visíveis nos gráficos - Figura 1.12). Estes resultados são comparáveis com os valores 5,2 eV (230nm) e 6,5eV (285nm) observados experimentalmente^{34,85,86}.

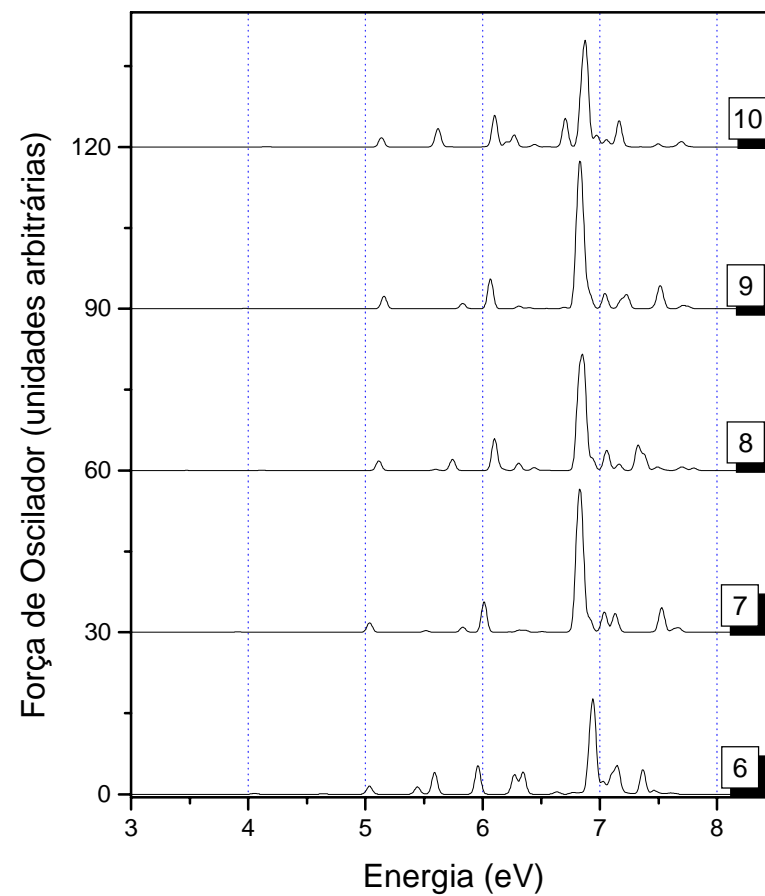
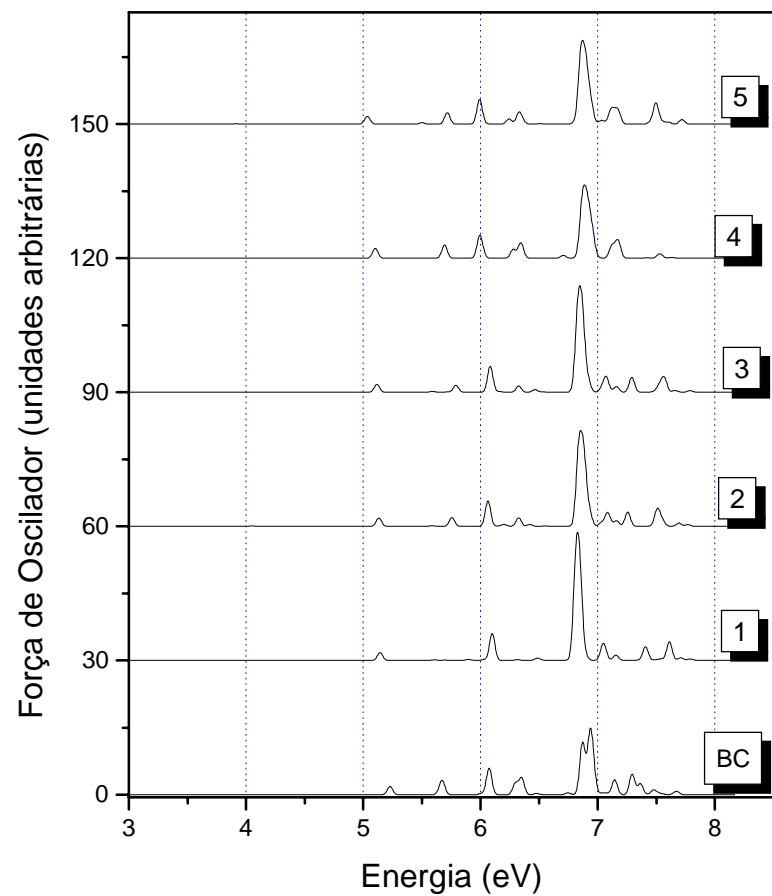


Figura 1.12 – Espectros de absorção de energia na faixa de UV para os conformeros destacados pela distribuição de Boltzman (Tabela 1.5) e para o mínimo global (M.G.).

Os resultados encontrados para este estudo preliminar dos taxóides, utilizando índices eletrônicos e óticos, são uma boa indicação da aplicabilidade destes parâmetros como descritores capazes de mapear as regiões moleculares de importância biológica.

Estes resultados nos encorajaram a estender o estudo, aumentando a complexidade de nossas investigações, na direção da análise da atividade biológica dos taxóides através de índices eletrônicos.

1.3 - Taxóides Estudados

1.3.1 – Introdução

A literatura apresenta atualmente muitos derivados e análogos do paclitaxel experimentalmente investigados quanto à sua potencialidade para o tratamento quimioterápico contra o câncer.

Neste trabalho estudamos um conjunto de 20 taxóides⁸⁷ (Figura 1.13, Tabela 1.9) com atividade antimitótica medida pelo índice *in vitro* ID₅₀. As moléculas paclitaxel e docetaxel fazem parte deste grupo (como TX3-A e TT1-A respectivamente) e são também as matrizes para a formação das demais 18 moléculas.

Estruturalmente, as moléculas paclitaxel e docetaxel diferem entre si pela presença de um grupo acetato ligado ao carbono C-10 do esqueleto molecular dos taxóides e de um grupo benzoato como substituinte na posição N-3' da cadeia lateral. Nós denominamos as moléculas estudadas como TX (derivados do paclitaxel ou Taxol®)/TT (derivados do docetaxel ou Taxotere®) considerando a presença/ausência do substituinte acetato na posição C-10.

Os 20 compostos investigados são estruturalmente muito parecidos, alguns diferindo entre si apenas pela estereoquímica (*S* ou *R*) de grupos ligados à cadeia lateral C13. Estes compostos constituem um subconjunto das moléculas investigadas por Guéritte-Voegelein et al.⁸⁷ e foram selecionados respeitando os seguintes critérios:

- Deveriam apresentar um 'caroço' comum (o esqueleto taxano composto dos anéis A, B, C, D e seus grupos laterais, excluindo a cadeia lateral ligada ao C13).
- Deveriam conter como substituintes na cadeia lateral ligada ao C13 apenas os grupos -OH, -NHCO₂tBu, -NHCOPh, que estão presentes no paclitaxel e docetaxel (que forma a base da família dos taxóides).

Os compostos foram divididos em dois subgrupos de acordo com sua atividade biológica: o subgrupo das moléculas ativas e o subgrupo das moléculas inativas. O subgrupo ativo, contendo taxóides com um alto grau de atividade antimetabólica, é composto pelas moléculas apresentando o índice $ID_{50}/ID_{50}(\text{paclitaxel}) < 10$ (μM). O subgrupo inativo, contendo taxóides com atividade antimetabólica baixa, é composto pelas moléculas para as quais $ID_{50}/ID_{50}(\text{paclitaxel}) \geq 10$ (μM).

O índice biológico *in vitro* ID_{50} , medida da potência antimetabólica dos fármacos, indica a dose da droga necessária para diminuir em 50% a reprodução das células cancerígenas. Adotamos nesta investigação o índice normalizado pela potência antimetabólica do paclitaxel. De acordo com a definição deste índice, quando menor o valor de ID_{50} mais ativo o composto.

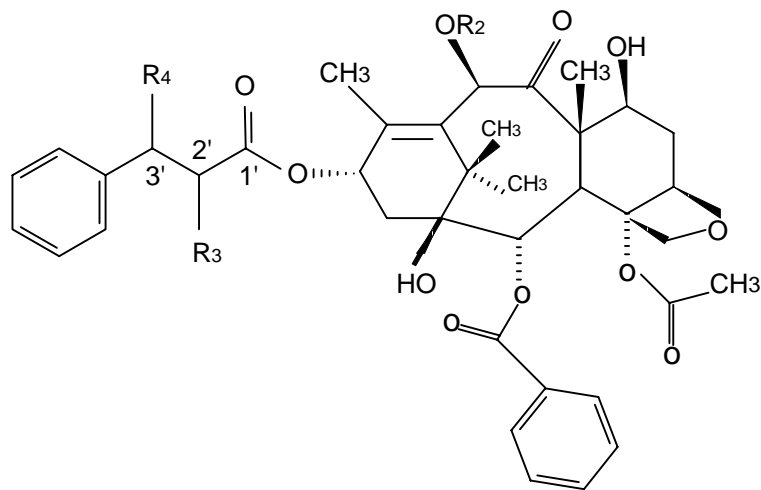


Figure 1.13 –Estrutura dos taxóides estudados. Os radicais (R_n) e a estereoquímica dos carbonos da cadeia lateral estão indicados na tabela 1.9.

Tabela 1.9 – Os 20 taxóides investigados. Os índices A, B, C e D representam compostos com estereoquímica distinta. A atividade qualitativa (A.Q.) dos taxóides está apresentada como A (ativa) e I (inativa).

Moléculas	R₂	R₃	R₄	ID₅₀/ID₅₀(paclitaxel)	A.Q.
TX1-A (2'R, 3'S)	COCH ₃	OH	NHCO ₂ tBu	0,5	A
TX1-B (2'S, 3'R)	COCH ₃	OH	NHCO ₂ tBu	30	I
TX2-A (2'R, 3'S)	COCH ₃	NHCO ₂ tBu	OH	10	I
TX2-B (2'S, 3'R)	COCH ₃	NHCO ₂ tBu	OH	108	I
TX3-A (2'R, 3'S)	COCH ₃	OH	NHCOPh	1	A
TX3-B (2'S, 3'R)	COCH ₃	OH	NHCOPh	4,5	A
TX4-A (2'R, 3'S)	COCH ₃	NHCOPh	OH	10	I
TX4-B (2'S, 3'R)	COCH ₃	NHCOPh	OH	110	I
TT1-A (2'R, 3'S)	H	OH	NHCO ₂ tBu	0,5	A
TT1-B (2'S, 3'R)	H	OH	NHCO ₂ tBu	30	I
TT1-C (2'R, 3'R)	H	OH	NHCO ₂ tBu	1,8	A
TT1-D (2'S, 3'S)	H	OH	NHCO ₂ tBu	4,3	A
TT2-A (2'R, 3'S)	H	NHCO ₂ tBu	OH	10	I
TT2-B (2'S, 3'R)	H	NHCO ₂ tBu	OH	160	I
TT3-A (2'R, 3'S)	H	OH	NHCOPh	1,3	A
TT3-B (2'S, 3'R)	H	OH	NHCOPh	4	A
TT3-C (2'R, 3'R)	H	OH	NHCOPh	1,3	A
TT3-D (2'S, 3'S)	H	OH	NHCOPh	1,3	A
TT4-A (2'R, 3'S)	H	NHCOPh	OH	10	I
TT4-B (2'S, 3'R)	H	NHCOPh	OH	170	I

1.3.2 - Metodologia e Resultados

1.3.2.1 - Análise Conformacional

Iniciamos nossa investigação com a realização de uma busca geométrica pela conformação de menor energia de cada um dos 20 compostos estudados. A otimização de geometria foi realizada considerando, inicialmente, as moléculas em um ambiente de vácuo. Assumimos em nosso estudo que a conformação de menor energia em vácuo é a

fonte primária de informações teóricas, para uma investigação de correlação com a atividade biológica dos taxóides.

Cada taxóide foi construído partindo-se da estrutura previamente otimizada para o DBAC (resultado da seção 1.2.3.1). Uma vez consideradas as cadeias laterais referentes a cada um dos compostos, uma nova otimização geométrica foi realizada para cada um dos compostos. Analisamos as conformações possíveis para todas as cadeias variando seus diedrais flexíveis e analisamos então a estabilidade do conjunto de geometrias obtido. A partir da localização da conformação de energia mínima, iniciamos a obtenção dos descritores quânticos necessários para a exploração teórica de estrutura-atividade dos taxóides.

O número de compostos estudados associado ao tamanho e flexibilidade conformacional dos taxóides (possuindo um grande número de conformações com energias muito próximas) tornaram a otimização de geometria dos mesmos um processo computacionalmente complexo e caro. Como no caso do estudo da molécula DBAC a utilização de métodos *ab initio* sofisticados é inviável.

A importância e necessidade de realizarmos buscas conformacionais detalhadas para os taxóides foi evidenciada e reforçada pelos resultados obtidos para a otimização do DBAC⁵⁷ através do estudo comparativo dos métodos semiempíricos AM1 (Austin Method One)⁵⁹, PM3 (Parametric Method 3)⁶⁰⁻⁶² e DFT (Density Functional Theory)⁷⁶. Os cálculos DFT reportados utilizaram dados de raios-X para gerar modelos estruturais tentativos. Os resultados PM3 não só reproduziram muito bem os resultados DFT, como também indicaram que a estrutura obtida por DFT é na verdade um mínimo local. Estes resultados mostram que a otimização geométrica baseada unicamente em dados raios-X pode levar a mínimos locais, e que a forma mais segura de se localizar o mínimo global é através de buscas conformacionais. Para o caso dos taxóides, a busca conformacional é indispensável.

Para cada um dos compostos, consideramos a flexibilidade da cadeia lateral ligada ao C13 através da rotação dos ângulos diedrais α e β , definidos pelos átomos C3', C2', C1' e O13 e C2', C1', O13 e C13, respectivamente (Figura 1.14).

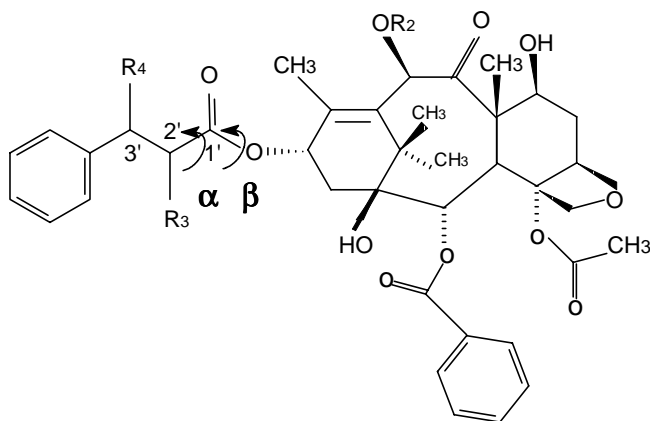


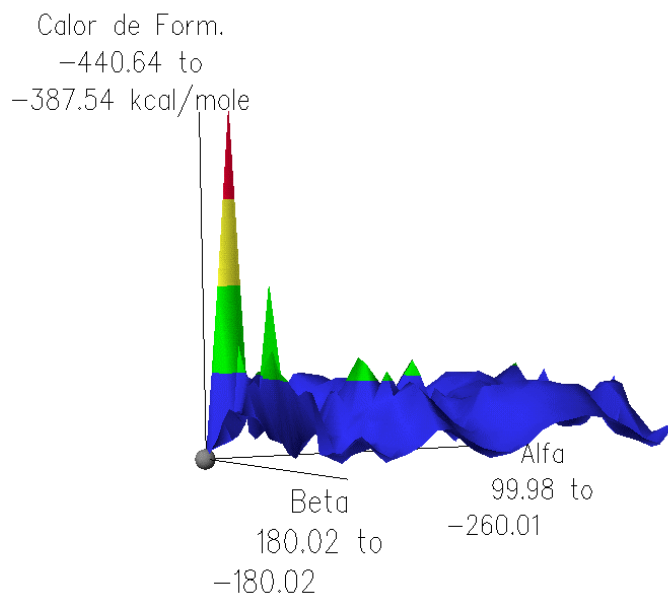
Figura 1.14 – Ângulos diedrais responsáveis pela flexibilidade da cadeia lateral fenilisoerina dos taxóides.

Os diedrais foram girados simultaneamente em passos de 15 graus, varrendo toda a liberdade das ligações, em um total de 576 conformações obtidas para cada uma das 20 moléculas. Este cálculo foi realizado com o método PM3 e com o auxílio dos programas Chem2pac, Spartan e CAChe⁸⁸. A curva de calor de formação obtida, apresentando um grande número de mínimos locais, confirma a complexidade desta investigação.

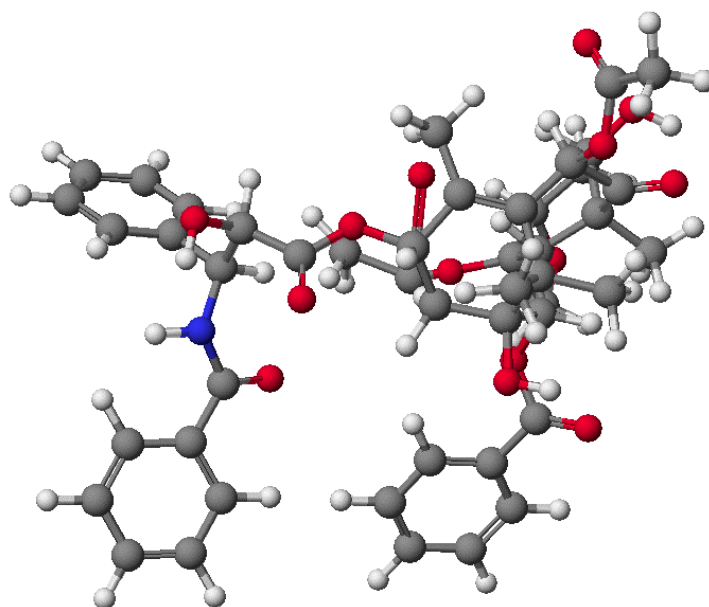
Nas figuras 1.15 e 1.16 estão apresentadas as curvas de calor de formação e geometrias mais estáveis obtidas para a busca conformacional dos compostos TX3-A e TT1-A.

Os resultados abaixo foram obtidos considerando um sistema gasoso. A localização do mínimo global dentro do espaço de conformações está indicada por uma pequena esfera.

Os mínimos globais, resultados da busca conformacional para TX3-A e TT1-A, foram comparados com dados de raios-X. Para análise da molécula de TT1-A consideramos os dados de raios-X do docetaxel³⁸, enquanto para a molécula TX3-A o resultado teórico foi comparado com dados de raios-X obtidos para duas conformações do paclitaxel, denominadas A e B³⁹.

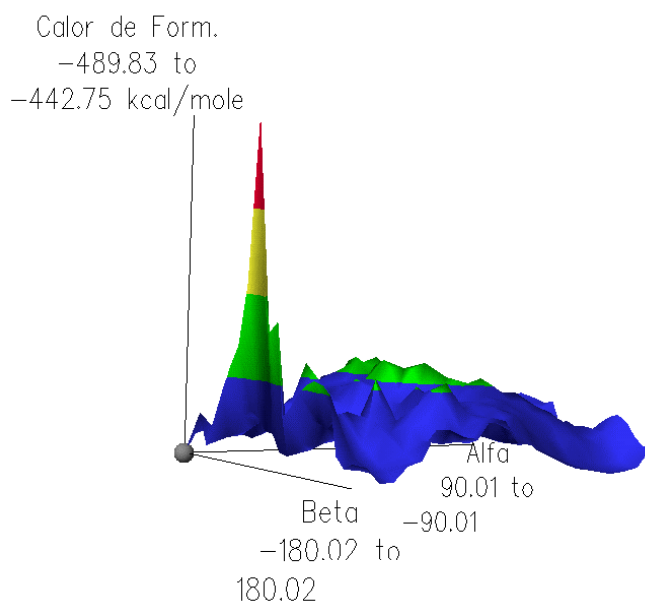


(A)

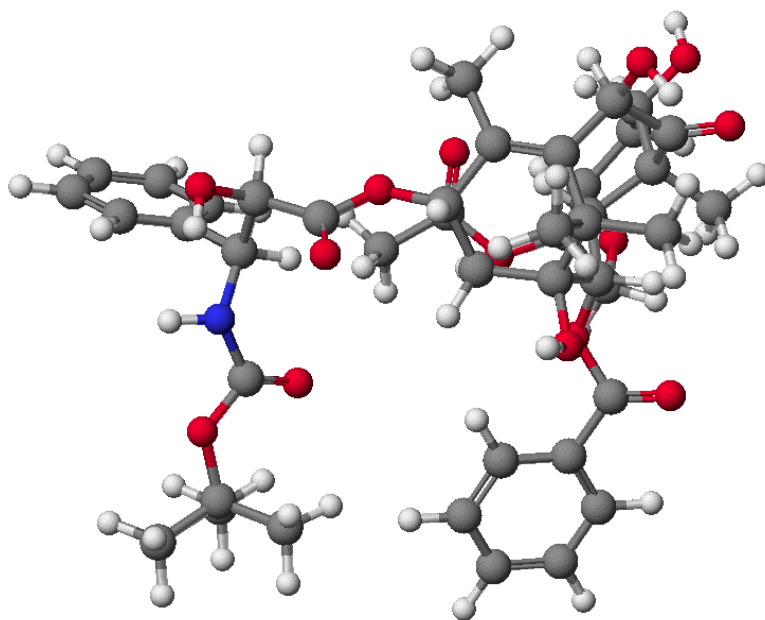


(B)

Figura 1.15 - Busca sistemática da conformação mais estável do composto TX3-A no vácuo. (A) Hiper-superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais α e β em passos de 15 graus. (B) Conformação geométrica do mínimo global.



(A)



(B)

Figura 1.16 - Busca sistemática da conformação mais estável do composto TT1-A no vácuo. (A) Hiper-superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais α e β em passos de 15 graus. (B) Conformação geométrica do mínimo global.

Na interpretação destes dados é importante considerar que as análises experimentais de RMN com diferentes solventes mostram grandes mudanças na geometria da cadeia lateral dos taxóides^{42,45-47}, e propõem que as variações observadas estão associadas à polaridade dos solventes utilizados. Estes resultados indicam que os taxóides devem adotar uma conformação chamada de “apolar” quando na presença de solventes não polares, e outra conformação denominada “colapso hidrofóbico” quando na presença de soluções aquosas. O melhor exemplo para a conformação apolar é dado pela geometria de raios-X do docetaxel, apresentando ligações de hidrogênio seqüenciais entre o C1'-carbonila, C2'-hidroxila e C3'-NH dentro da cadeia lateral, assim como interações entre o grupo benzoato do caroço molecular e o *tert*-butila da cadeia lateral. Já a conformação de “colapso hidrofóbico” é caracterizada pela interação entre os grupos benzoato e acetato do caroço molecular com o grupo C3'-fenila da cadeia lateral. Esta conformação é a adotada pela estrutura B do paclitaxel obtida por raios-X.

Ao mesmo tempo, devemos considerar nos resultados experimentais o peso dos efeitos de empacotamento nos cristais do paclitaxel, principalmente devido às interações π - π entre os vários anéis benzênicos dos grupos flexíveis. As estruturas de raios-X do paclitaxel reportadas por Mastropaolo et. al. (estruturas A e B)³⁹ foram encontradas dentro do mesmo cristal. Estas duas estruturas apresentam cadeias laterais estendidas (alongadas) e diferem entre si, principalmente, na torção dos grupos ligantes ao redor da ligação C1'-C2' (diferença da ordem de 50 graus). Enquanto a estrutura chamada B muito se assemelha a configuração “colapso hidrofóbico”, a estrutura A não se encaixa em nenhuma das conformações já observadas nos estudos da geometria dos taxóides.

Os dados experimentais obtidos para os taxóides indicam, por outro lado, que o caroço central do esqueleto molecular (formado pelos anéis A, B e C comuns a todos) não apresenta variações significativas entre os vários compostos já investigados^{39-41,77,78}. Nossos resultados concordam com esta proposição, uma vez que as grandes mudanças observadas para os dados teóricos localizam-se na cadeia lateral fenilisoserina.

Nas tabelas 1.10 e 1.11 apresentamos os valores otimizados dos principais diedrais da cadeia lateral de TX3-A e TT1-A comparados com os dados experimentais.

Para a molécula TT1-A observamos pequenas diferenças entre os dados calculados e os de raios-X, sendo que as principais são observadas para os diedrais C2'-C3'-N4'-C5',

C3'-N4'-C5'-O6' e C31'-C3'-N4'-C5' (diferenças de 20,46; 22,66 e 21,49 graus, respectivamente). O desvio quadrático médio (DQM – Equação 1.1) entre dados teóricos e de raios-X calculado para o conjunto de diedrais da cadeia lateral é de 12,13 graus.

A geometria teórica para a molécula TX3-A em vácuo apresenta grandes distorções quando comparada com os dados de raios-X, com diferenças superiores a 100 graus para alguns diedrais das estruturas paclitaxel A e B.

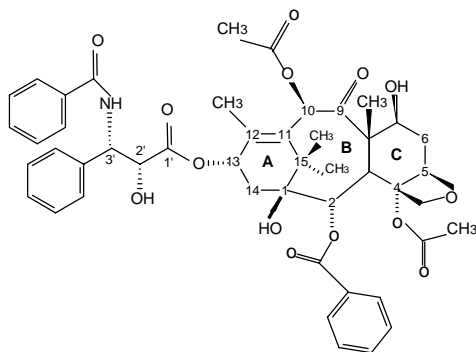
Diante destas diferenças entre os valores teóricos e experimentais para o TX3-A consideramos importante comprovar a influência de um meio polar na geometria teórica deste composto. Para tal realizamos uma nova busca sistemática para TX3-A, variando os diedrais α e β como no caso da otimização em vácuo, mas considerando agora a molécula na presença de água. O meio aquoso foi simulado através da constante dielétrica da água ($\epsilon=80$), utilizando as aproximações desenvolvidas no método COSMO (*Conductor-like Screening Model*)^{89,90} implementado no pacote Mopac2000, disponível no programa CAChe.

O método COSMO para modelagem de efeito de solventes calcula a energia dielétrica do solvente através do método das imagens eletrostáticas. Para tal assume um meio condutor contínuo com correções feitas para um sistema dielétrico, o que é uma ótima aproximação para cálculos com a água como solvente.

A curva de calor de formação e o mínimo global obtidos para esta nova busca estão apresentados na figura 1.17. O novo mínimo apresenta grande semelhança com as conformações de raios-X, com a cadeia lateral mais alongada e apresentando interações entre os grupos da cadeia lateral e do carço molecular semelhantes às da configuração B do paclitaxel. Os valores para os diedrais desta nova conformação são comparados com os dados de raios-X na tabela 1.12.

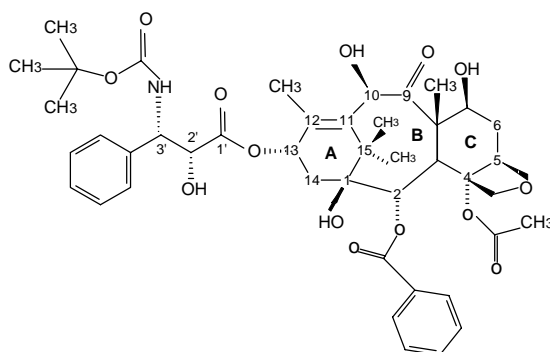
Observamos uma ótima concordância entre os valores teóricos e os referentes à conformação B, com um DQM de 13,07 graus entre as duas geometrias.

Tabela 1.10- Principais diedrais da cadeia lateral da TT1-A otimizados em vácuo com métodoPM3 e comparados com dados de raios-X para docetaxel. $|\Delta|$ indica o módulo da diferença entre os valores teórico e experimental.

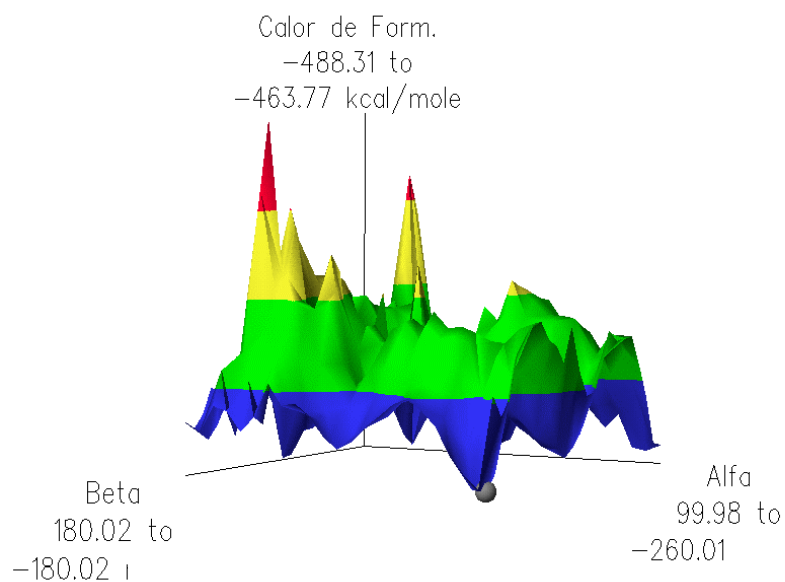


Ângulos Diedrais (Graus)			
Átomos	Raios-X	Vácuo PM3	$ \Delta $
C1'-O13-C13-C12	-147,72	-147,57	0,15
C1'-O13-C13-C14	91,94	91,87	0,07
C13-O13-C1'-O1'	-1,79	-7,03	5,24
C13-O13-C1'-C2'	179,14	172,29	6,85
O13-C1'-C2'-O2'	-140,9	-145,35	4,45
O13-C1'-C2'-C3'	95,44	86,95	8,49
C1'-C2'-C3'-C31'	-173,77	-162,75	11,02
C1'-C2'-C3'-N4'	61,86	73,23	11,37
O1'-C1'-C2'-O2'	40,11	33,93	6,18
O1'-C1'-C2'-C3'	-83,55	-93,77	10,22
C2'-C3'-N4'-C5'	-105,78	-126,24	20,46
C2'-C3'-C31'-C32'	-85,17	-67,36	17,81
O2'-C2'-C3'-N4'	-57,25	-52,07	5,18
O2'-C2'-C3'-C31'	67,13	71,94	4,81
C3'-N4'-C5'-O5'	-12,59	15,51	28,1
C3'-N4'-C5'-O6'	170,37	193,03	22,66
N4'-C5'-O6'-C7	-175,86	-174,97	0,89
C5'-O6'-C7'-C71'	177,37	177,65	0,28
C5'-O6'-C7'-C72'	-65,21	-65,03	0,18
C5'-O6'-C7'-C73'	60,01	60,14	0,13
O5'-C5'-O6'-C7'	7,13	2,54	4,59
C31'-C3'-N4'-C5'	131,6	110,11	21,49
C32'-C31'-C3'-N4'	40,72	56,6	15,88

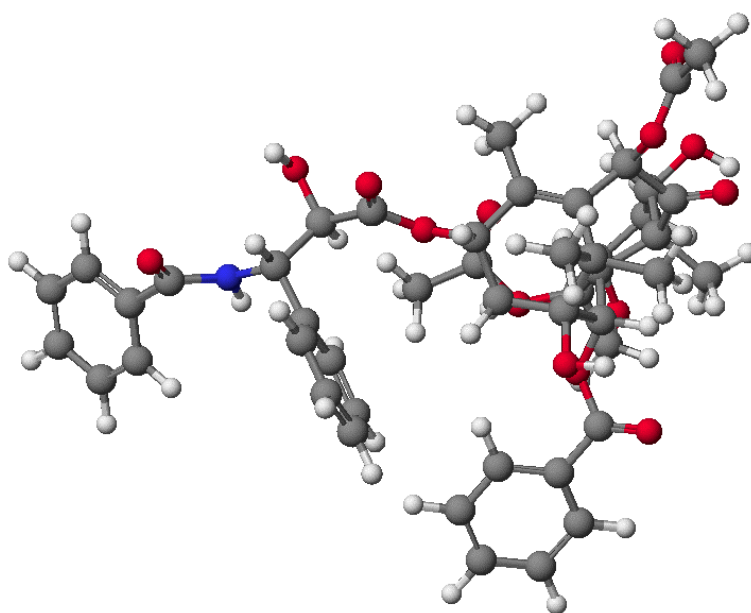
Tabela 1.11- Principais diedrais da cadeia lateral da TX3-A otimizados em vácuo com método PM3 e comparados com dados de raios-X para paclitaxel . $|\Delta|$ indica o módulo da diferença entre os valores teórico e experimental.



Ângulos Diedrais (Graus)					
Átomos	Vácuo PM3	Raios-X Paclitaxel A	$ \Delta $	Raios-X Paclitaxel B	$ \Delta $
C1'-O13-C13-C12	-158,38	-92,14	66,24	-100,85	57,53
C1'-O13-C13-C14	80,94	145,29	64,35	138,67	57,73
C13-O13-C1'-O1'	2,83	2,33	-0,5	3,62	0,79
C13-O13-C1'-C2'	179,98	179,76	-0,22	-176,85	3,17
O13-C1'-C2'-O2'	-133	-84,16	48,84	-138,45	5,45
O13-C1'-C2'-C3'	99,99	158,58	58,59	103,16	3,17
C1'-C2'-C3'-C31'	-169,44	-64,11	105,33	-57,75	111,69
C1'-C2'-C3'-N4'	65,12	176	110,88	178,57	113,45
O1'-C1'-C2'-O2'	43,97	93,34	49,37	41,05	2,92
O1'-C1'-C2'-C3'	-83,04	-23,92	59,12	-77,31	5,73
C2'-C3'-N4'-C5'	-132,7	-117,84	14,86	-155,19	22,49
C2'-C3'-C31'-C32'	106,24	166,58	60,34	102,37	3,87
O2'-C2'-C3'-N4'	-59,28	60,42	119,7	61,05	120,33
O2'-C2'-C3'-C31'	-293,84	-179,69	114,15	-175,28	118,56
C3'-N4'-C5'-O5'	19,72	1,27	-18,45	-0,92	20,64
C3'-N4'-C5'-C51'	-164,14	-177,58	-13,44	-178,36	14,22
C31'-C3'-N4'-C5'	102,87	119,62	16,75	82,93	19,94
C32'-C31'-C3'-N4'	51,64	-73,52	-125,16	-137,36	189



(A)



(B)

Figura 1.17- Busca sistemática da conformação mais estável do composto TT1-A na água. (A) Superfície do Calor de Formação (Kcal/mol) como uma função da variação dos ângulos diedrais α e β a passos de 15 graus. (B) Conformação geométrica do mínimo global.

Tabela 1.12- Principais diedrais da cadeia lateral da TX3-, otimizados na água com método PM3 e comparados com dados de raios-X para paclitaxel . $|\Delta|$ indica o módulo da diferença entre os valores teórico e experimental.

Ângulos Diedrais (Graus)					
Átomos	Água PM3	Raios-X Paclitaxel A	Δ	Raios-X Paclitaxel B	Δ
C1'-O13-C13-C12	-109,03	-92,14	16,89	-100,85	8,18
C1'-O13-C13-C14	130,99	145,29	14,3	138,67	7,68
C13-O13-C1'-O1'	17,75	2,33	15,42	3,62	14,13
C13-O13-C1'-C2'	-163,64	179,76	16,6	-176,85	13,21
O13-C1'-C2'-O2'	-119,11	-84,16	34,95	-138,45	19,34
O13-C1'-C2'-C3'	116,35	158,58	42,23	103,16	13,19
C1'-C2'-C3'-C31'	-56,18	-64,11	7,93	-57,75	1,57
C1'-C2'-C3'-N4'	181,78	176	5,78	178,57	3,21
O1'-C1'-C2'-O2'	59,39	93,34	33,95	41,05	18,34
O1'-C1'-C2'-C3'	-65,14	-23,92	41,22	-77,31	12,17
C2'-C3'-N4'-C5'	-138,64	-117,84	20,8	-155,19	16,55
C2'-C3'-C31'-C32'	119,81	166,58	46,77	102,37	17,44
O2'-C2'-C3'-N4'	59,33	60,42	1,09	61,05	1,72
O2'-C2'-C3'-C31'	-178,63	-179,69	1,06	-175,28	3,35
C3'-N4'-C5'-O5'	15,65	1,27	14,38	-0,92	16,57
C3'-N4'-C5'-C51'	-168,21	-177,58	9,37	-178,36	10,15
C31'-C3'-N4'-C5'	98,33	119,62	21,29	82,93	15,4
C32'-C31'-C3'-N4'	-119,49	-73,52	45,97	-137,36	17,87

Este novo resultado poderia gerar uma dúvida sobre qual meio (água ou vácuo) deveria ser considerado na obtenção da melhor geometria para a investigação teórica de atividade biológica. Apesar de o senso comum nos levar a acreditar que a conformação com a qual o paclitaxel se liga a tubulina (conformação biologicamente ativa) deva estar muito próxima daquela de menor energia em um meio aquoso, resultados experimentais mostram o contrário. Através de análises de densidade cristalográfica de elétrons^{48,49}, a conformação do estado ligado do paclitaxel foi obtida como sendo muito semelhante à conformação de menor energia aqui obtida para a otimização do paclitaxel (TX3-A) em vácuo.

A análise de densidade cristalográfica consiste em localizar a conformação de um fármaco que melhor se encaixe sobre o mapeamento de densidade eletrônica do complexo proteína-fármaco cristalizado. Para o complexo tubulina-taxol a conformação selecionada por este estudo foi denominada “T-shape” ou “borboleta”, e assemelha-se à conformação

obtida para o raio-X do docetaxel. Esta conformação é muito semelhante à proposta por Milanésio *et. al*⁴⁴, em seu estudo *ab initio* da cadeia lateral do taxol em vácuo e é muito bem descrita por nossos resultados semiempíricos (também em vácuo).

Este resultado reforça nossa hipótese de que a conformação de menor energia obtida para um composto em vácuo é o primeiro e o melhor candidato para análise em estudos teóricos de correlação com a atividade biológica.

Uma vez obtidas as geometrias de mínimo global das 20 moléculas em vácuo nos empenhamos em obter as propriedades eletrônicas, físico-químicas e estereoquímicas associadas à cada taxóide e correlacioná-las com a atividade biológica dos compostos.

1.3.2.2 - Investigação da Atividade Biológica dos Taxóides Através da Metodologia de Índices Eletrônicos – MIE

Iniciamos nossa investigação da correlação entre descritores teóricos e a atividade biológica dos taxóides através da metodologia de índices eletrônicos (MIE).

Como apresentado em detalhes no apêndice A, o objetivo da MIE é separar moléculas ativas e inativas (com relação a uma atividade biológica específica) utilizando apenas os dois parâmetros eletrônicos, Δ e η . Δ fornece uma informação global da molécula através da diferença de energia entre dois estados de fronteira vizinhos, e η uma informação local através da medida da diferença na contribuição dos átomos de uma região molecular específica para a formação de dois estados de fronteira vizinhos. A MIE relaciona a atividade biológica com propriedades eletrônicas através de regras Booleanas simples baseadas em valores críticos destes parâmetros.

Como no estudo da MIE a divisão das moléculas em regiões é essencial, o esqueleto molecular dos taxóides foi dividido em 5 regiões comuns aos 20 estudados (Figura 1.18). Esta separação foi baseada no mapeamento experimental das regiões correlacionadas com a atividade dos taxóides (Figura 1.5):

1. o anel oxetano (*oxet* - em amarelo).
2. o caroço do esqueleto molecular composto pelos anéis A, B e C (*core* - em vermelho).

- o substituinte benzoila(-C2) do caroço molecular (*C2bez* – em azul escuro).
- o substituinte fenila(-C3') da cadeia lateral (*C3'ph* – em azul claro).
- o esqueleto da cadeia lateral fenilisoserina composto pelos átomos C1', C2', C3' e pelos oxigênios ligados (*chain* – em preto).

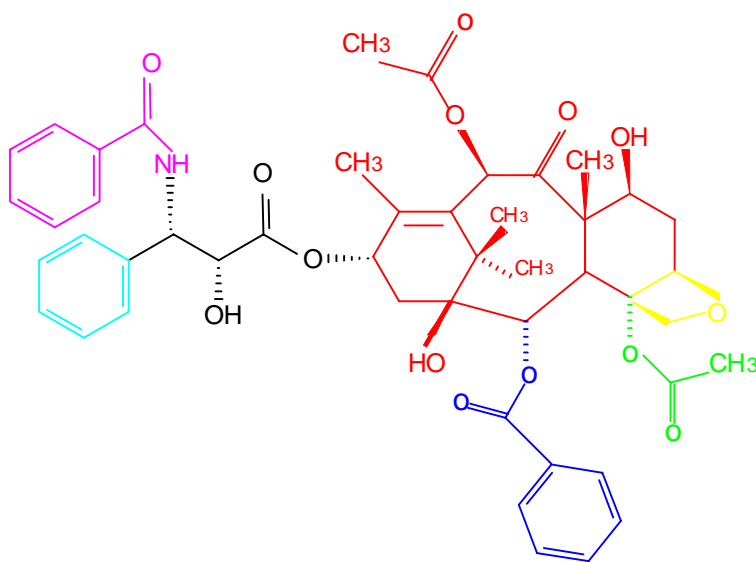


Figura 1.18 – Divisão das regiões dos taxóides para as quais η foi calculada separadamente.

Os substituintes NHCO-Ph(-C3') (presente no paclitaxel) e NHCO-tBu(-C3') (presente no docetaxel) não foram considerados como regiões a serem investigadas, uma vez que estes não estão presentes em todos os compostos, um estando ausente quando o outro está presente. O grupo acetato(-C4) (em verde) também foi desconsiderado baseado na análise das propriedades eletrônicas da molécula DBAC (seção 1.2.3.2) onde constatamos que esta região não contribui para a formação dos orbitais de fronteira.

Considerando as regiões acima, analisamos os valores dos seguintes parâmetros eletrônicos:

- a energia do orbital HOMO e seus dois vizinhos HOMO-1 e HOMO-2,
- as diferenças em energia entre estes orbitais dadas por: $\Delta H = \text{HOMO} - \text{HOMO-1}$, $\Delta H' = \text{HOMO-1} - \text{HOMO-2}$ e $\Delta H'' = \text{HOMO} - \text{HOMO-2}$,

- a energia orbital LUMO e seus dois vizinhos LUMO+1 e LUMO+2,
- as diferenças em energia entre estes orbitais dadas por: $\Delta L = \text{LUMO}+1 - \text{LUMO}$, $\Delta L' = \text{LUMO}+2 - \text{LUMO}+1$ e $\Delta L'' = \text{LUMO}+2 - \text{LUMO}$,
- a contribuição para a densidade local de estados (LDOS) para as regiões selecionadas, na formação dos orbitais HOMO, HOMO-1 e HOMO-2 [C(H), C(H-1) e C(H-2)], e suas diferenças dadas por: $\eta H = [C(H) - C(H-1)]$, $\eta H' = [C(H-1) - C(H-2)]$ e $\eta H'' = [C(H) - C(H-2)]$,
- a contribuição para a LDOS para as regiões selecionadas, na formação dos orbitais LUMO, LUMO+1 e LUMO+2 [C(L), C(L+1) e C(L+2)] e suas diferenças dadas por: $\eta L = [C(L+1) - C(L)]$, $\eta L' = [C(L+2) - C(L+1)]$ e $\eta L'' = [C(L+2) - C(L)]$.

Através de uma busca exploratória, considerando os descritores calculados, analisamos os parâmetros Δ 's e η 's para as 5 regiões e para os orbitais de fronteira. Verificamos então quais os valores críticos (Δ_c e η_c) e as regras de seleção que melhor classificam os taxóides quanto ao seu comportamento antimitótico. A melhor classificação de atividade foi obtida para a separação em energia entre os orbitais HOMO (H) e HOMO-1 (H-1) e para a contribuição dos átomos da região *chain* na formação destes orbitais.

Esta região, selecionada pelos parâmetros eletrônicos, é também considerada do ponto de vista experimental a mais importante para atividade dos taxóides. Apesar disso, a escolha da região não poderia ter sido feita sem uma análise prévia da capacidade de predição das demais. As variáveis eletrônicas presentes na MIE refletem todo o conjunto molecular, até mesmo η sofre influências de grupos que estejam ligados em regiões diferentes das analisadas pela LDOS. Desta forma, as informações experimentais de relevância biológica são importantes dentro da nossa investigação na tomada de decisão de como dividir a molécula em regiões.

Os parâmetros Δ e η para a análise dos taxóides ficam definidos como:

$$\eta H = 2 \sum_{m=n_i}^{n_f} \left(|c_{mHOMO}|^2 - |c_{mHOMO-1}|^2 \right) \quad (\text{Eq. 1.5}),$$

$$\Delta H = E_{HOMO} - E_{HOMO-1} \quad (\text{Eq. 1.6}).$$

Onde m (no somatório) refere-se aos orbitais atômicos associados aos átomos da região *chain*.

Na tabela 1.13 estão resumidos os valores das grandezas eletrônicas relacionadas com os descritores ΔH e ηH e que deram origem às regras de separação de atividade.

Tabela 1.13 – Variáveis eletrônicas aplicadas na MIE: energia dos orbitais HOMO (H) e HOMO-1 (H-1), sua diferença (ΔH), a contribuição dos átomos da região *chain* para a formação dos orbitais H e H-1 [$C(H)$ e $C(H-1)$] e sua diferença (ηH). A atividade biológica experimental esta apresentada de forma qualitativa como ativo -A e inativo -I (A.Q.).

Molécula	H(eV)	H-1(eV)	ΔH (eV)	$C(H)_{chain}$	$C(H-1)_{chain}$	ηH_{chain}	A.Q.
TX1-A	-9,7488	-9,9101	0,1613	0,0128	0,0	0,0128	A
TX1-B	-9,8470	-10,1292	0,2822	0,0134	0,0396	-0,0262	I
TX2-A	-9,9510	-10,0334	0,0824	0,0201	0,1632	-0,1431	I
TX2-B	-9,8967	-9,9292	0,0325	0,1206	0,1077	0,0129	I
TX3-A	-9,7372	-9,9510	0,2138	0,0155	0,0	0,0155	A
TX3-B	-9,7269	-9,8694	0,1425	0,0081	0,0792	-0,0711	A
TX4-A	-9,8676	-9,9224	0,0548	0,1879	0,0234	0,1645	I
TX4-B	-9,8707	-9,9135	0,0428	0,1991	0,0519	0,1472	I
TT1-A	-9,7220	-9,9438	0,2218	0,0125	0,0	0,0125	A
TT1-B	-9,8436	-10,1300	0,2864	0,0135	0,0373	-0,0238	I
TT1-C	-9,9937	-9,9980	0,0043	0,0136	0,0047	0,0089	A
TT1-D	-9,6780	-10,0068	0,3288	0,0134	0,0	0,0134	A
TT2-A	-9,9400	-10,0333	0,0933	0,0197	0,1587	-0,1390	I
TT2-B	-9,7336	-9,9036	0,1700	0,0183	0,2539	-0,2356	I
TT3-A	-9,7322	-9,9944	0,2622	0,0152	0,0	0,0152	A
TT3-B	-9,7497	-9,8885	0,1388	0,0082	0,0764	-0,0682	A
TT3-C	-9,8713	-9,8865	0,0152	0,0046	0,0163	-0,0117	A
TT3-D	-9,7503	-9,9578	0,2075	0,0145	0,0124	0,0021	A
TT4-A	-9,8680	-9,9181	0,0501	0,1799	0,0269	0,1530	I
TT4-B	-9,8740	-9,9119	0,0379	0,1650	0,0860	0,0790	I

Analisando os valores dos descritores frente à classificação experimental de atividade resumida pela análise qualitativa (A.Q.) dispostos na tabela 1.13, os valores críticos e as regras de seleção de atividade foram facilmente obtidos como:

Valores Críticos

$$\Delta H_c = 0,15 \text{ e } \eta H_c = 0,0$$

Regras de classificação de atividade

$$\Delta H > 0,15 \text{ e } \eta H > 0,0 \Rightarrow \text{Ativo (A)}$$

$$\Delta H > 0,15 \text{ e } \eta H \leq 0,0 \Rightarrow \text{Inativo(I)}$$

$$\Delta H \leq 0,15 \text{ e } \eta H > 0,0 \Rightarrow \text{Inativo(I)}$$

$$\Delta H \leq 0,15 \text{ e } \eta H \leq 0,0 \Rightarrow \text{Ativo(A)}$$

Estas regras podem ser resumidas de uma forma muito simplificada numa tabela Booleana de atividades:

Tabela 1.14 – Tabela Booleana de atividade dos taxóides para os parâmetros da MIE.

ΔH	ηH	Atividade
+	+	(+)A
+	-	(-)I
-	+	(-)I
-	-	(+)A

Onde os sinais +/- significam que os valores de ΔH e ηH para a molécula analisada são maiores/menores que os valores críticos.

Para o caso específico de ηH , na comparação entre os dois orbitais H e H-1, o sinal + indica que os átomos da região estudada contribuem mais fortemente para formação do orbital H, enquanto o sinal – indica que a região contribui mais para a formação do H-1.

Aplicando estas regras para os valores dos parâmetros especificados na tabela 1.13 temos:

Tabela 1.15 – Classificação dos taxóides de acordo com as regras da MIE. Os símbolos +/- são definidos pelas regras Booleanas acima. As células em cinza destacam as moléculas para as quais a classificação da MIE discorda da classificação experimental (A.Q.).

Molécula	ΔH	ηH	MIE	A.Q.
TX1-A	+	+	A	A
TX1-B	+	-	I	I
TX2-A	-	-	A	I
TX2-B	-	+	I	I
TX3-A	+	+	A	A
TX3-B	-	-	A	A
TX4-A	-	+	I	I
TX4-B	-	+	I	I
TT1-A	+	+	A	A
TT1-B	+	-	I	I
TT1-C	-	+	I	A
TT1-D	+	+	A	A
TT2-A	-	-	A	I
TT2-B	+	-	I	I
TT3-A	+	+	A	A
TT3-B	-	-	A	A
TT3-C	-	-	A	A
TT3-D	+	+	A	A
TT4-A	-	+	I	I
TT4-B	-	+	I	I

A tabela mostra que, comparando as predições teóricas com as experimentais, para apenas 3 compostos (TT1-C, TX2-A e TT2-A, 1 ativo e 2 inativos) os resultados das análises teórica e experimental discordam. Isso significa um acerto de 85% na predição da atividade dos taxóides pela MIE.

Considerando a estrutura complexa dos taxóides e seu comportamento biológico diferenciado, podemos afirmar que este estudo superou as expectativas iniciais quanto à

aplicação da MIE. Além disso, o estudo baseia-se em apenas 2 parâmetros eletrônicos o que torna o resultado algo surpreendente do ponto de vista biológico.

Para obtermos uma avaliação estatisticamente independente destes resultados realizamos novas análises teóricas da atividade deste mesmo conjunto de taxóides. Aplicamos metodologias populares nos estudos de reconhecimento de padrões como a “Análise Componentes Principais” (PCA) e “Análise Hierárquica de Clusters” (HCA), muito utilizadas em investigações químicas de fármacos e de alimentos.

1.3.2.3 - Investigação da Atividade Biológica dos Taxóides Através da Análise de Componentes Principais (PCA) e da Análise Hierárquica de Clusters (HCA).

Como já especificado no apêndice A, a PCA utiliza um grande número de descritores simultaneamente no estudo de separação de amostras. De um modo geral, a metodologia consiste em gerar novas variáveis não correlacionadas (componentes principais - PC) através da combinação linear dos descritores moleculares inicialmente considerados na análise. Os compostos avaliados podem, em princípio, ser separados em subgrupos de acordo com sua atividade experimental, seja ela biológica, química, etc. Esta separação, realizada no novo espaço de componentes principais, é obtida como fruto da seleção de apenas alguns dos descritores considerados no início da investigação. Os demais, desconectados com a atividade investigada, vão sendo gradativamente descartados durante a análise.

Para a aplicação da técnica de PCA selecionamos inicialmente 91 descritores. Os descritores considerados, e que reúnem características físico-químicas, eletrônicas, estereoquímicas envolvem entre outros:

- as energias do último orbital ocupado e do primeiro desocupado e de seus vizinhos (HOMO, HOMO-1, HOMO-2 e LUMO, LUMO+1, LUMO+2),
- as diferenças entre as energias dos orbitais acima (ΔH , $\Delta H'$, $\Delta H''$ e ΔL , $\Delta L'$, $\Delta L''$),
- as LDOSs sobre as regiões moleculares de importância biológica definidas para o estudo com a MIE (C(H), C(H-1), C(H-2) e C(L), C(L+1), C(L+2)) (seção 1.3.2.2),

- as diferenças entre as LDOSs acima ($\eta_H, \eta_{H'}, \eta_{H''}$ e $\eta_L, \eta_{L'}, \eta_{L''}$),
- dureza aproximada pela expressão $HD=(LUMO-HOMO)/2^{91,92}$,
- eletronegatividade de Mulliken aproximada pela expressão $\chi=(HOMO+LUMO)/2^{93,94}$,
- momento de dipolo,
- refração, refratividade,
- polarizabilidade,
- massa ,
- energia de hidratação,
- coeficiente de partição molecular octanol-água ($\log P$)⁹⁵,
- energia de solvatação.

Destes 91 descritores iniciais, os parâmetros refração, polarizabilidade, massa, e coeficiente de partição octanol-água ($\log P$) foram descartados em uma análise preliminar. Estes descritores são estimados observando apenas os átomos que constituem as moléculas, não sendo capazes de fazer distinção entre compostos isômeros. Para os taxóides a variação na estereoquímica dos ligantes é tão importante quanto à mudança de seus grupos laterais, característica que torna estes descritores inadequados para o estudo.

Baseado então em 87 descritores dentro da PCA, foi possível obter mais de 10 resultados consistentes de separação das moléculas em subgrupos de atividades distintas (ativos e inativos). As separações, todas com 100% de acerto quando comparadas com as atividades experimentais dos compostos, foram alcançadas utilizando-se uma combinação final dos seguintes descritores:

- $C(H-1)$ *chain*, $C(H)$ *chain*, $C(H-1)$ *C3'Ph*, $C(H-2)$ *oxet*, representando a LDOS para os orbitais H, H-1 e H-2, para regiões moleculares específicas,
- η_H *chain*, $\eta_{H'}$ *chain*, $\eta_{H''}$ *chain*, $\eta_{H'}$ *C2bez*, $\eta_{L''}$ *C3'Ph* representando a diferença entre LDOSs para os orbitais de fronteira em regiões específicas,
- ΔH , representando a diferença de energia entre os orbitais HOMO-(HOMO-1),
- ΔL , representando a diferença de energia entre os orbitais (LUMO+1) – LUMO.

Os parâmetros selecionados e responsáveis pelos melhores resultados na investigação da PCA foram os parâmetros eletrônicos relacionados com os descritores da MIE. Durante as investigações com a PCA, testes considerando a não utilização dos descritores da MIE mostraram uma grande queda na porcentagem de acerto das predições. Este resultado é uma nova evidência da importância dos parâmetros eletrônicos na classificação de atividades biológicas.

A figura 1.19 apresenta um dos resultados obtidos para a metodologia PCA. As moléculas estão representadas por pontos em um plano de duas componentes principais (PC1 e PC2). Os descritores utilizados foram auto-escalados antes da análise. Os compostos estão claramente separados em dois subgrupos de atividade (ativos e inativos) verticalmente opostos, indicando que o eixo PC2 é o principal responsável por esta separação. O grupo de compostos ativos está compacto e localizado na parte inferior do gráfico e o grupo de inativos está distribuído de forma mais esparsa na parte superior do gráfico.

Os eixos PC1 e PC2 correspondem a 51,38 e 26,56 % da variância do sistema respectivamente, e o plano PC1xPC2 conserva 77,94% da variância total dos dados originais.

Os componentes PC1 e PC2 são escritos em termos dos descritores inicialmente considerados no cálculo segundo as equações:

$$PC1 = 0,688 \eta H \text{ chain} + 0,481 C(H) \text{ chain} + 0,231 \eta L'' C3'Ph - 0,491 C(H-1) \text{ chain} \quad (\text{Eq. 1.7})$$

$$PC2 = 0,645 C(H) \text{ chain} + 0,517 C(H-1) \text{ chain} + 0,104 \eta H \text{ chain} - 0,553 \eta L'' C3'Ph \quad (\text{Eq. 1.8})$$

Estas equações mostram que as maiores contribuições para a formação das componentes principais PC1 e PC2 são dadas por ηH e pela LDOS calculados para os átomos da região *chain*.

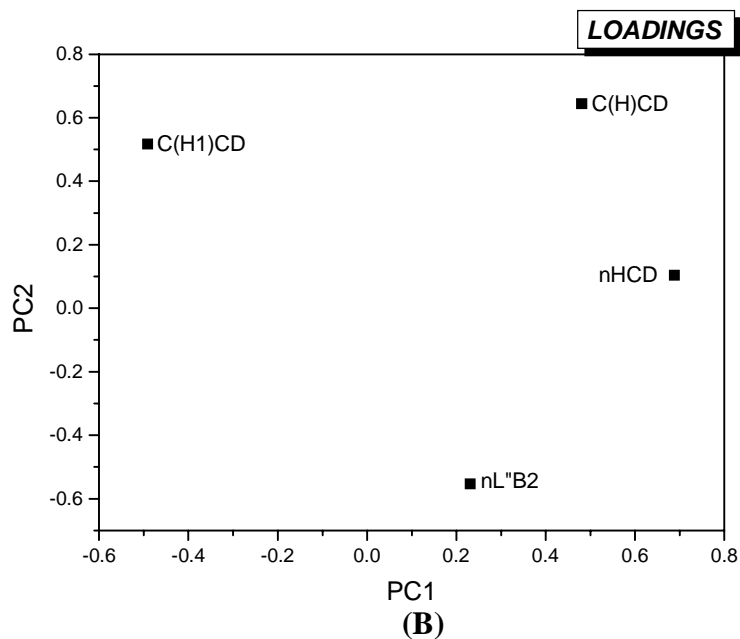
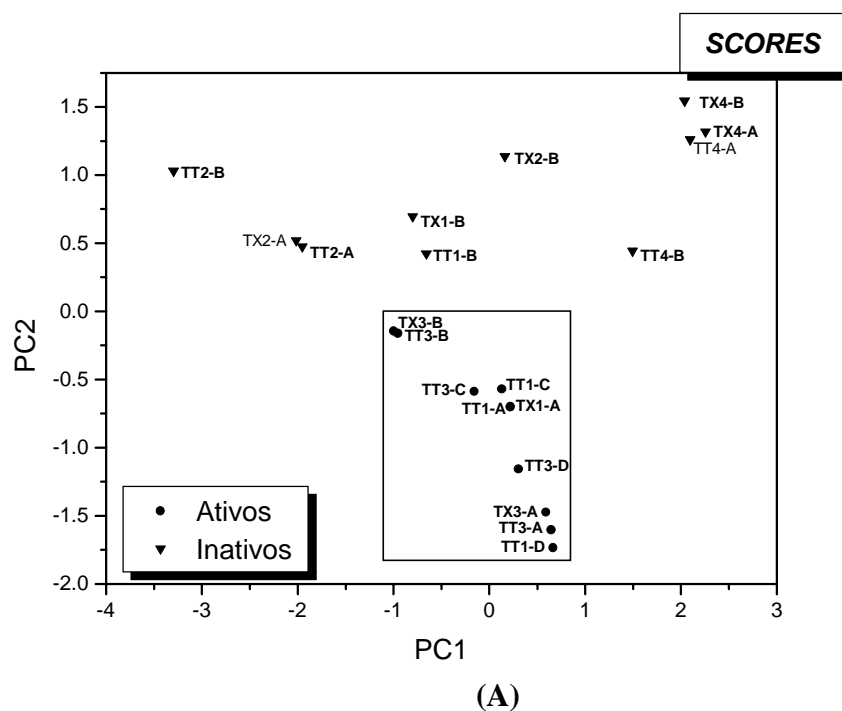


Figura 1.19- Resultados da PCA. (A) – Gráfico SCORES - distribuição dos compostos no plano das componentes principais PC1 e PC2. (B) – Gráfico LOADINGS - distribuição dos descritores responsáveis pela separação dos compostos em grupos distintos de atividade.

Estes novos resultados, obtidos por uma metodologia classicamente utilizada no estudo de reconhecimento de padrões, confirmam a superioridade dos variáveis eletrônicas selecionadas pela MIE na investigação de atividade dos taxóides.

Analisando em conjunto os gráficos (A) e (B) da figura 1.19, verificamos que os descritores $C(H)_{chain}$ e $\eta L''C3'Ph$ são os principais responsáveis por manter as moléculas ativas e inativas em regiões verticalmente distintas no gráfico SCORE. Se a esta análise agregarmos as informações contidas na equação. 1.8, podemos concluir que para que novos taxóides ofereçam índices de atividade elevada eles devem apresentar pequenos valores (positivos) para as variáveis $C(H)_{chain}$ e $C(H-1)_{chain}$, combinados a valores negativos para a variável ηH_{chain} e valores positivos para $\eta L''C3'Ph$.

Corroborando os resultados de PCA as análises HCA mostram a separação das moléculas em grupos de atividades distintas.

Na figura 1.20 apresentamos o resultado da HCA para o conjunto de variáveis apresentadas no resultado PCA acima. Os descritores foram auto-escalados e as moléculas agrupadas considerando a distância Euclidiana do centróide. As moléculas ativas foram separadas das inativas e agrupadas no meio do gráfico (de TX3-B até TT3-D). A formação de um único grupo para as moléculas ativas demonstra que os descritores adotados na classificação de atividades foram capazes de avaliar corretamente a similaridade que deve existir entre todos os compostos ativos. Os compostos inativos, por outro lado, não formaram um único grupo e apresentaram uma similaridade muito pequena (de 0,24) com o grupo ativo.

As investigações utilizando estes dois métodos de reconhecimento de padrões partiram de dezenas de parâmetros responsáveis pelas diversas propriedades estereoquímicas, físico-químicas e eletrônicas dos compostos, e classificaram os 20 estudados em dois grupos de atividades observando apenas as variáveis eletrônicas da MIE.

Estes resultados, mostrando que quatro variáveis (ηH_{chain} , $C(H)_{chain}$, $C(H-1)_{chain}$ e $\eta L''C3'Ph$) são capazes de orientar quanto à atividade do taxóides, podem ser utilizados no “design” de novos compostos como um guia na proposição de novas sínteses.

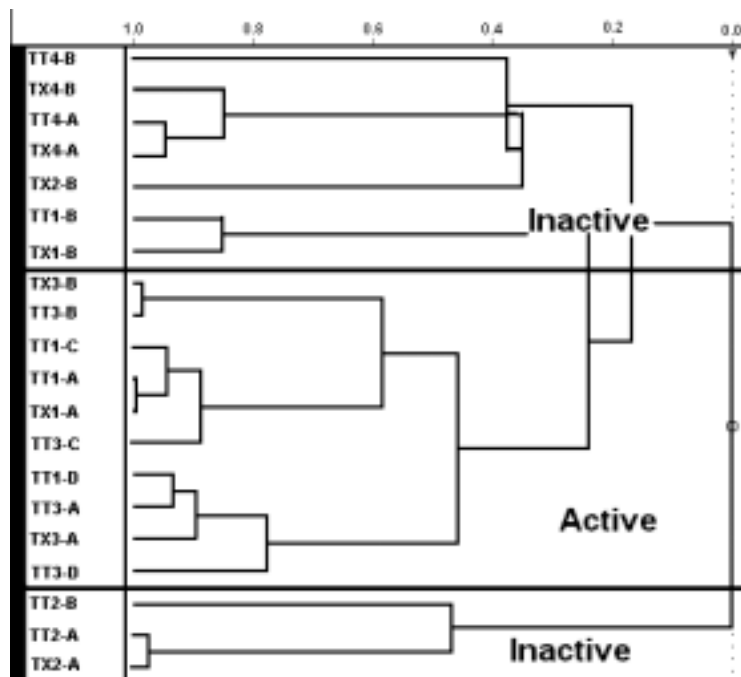


Figura 1.20 – Dendograma da distribuição hierárquica dos taxóides. Os compostos ativos e inativos estão separados em grupos distintos e apresentam uma baixa similaridade entre si.

1.4 – Conclusões

Neste capítulo apresentamos uma investigação teórica da atividade biológica de um conjunto de taxóides.

Nosso estudo tem início com a obtenção das geometrias de mínimo global dos compostos estudados, onde comprovamos que a estratégia de se tomar estruturas de raios-X como guia para otimizações moleculares em vácuo, pode levar a conformações erroneamente classificadas como mínimos globais. Nossos resultados reforçam a importância de um estudo refinado de busca conformacional em moléculas apresentando diedrais flexíveis.

Os resultados da análise teórica de atividade biológica mostram que parâmetros puramente eletrônicos são capazes de separar os taxóides, compostos complexos do ponto de vista geométrico e bioquímico, quanto à sua atividade antimetabólica.

Os parâmetros Δ e η aplicados na MIE mostraram sua capacidade de seleção, reproduzindo com 85% de acerto a classificação experimental de atividade do conjunto das 20 moléculas estudadas.

Já sob a apreciação das metodologias de reconhecimento de padrões, PCA e HCA, os parâmetros eletrônicos foram selecionados dentre 91 descritores como sendo os responsáveis por um acerto surpreendente na classificação da atividade biológica dos taxóides. As metodologias separaram os compostos em dois grupos de atividade distintas, apresentado 100% de concordância com a classificação de ativos/inativos dada pelo índice experimental ID_{50} .

Como conclusão desta investigação nós propomos que a MIE, com suas regras simplificadas envolvendo apenas 2 parâmetros, pode ser efetivamente aplicada como guia “pré-síntese” nas investigações de novos taxóides. Isto é, as informações fornecidas pelos parâmetros da MIE podem ser utilizadas orientando a escolha de novos compostos a serem sintetizados. Os novos compostos podem ser selecionados priorizando-se substituições químicas específicas, que mantenham/elevem as características eletrônicas requeridas pelos padrões (das variáveis eletrônicas) observados para as moléculas ativas.

A utilização conjunta dos resultados obtidos com as metodologias MIE, PCA e HCA tornam-se uma ferramenta ainda mais poderosa no campo do planejamento computacional dos taxóides.

1.5 – Referências

- 1- Samyang Pharmaceutical Business Division
<http://www.samyang.co.kr/english/news/news3.html>.
- 2- IVAX Corporation, <http://www.ivax.com/>.
- 3- NaPro BioTherapeutics, Inc., <http://www.naprobio.com/>.
- 4- E. Harper, W. Dang, R. G. Lapidus, R. I. Garver, *Clin. Cancer Res.* **5**, 4242-4248 (1999).
- 5- S.-S. Feng, L. Mu, B.-H. Chen, D. Pack, *Material Science and Engineering C* **20**, 85-92 (2002).
- 6- Z. Gao, A. N. Lukyanov, A. Singhal, V. P. Torchilin, *Nano Letters* **2**, 979-982 (2002).
- 7- E.-S. Park, M. Maniar,; J. C. Shah, *J. Control Release* **52**, 179-189 (1998).
- 8- S. Alcaro, C. A. Ventura, D. Paolino, D. Battaglia, F. Ortuso, L. Cattell, G. Puglisi, M. Fresta, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **12**, 1637-1641 (2002).
- 9- C.I. Winternitz, J. K. Jackson, A. M. Okataba, H. M. Burt, *Pharm. Res.* **13**, 368-375 (1996).
- 10- M. M. Amiji, P.-K. Lai, D. B. Shenoy, M. Rao, *Pharmaceutical Development and Technology* **7**, 195-202 (2002).
- 11- M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon and A. T. McPhail, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 2325-2327 (1971).
- 12- S. J. Campbell and S. A. Whitney, *Taxane Anticancer Agents, C.S. Symposium Series 583*, Georg, G. I., Chen, T. T., Ojima, I., Vyas, D. M. (Editores), American Chemical Society, Washington, DC, 1995, Capítulo 4, pp 58-71.
- 13- D. Guénard, F. Guéritte-Voegelein, P. Potier, *Acc. Chem. Res.* **26**, 160-167 (1993).
- 14- G. M. Cragg, K. M. Snader, *Cancer Cells* **3**, 233-235 (1990).
- 15- D. G. I. Kingston, *Pharmacol. Ther.* **52**, 1-34 (1991).
- 16- G. Chauvière, D. Guénard, F. Picot, V. Sénilh, P. Potier, *C. R. Seances Acad. Sci., Ser.2* **293**, 501-503 (1981).
- 17- V. Sénilh, S. Blechert, M. Colin, D. Guénard, F. Picot, P. Potier, P. Varenne, *J. Nat. Prod.* **47**, 131-137 (1984).
- 18- D. G. I. Kingston, A. G. Chaudhary, M. D. Chordia, M. Gharpure, A. A. L. Gunatilaka, P. I. Higgs, J. M. Rimold, L. Samala, P. G. Jagtap, *J. Med. Chem.* **41**, 3715-3726 (1998).

- 19- Q. Zhu, Z. Guo, N. Huang, M. Wang, F. Chu, *J. Med. Chem.* **40**, 4319-4328 (1997).
- 20- C. S. Swindell and N. E. Krauss, *J. Med. Chem.* **34**, 1176-1184 (1991).
- 21- E. J. Roh, D. Kim, C. O. Lee, S. U. Choi and C. E. Song, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **10**, 3145-3151 (2002).
- 22- R. A. Holtron, C. Somoza, H. -B. Kim, F. Liang, R. J. Biediger, P. D. Boatman, M. Nadizadeh, Y. Suzuki, Ch. Tao, P. Vu, S. Tang, P. Zhang, K. K. Murthi, L. N. Gentile, J. H. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **116**, 1597-1600 (1994).
- 23- K. C. Nicolaou, Z. Yang, J. J. Liu, H. Ueno, P. G. Nantermet, R. K. Guy, C. F. Claiborne, J. Renaud, E. A. Couladouros, K. Paulvannam, *Nature* **367**(6464), 630-634 (1994).
- 24- L. Alcaraz, J. J. Harnett, C. Mioskowski, T. Legall, D. S. Shin, J. R. Falck *Journal Of Organic Chemistry* **60**, 7209-7214 (1995).
- 25- I. Ringel, S. B. Horwitz, *J. Natl. Cancer Inst.* **83**, 288-291 (1991).
- 26- F. Lavelle, C. Fizames, F. Guéritte-Voegelein, D. Guénard, P. Potier, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **30**, 2254 (1989).
- 27- M. -C. Bissery, D. Guénard, F. Guéritte-Voegelein, F. Lavelle, *Cancer Res.* **51**, 4845-4852 (1991).
- 28- P. B. Schiff, J. Fant, S. B. Horwitz, *Nature* **277**, 665 (1979).
- 29- P. B. Schiff, S. B. Horwitz, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **77**, 1561 (1980).
- 30- J. J. Manfredi, S. B. Horwitz, *Pharmacol. Ther.* **25**, 83 (1984).
- 31- S. B. Horwitz, L. Lothstein, J. J. Manfredi, W. Mellado, J. Parness, S. N. Roy, P. B. Schiff, L. Sorbara, R. Zeheb, *Ann. N.y. Acad. Sci.* **466**, 733 (1986).
- 32- S. B. Horwitz, P. B. Schiff, J. Parness, J. J. Manfredi, W. Mellado, S. N. Roy in *The Cytoskeleton*, T. W. Clarkson, P. R. Sager, T. L. M. Syversen, (Editores), Plenum: New York, 1986.
- 33- R. Croteau, M. Hezari, J. Hfner, A. Koepp, N. G. Lewis in *Taxane Anticancer Agents*, G. I. Georg, T. T. Chen, I. Ojima, D. M. Vyas (Editores), A. C. S., Washington, DC 1995, Capítulo 5, pp 72-80.
- 34- H. Baumann, R. E. Martin and F. Diederich, *J. Comput. Chem.* **20**, 396-411 (1999).
- 35- J. R. Peterson, H. D. Do and R. D. Rogers, *Pharmaceutical Research* **8**, 908-912 (1991).

- 36- Q. Gao, J-M Wei, and S-H. Chen, *Pharmaceutical Research* **12**, 337-341 (1995).
- 37- A. Chiaroni, C. Richie, R. Marder, J. Dubois, D. Guénard, F. Guérrite-Voegelein, *Acta Crystallografica* **C51**, 2050-2053 (1995).
- 38- F. Guérrite-Voegelein, L. Mangatal, D. Guénard, P. Potier, J. Gilhem, M. Cesario, C. Pascard, *Acta Cryst.* **C46**, 781-784 (1990).
- 39- D. Mastropalo, A. Camerman, Y. Luo, G. D. Brayer, Camerman, N. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **92**, 6920-6924 (1995).
- 40- Q. Gao, W. L. Parker, *Tetrahedron* **52**, 2291-2300 (1996).
- 41- Q. Gao, S.-H. Chen, *Tetrahedron Lett.* **37** 3425-3428 (1996).
- 42- J. P. Snyder, N. Nevins, D. O. Cicero, J. Jansen, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 724-725 (2000).
- 43- H. J. Williams, G. Moyna, A. I. Scott, *J. Med. Chem.* **39**, 1555-1559 (1996).
- 44- M. Milanesio, P. Ugliengo, D. Viterbo, *J. Med. Chem.* **42**, 291-299 (1999).
- 45- H. J. Williams, A. I. Scott, R. A. Dieden, C. S. Swindell, L. E. Chirlan, M. M. rancl, J. M. Heerding, N. E. Krauss, *Tetrahedron* **49**, 6545-6560 (1993).
- 46- G. Moyna, H. J. Williams, A. I. Scott, I. Ringel, R. Gorodetsky, C. S. Swindell, *J. Med. Chem.* **40**, 3305-3311 (1997).
- 47- C. J. Falzone, A. J. E. Benesi, J. T. J. Lecomte, *Tetrahedron Letters* **33**, 1169-1172 (1992).
- 48- J. P. Snyder, J. H. Nettles, B. Cornett, K. H. Downing, E. Nogales, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**, 5312-5316 (2001).
- 49- Y. Y u, Q. Li, *Analytica Chimica Acta* **436**, 147-152 (2001).
- 50- I. Ojima, J. C. Slater, E. Michaud, S. D. Kuduk, P.-Y. Bounaud, P. Vrignaud, M.-C. Bissery, J. M. Veith, P. Pera, R. J. Bernacki, *J. Med. Chem.* **39**, 3889-3896 (1996).
- 51- U. Klar, H. Graf, O. Schenk, B. Röhr, H. Schulz, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **8**, 1397-1402 (1998).
- 52- T. C. Boge, R. H. Himes, D. G. V. Velde, I. Georg, *J. Med. Chem.* **37**, 3337-3343 (1994).
- 53- M. Suffeness in *Taxane Anticancer Agents*, G. I. Georg, T. T. Chen, I. Ojima, D. M. Vyas (Editores), A.C.S. Symposium Series 58., Washington, DC 1995, Capítulo 1, pp 2-17.

- 54- A. Commerçon, J. D. Bourzat, E. Didier and F. Lavelle, in *Taxane Anticancer Agent*, G. I. Georg, T. T. Chen, I. Ojima, D. M. Vyas (Editores), A.C.S. Symposium Series 583, Washington, DC 1995, Capítulo 17, pp 233-246.
- 55- M. Wang, B. Cornett, J. Nettles, D. C. Liotta and J. P. Snyder, *J. Org. Chem.* **65**, 1059, (2000).
- 56- A. Stierle, D. Stierle, G. Strobel, G. Bignami, and P. Grothaus in *Taxane Anticancer Agents*, G. I. Georg, T. T. Chen, I. Ojima, D. M. Vyas (Editores), A.C.S. Symposium Series 583, Washington, DC 1995, Capítulo 6, pp 81-97.
- 57- S. F. Braga, D. S. Galvão, *Journal of Molecular Graphics and Modeling* **21**, 57-70(2002).
- 58- M. J. S. Dewar, and M. L. McKee, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 5231, (1977).
- 59- M. J. S. Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy and J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3902 (1985).
- 60- J. J. P. Stewart, *J. Comput. Chem.* **10**, 209-220 (1989).
- 61- J. J. P. Stewart, *J. Comput. Chem.* **10**, 221-264 (1989).
- 62- MOPAC Program, version 6.0, Quantum Chemistry Program Exchange No. 455. <http://qcpe.chem.indiana.edu>.
- 63- M. C. Zerner, in *Reviews in Computational Chemistry*, K. B. Lipkowitz and D. B. Boyd, (Editores), VCH Publishers, New York. 1991, vol. 2, pp. 313-365.
- 64- P. Scano, and C. Thompson, *J. Comput. Chem.* **12**, 172-174 (1991).
- 65- Z. G. Soos, and D. S. Galvão, *J. Phys. Chem.* **98**, 1029-1033 (1994).
- 66 -D. S. Galvão, Z. G. Soos, S. Ramasesha, and S. Etemad, *J. Chem Phys.* **98**, 3016-302 (1993).
- 67- P. M. V. B. Barone, S. O. Dantas and D. S. Galvão, *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **465**, 219-229 (1999).
- 68- A. Koll, M. Rospenk, E. Jagodzinska and T. Dziembowska, *J. Mol. Struct.* **552**, 193-204 (2000).
- 69- H. F. dos Santos and W. B. de Almeida, *J Mol. Struct. (THEOCHEM)* **335**, 129-139 (1995).
- 70- V. V. Kislov, V. M. Petrov, S. Y. Noskov, V. N. Petrova and S. N. Ivanov, *Internet J. Chem.* **2** (9), 1-17 (1999).

- 71- C. W. Jefford, G. Bernadinelli, M. C. Josso, P. Y. Morgantini and J. Weber, *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **337**, 31-37 (1995).
- 72- L. Gorb, A. Korkin, J. Leszczynski, A. Varnek, F. Mark and K. Schaffner, *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **425**, 137-145 (1998).
- 73- M. A. Palafox and F. J. Melendez, *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)* **459**, 239-271 (1999).
- 74- M. J. S. Dewar, E. F. Healy, A. J. Holder, Y. C. Yuan, *J. Comput. Chem.* **11**, 541 (1990).
- 75- Q. Gao and J. Golik, *Acta Cryst.* **C51**, 2995-298 (1995).
- 76- P. Ballone, M. Marchi, *J. Phys. Chem. A* **103**, 3097-3102 (1999).
- 77- J. Dubois, D. Guénard, F. Guéritte-Voegelein, N. Guedira, P. Potier, B. Gillet and J.-C. Beloeil, *Tetrahedron* **49**, 6533-6544 (1993).
- 78- Y. Li, B. Poliks, L. Cegelski, M. Piloks, Z. Gryczynski, G. Piszczek, P. G. Jagtap, D. R. Studelska, D. G. I. Kingston, J. Scafer and S. Bane, *Biochemistry* **39**, 281-291 (2000).
- 79- M. Cyrillo and D. S. Galvão, *Chem2Pac: EPA Newsletter* **67**, 31-34 and 34-38 (1999).
<http://www.ifi.unicamp.br/gsonm/chem2pac>
- 80- F. Mandl, *Statistical Physics*, John Wiley & Sons, Chichester, 1988, 2^a edição, Capítulo 2, pp 56.
- 81- J. Ridley and M. C. Zerner, *Theor. Chim. Acta* **42**, 223-236 (1976).
- 82- W. D. Edwards and M. C. Zerner, *Theor. Chim. Acta* **72**, 347-361 (1987).
- 83- L. E. Bolívar-Marinez, D. S. Galvão and M. J. Caldas, *J. Phys. Chem.* **B103**, 2993-3000 (1999).
- 84- L. E. Bolívar-Marinez, M. C. dos Santos and D. S. Galvão, *J. Phys. Chem.* **106**, 11029-11032 (1996).
- 85- B. Lythgoe in *The Alkaloids*, Manske, R.H.F., Editor, Academic Press, New York, 1968, vol. 10, p. 597.
- 86- V. Farina, Editor, *The Chemistry and Pharmacology of Taxol® and its Derivatives*, Elsevier, New York, 1995.
- 87- F. Guéritte-Voegelein, D. Guénard, F. Lavelle, M.-T. Le Goff, L. Mangatal, P. Potier, *J. Med. Chem.* **34**, 992-998 (1991).
- 88- CAChe 5.0. 2000-2001 Fujitsu Limited. FJ1034-06.
<http://www.CACheSoftware.com>.

- 89- A. Klamt, G. Schüürmann, *J. Chem. Soc, Perkin Trans.* **2**, 799 (1993)
- 90- A. Klamt, V. Jonas, T. Buerger, J. C. W. Lohrenz, *J. Phys. Chem. A* **102**, 5074 (1998).
- 91- R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **85**, (1963).
- 92- R. G. Parr e R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, 7512 (1983).
- 93- R. S. Mulliken, *J. Chem. Phys* **2**, 782 (1934).
- 94- R. P. Iczkowski e J. L. Margrave, *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 3547 (1961).
- 95- R. Mannhold, H. van de Waterbeemd, *J. Computer-Aided Molecular Design* **15**, 337 (2001).

Capítulo 2

Benzo[c]quinolizin-3-onas.

2.1 – Introdução

No corpo humano, as enzimas 5alfa-reductase (5AR) catalisam a redução do hormônio masculino testosterona (T) (Figura 2.1) no metabólito diidrotestosterona (DT) (Figura 2.2). Os hormônios androgênicos T e DT são essenciais para a maturação sexual masculina. À produção excessiva da DT, no entanto, estão associadas doenças como a hiperplasia benigna de próstata¹, o câncer de próstata² e algumas desordens endócrinas que acarretam problemas na pele como acne³, queda de cabelo^{4,5} e etc.

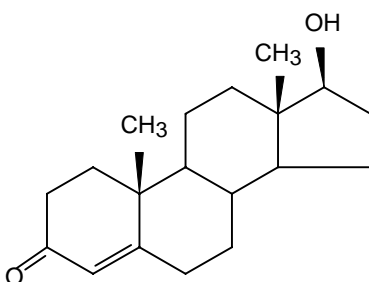


Figura 2.1 - Estrutura geométrica da testosterona.

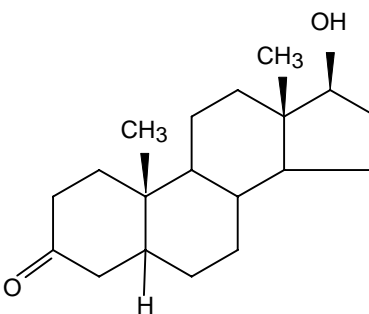


Figura 2.2 - Estrutura geométrica da diidrotestosterona.

As enzimas 5AR são encontradas no ser humano em duas variações, chamadas tipo 1 e 2, que não se distribuem homogeneamente pelo corpo e não têm a mesma eficácia na transformação da T em DT. A enzima tipo 2 está mais concentrada na próstata, nos tecidos genitais e no fígado, enquanto a enzima tipo 1 se distribui pelo fígado e por tecidos não genitais⁶.

Os primeiros compostos produzidos e comercializados objetivando a inibição das enzimas 5AR foram o finasteride [PROSCAR[®], Merck & Co., Figura 2.3 (A)]⁷ e o dutasteride [AVODART[™], GlaxoSmithKline, Figura 2.3 (B)]⁸. Eles visam controlar ou suprimir a formação da DT no organismo sem, no entanto, ocasionar mudanças nos níveis da T. O finasteride inibe principalmente a enzima tipo 2 enquanto o dutasteride foi projetado para inibir as duas variações da enzima.

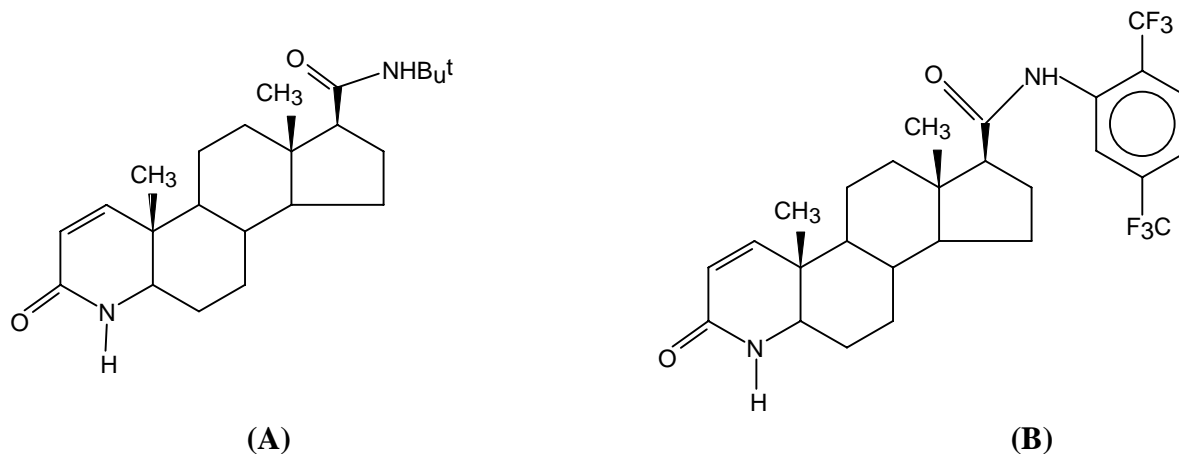


Figura 2.3 - Primeiros inibidores da 5alfa-reductase comercializados: (A) PROSCAR[®] e (B) AVODART[™].

O papel da enzima 5AR1 não é claro, estando sua presença no couro cabeludo e na pele associada à acne e à queda de cabelo em homens (alopecia), e ao crescimento de pelos pelo corpo (hirsutismo) e à ocorrência de ovário policístico em mulheres⁹.

Apesar disso, pesquisas sobre o aparecimento de pseudohemafroditismo em fetos de pacientes grávidas⁶ objetivaram o desenvolvimento de inibidores seletivos desta variação da enzima 5AR.

Em consequência do trabalho dedicado à identificação de potentes inibidores das 5AR¹⁰, muitos compostos, em sua maioria baseados na estrutura da T, foram desenvolvidos nos últimos anos. Como exemplo podem ser citadas a família dos 4-azasteróides¹¹, 6-azasteróides¹², 10-azasteróides¹³ e oximas esteroidais¹⁴.

A série de benzo[c]quinolizin-3-onas (que serão referidas no texto daqui por diante como compostos BENZO) (Figura 2.4 e Tabela 2.1) que investigamos atua inibindo a enzima 5AR1 e teve como fonte de inspiração algumas benzoquinolinas sintetizadas pelo laboratório Lilly^{15,16}.

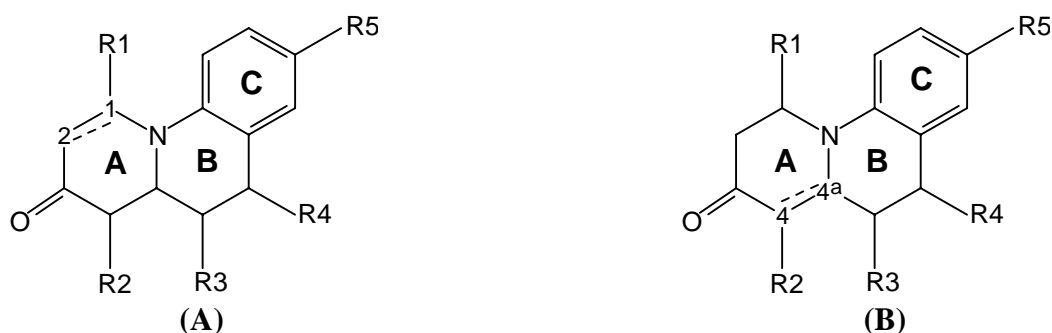


Figura 2.4. Estrutura básica das benzo[c]quinolizin-3-onas estudadas: (A) compostos da série 4aH e (B) compostos da série 1H.

O conjunto investigado é formado por 41 (Tabela 2.1) compostos¹⁷, 23 para os quais a atividade biológica experimental é conhecida (moléculas 19 a 27, 29 e 35 a 47, denominado grupo de controle - **GC**) e 18 compostos ainda não testados experimentalmente (moléculas 1 a 18, denominado grupo de teste - **GT**).

Estes grupos foram estudados separadamente, o que permitiu que nosso trabalho fosse dividido em duas partes: a primeira dedicada a estabelecer correlações entre a atividade biológica dos BENZO e seus descritores teóricos para o **GC**, e a segunda dedicada a propor a atividade qualitativa para as moléculas do **GT**, aplicando as regras e padrões observados na primeira etapa do estudo.

Além da ausência de dados experimentais de atividade biológica para os compostos do **GT**, eles também se diferenciam do **GC** por não apresentarem insaturações no anel A do esqueleto molecular.

Os compostos 19 a 27, e 29 são compostos da série 4aH que se caracteriza pela presença de uma insaturação no anel A entre os carbonos 1 e 2 (Figura 2.4(A)). Os compostos 35 a 47 por sua vez são compostos da série 1H apresentando uma insaturação no anel A entre os carbonos 4 e 4a (Figura 2.4(B)). Testes experimentais revelaram que de um modo geral os compostos da série 1H são mais potentes do que os da série 4aH¹⁷.

Tabela 2.1 – Conjunto dos BENZO investigados (Figura 2.4)¹⁷. A potência de inibição à 5ARI é dada pelo índice IC₅₀.

Composto	Insaturação	R1	R2	R3	R4	R5	IC ₅₀ (nM)	Composto	Insaturação	R1	R2	R3	R4	R5	IC ₅₀ (nM)
1		H	H	H	H	H	-	4aH25	1.2	H	Me(β)	H	H	Me	312±23
2		H	H	H	H	Me	-	4aH26	1.2	H	Me(β)	H	H	Cl	141±24
3		H	H	H	H	Cl	-	4aH27	1.2	H	H	Me(α)	H	Cl	9.100±500
4		H	Me(α)	H	H	H	-	4aH28	1.2	H	H	H	Me(α)	Me	-
5		H	Me(β)	H	H	H	-	4aH29	1.2	H	H	H	Me(α)	Cl	188±42
6		H	Me(α)	H	H	Me	-	4aH30	1.2	Me	H	H	H	Cl	
7		H	Me(β)	H	H	Me	-	4aH31	1.2	H	Me(α)	Me(α)	H	Cl	
8		H	Me(α)	H	H	Cl	-	4aH32	1.2	H	Me(β)	Me(α)	H	Cl	
9		H	Me(β)	H	H	Cl	-	4aH33	1.2	H	Me(α)	H	Me(α)	Me	
10		H	H	Me(α)	H	Cl	-	4aH34	1.2	H	Me(α)	H	Me(α)	Cl	
11		H	H	H	Me(α)	Me	-	1H35	4.5	H	H	H	H	H	298±75
12		H	H	H	Me(α)	Cl	-	1H36	4.5	H	H	H	H	Me	376±185
13		Me(α)	H	H	H	Cl	-	1H37	4.5	H	H	H	H	Cl	49±19
14		Me(β)	H	H	H	Cl	-	1H38	4.5	H	Me	H	H	H	185±62
15		H	Me(α)	Me(α)	H	Cl	-	1H39	4.5	H	Me	H	H	Me	20±8
16		H	Me(β)	Me(α)	H	Cl	-	1H40	4.5	H	Me	H	H	Cl	7,6±0.9
17		H	Me(α)	H	Me(α)	Me	-	1H41	4.5	H	H	Me	H	Cl	346±185
18		H	Me(α)	H	Me(α)	Cl	-	1H42	4.5	H	H	H	Me	Me	14,3±5.9
4aH19	1.2	H	H	H	H	H	5.130±130	1H43	4.5	H	H	H	Me	Cl	14,4±3.4
4aH20	1.2	H	H	H	H	Me	176±17	1H44	4.5	Me	H	H	H	Cl	204±49
4aH21	1.2	H	H	H	H	Cl	459±118	1H45	4.5	H	Me	Me	H	Cl	15,6±4.0
4aH22	1.2	H	Me(α)	H	H	H	2.700±300	1H46	4.5	H	Me	H	Me	Me	15,8±4.6
4aH23	1.2	H	Me(β)	H	H	H	4.300±400	1H47	4.5	H	Me	H	Me	Cl	8,5±2.1
4aH24	1.2	H	Me(α)	H	H	Me	137±58								

Iniciamos nosso estudo da relação entre descritores teóricos e a atividade biológica dos BENZO buscando pelas estruturas geométricas referentes ao estado de menor energia dos 41 compostos. Os detalhes deste estudo são apresentados nas próximas seções.

2.2. – Metodologia e Resultados

2.2.1 – Análise Conformacional

Os BENZO possuem uma estrutura pouco flexível, com grupos laterais pequenos ligados a um carço molecular composto por anéis. Esta estrutura simples e de pouca maleabilidade facilitou a obtenção das geometrias de mínimos globais dos compostos e permitiu que nosso estudo abrangesse um conjunto de quarenta compostos.

Iniciamos nossa investigação comparando os resultados de otimização geométrica de dois BENZO, realizados com métodos *ab initio* e semiempíricos (AM1 e PM3). Uma vez que não encontramos na literatura geometrias de raios-X para nenhum dos BENZO, os resultados do cálculo *ab initio* foram utilizados como os parâmetros de checagem na avaliação e escolha dos métodos semiempíricos.

Selecionamos para a avaliação os compostos 42 da série 1H e 27 da série 4aH, e baseados nos resultados desta investigação elegemos o método para otimização dos demais compostos. Aqui, como no estudo dos taxóides (Capítulo 1), assumimos que a conformação de menor energia é a fonte primária de informações para um estudo de correlação entre atividade biológica experimental e parâmetros teóricos.

Para o cálculo *ab initio* localizamos a conformação de menor energia das moléculas 4aH27 e 1H42 através de uma busca conformacional, variando-se os diedrais responsáveis pelas regiões menos planas do esqueleto molecular e otimizando-se cada uma das conformações obtidas. Esta busca foi realizada com o programa Titan¹⁸, utilizando uma base 6-31G.

Para os cálculos com os métodos semiempíricos AM1 e PM3 nenhuma busca conformacional foi realizada, sendo as estruturas otimizadas em vácuo para apenas uma conformação inicial (construída com o programa Hyperchem¹⁹).

Nas tabelas 2.2, 2.3 e 2.4 estão apresentados os dados geométricos dos mínimos globais obtidos para os três cálculos. A tabela 2.5 apresenta a comparação do desvio entre estes dados através do desvio quadrático médio (DQM) (Equação 1.1).

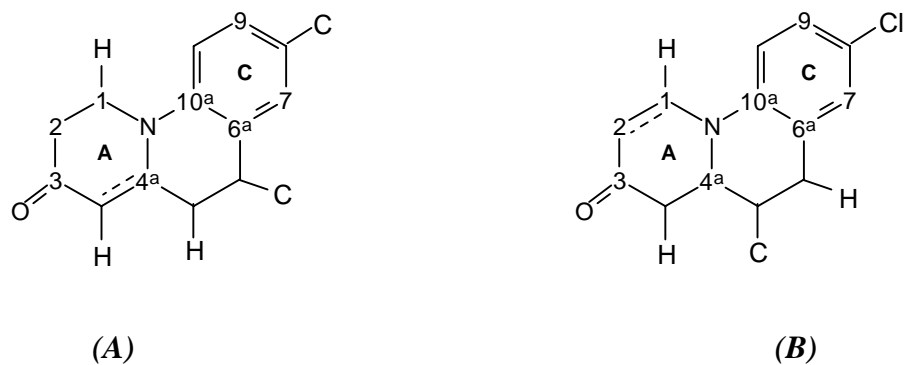


Figura 2.5 – Numeração dos átomos adotada nas tabelas 2.2, 2.3 e 2.4. (A) molécula 1H42 e (B) molécula 4aH27.

Tabela 2.2 - Comprimentos de ligação teoricamente obtidos para as moléculas 1H42 e 4aH27.

Átomos	Comprimentos de Ligação (Å)					
	1H42			4aH27		
	6-31G	PM3	AM1	6-31G	PM3	AM1
1-2	1,523	1,52	1,525	1,388	1,344	1,355
2-3	1,515	1,515	1,505	1,462	1,471	1,459
3-4	1,457	1,471	1,454	1,518	1,513	1,505
3-3O	1,2	1,219	1,238	1,198	1,219	1,237
4-4a	1,346	1,353	1,365	1,529	1,529	1,532
4a-5	1,508	1,496	1,504	1,54	1,543	1,545
4a-11	1,377	1,428	1,393	1,467	1,497	1,467
5-6	1,533	1,526	1,522	1,538	1,53	1,525
6-6a	1,513	1,499	1,494	1,518	1,492	1,487
6a-7	1,308	1,393	1,393	1,392	1,397	1,398
7-8	1,393	1,394	1,397	1,379	1,389	1,394
8-9	1,383	1,396	1,398	1,386	1,394	1,398
9-10	1,388	1,386	1,389	1,38	1,387	1,389
10-10a	1,387	1,402	1,412	1,391	1,402	1,412
10a-11	1,414	1,441	1,409	1,418	1,454	1,422
11-1	1,458	1,491	1,449	1,375	1,424	1,395
5-5CH3	-	-	-	1,53	1,52	1,513
6-6CH3	1,535	1,522	1,517	-	-	-

Tabela 2.3 - Ângulos de ligação teoricamente obtidos para as moléculas 1H42 e 4aH27.

Ângulos de Ligação (graus)						
Átomos	1H42			4aH27		
	6-31G	PM3	AM1	6-31G	PM3	AM1
1-2-3	111,96	111,17	113,14	120,37	121,62	121,19
2-3-4	114,15	116,25	115,25	114,18	115,79	114,78
2-3-3o	121,82	121,58	121,19	123,99	122,46	123,63
3-4-4a	122,33	122,82	122,51	113,74	113,76	114,3
4-4a-5	121,04	120,45	119,03	116,82	112,85	113,01
4-4a-11	123,07	120,58	122,3	109,45	111,17	112,4
4a-5-6	111,07	113,63	113,26	107,45	109,73	108,84
5-6-6a	106,87	110,35	110,25	114,35	114,54	114,35
6-6a-7	122,06	119,67	120,09	119,88	118,38	118,41
6-6a-10a	118,46	120,61	119,94	121,5	122,43	121,99
6a-7-8	122,41	120,79	121,22	120,62	119,98	120,42
7-8-9	117,3	119,31	118,78	120,82	120,96	120,35
8-9-10	121,49	120,52	121,12	118,91	119,49	119,84
9-10-10a	120,54	120,35	120,4	120,69	120,02	120,56
10-10a-11	121,87	121,05	121,74	120,12	118,61	119,81
10a-11-1	119,63	117,94	119,36	118,52	114,66	117,06
10a-11-4a	120,98	118,61	120,31	115,24	114,15	115,05
4a-5-5CH3	-	-	-	114,02	111,54	112,29
5-6-6CH3	112,68	111,7	111,29	-	-	-
7-8-8CH3	120,83	120,47	120,87	-	-	-

Tabela 2.4 – Ângulos diedrais teoricamente obtidos para as moléculas 1H42 e 4aH27.

Átomos	Ângulos Diedrais (graus)					
	1H42			4aH27		
	6-31G	PM3	AM1	6-31G	PM3	AM1
1-2-3-4	-34,99	-29,99	-32,98	-9,54	-13,07	-14,68
1-2-3-3o	174,63	151,22	149,58	173,59	168,53	167,77
2-3-4-4a	7,28	4,35	11,98	35,88	34,82	35,34
3-4-4a-5	-174,61	-180,96	-179,33	73,3	78,98	83,07
3-4-4a-11	6,21	-2,11	1,43	-49,96	-46,35	-44,38
4-4 ^a -5-6	140,81	150,1	149,7	172,48	175,12	172,45
4-4 ^a -11-1	10,84	26,9	8,47	39,69	38,01	33,18
4a-5-6-6a	57,2	46,54	46,56	39,07	38,97	39,41
5-6-6a-10a	-36,55	-31,98	-31,38	-8,59	-10,48	-10,87
5-6-6a-7	141,28	148,4	148,33	172,7	188,92	170,37
6-6 ^a -7-8	-177,63	-180,7	-179,5	179,48	178,21	179,11
6-6a-10a-11	-3,75	-3,14	-2,36	0,67	0,33	-0,92
7-8-9-10	-0,75	0,1	-0,41	-0,2	0,32	0,02
8-9-10-10a	-0,66	0,13	-0,67	1,22	0,16	0,16
9-10-10a-11	-178,11	-176,32	-177,68	-180,39	-178,75	-178,09
10-10a-11-1	11,62	-13,9	7,72	-60,25	-62,64	-55,91
4-4a-5-5CH3	-	-	-	50,06	53,93	51,35
4a-5-6-6CH3	-67,01	-76,74	-77,08	-	-	-
6a-7-8-8CH3	-178,42	-179,32	-179,09	-	-	-

Tabela 2.5 – Desvio Quadrático Médio (Eq. 1.1) dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedrais calculado para as moléculas 1H42 e 4aH27, comparando os resultados *ab initio* e semiempíricos .

Desvio quadrático médio				
Molécula		Comprimento de Ligação	Ângulo de Ligação	Ângulo Diedral
1H42	6-31G/AM1	0,128	1,928	10,873
	6-31G/PM3	0,134	2,451	14,625
4aH27	6-31G/AM1	0,023	2,013	5,715
	6-31G/PM3	0,029	2,603	6,851

Observando os dados das tabelas 2.2, 2.3, 2.4 podemos notar que existe uma boa concordância entre as geometrias *ab initio* e semiempíricas. Isso é claramente confirmado pelos desvios entre os dados, apresentados na tabela 2.5.

Apesar das geometrias obtidas com o método AM1 serem ligeiramente melhores, mostrando uma maior concordância com as geometrias *ab initio*, sua superioridade com relação aos resultados PM3 é tão pequena que não justificaria descartar o método PM3.

Favorecidos pela baixa complexidade das estruturas geométricas dos BENZO, e observando a pequena discordância entre dados PM3 e AM1 optamos por otimizar as geometrias dos demais compostos e calcular suas propriedades características utilizando os dois métodos.

Esta abordagem de investigarmos os BENZO com os dois métodos paralelamente também nos permitiu analisar o quanto o resultado final da análise de atividade biológica (através da metodologia de índices eletrônicos) seria influenciado pela escolha de um método semiempírico específico.

O conjunto de BENZO estudado apresenta uma grande gama de valores de atividade, com o índice experimental de atividade IC_{50} variando de 7.6 à 9100 (nM) (Tabela 2.1). Consideramos para este estudo, inicialmente, as moléculas divididas em dois grupos de acordo com sua atividade biológica:

- grupos dos ativos contendo os compostos cujos valores de IC_{50} são inferiores a 1000nM,
- grupo dos inativos contendo aqueles com IC_{50} maiores que 1000nM.

Nesta próxima seção os compostos do GC são avaliados pela metodologia de índices eletrônicos.

2.2.2 – GRUPO DE CONTROLE - Investigação da Atividade Biológica dos BENZO Através da Metodologia de Índices Eletrônicos – MIE

Iniciamos a investigação da correlação entre a atividade inibidora dos BENZO e seus descritores teóricos através da MIE e seus descritores eletrônicos moleculares.

Uma vez otimizadas as geometrias dos 23 compostos separadamente para os métodos semiempíricos AM1 e PM3, calculamos os parâmetros eletrônicos Δ e η (vide Apêndice A para detalhes).

Investigando a contribuição dos átomos na formação dos orbitais moleculares, o parâmetro eletrônico η foi calculado para o esqueleto molecular dividido em 4 regiões (Figura 2.6):

- o anel A do esqueleto molecular (*Região 1*),
- o átomo de Nitrogênio N11 (*Região 2*),
- o átomo de carbono C4a (*Região 3*),
- o anel C do esqueleto molecular (*Região 4*).

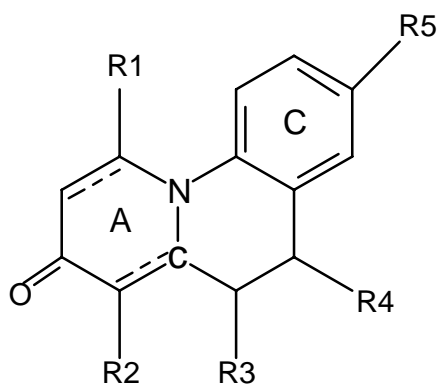


Figura 2.6 – Divisão das regiões dos BENZO para as quais η foi calculado separadamente.

Os anéis A e C foram selecionados por representarem as regiões do carço molecular mais expostas à reações bioquímicas. O átomo de Nitrogênio N11, por ser o único heteroátomo do esqueleto molecular e por sua característica nucleofílica dentro do esqueleto, foi analisado separadamente. Já a escolha do Carbono C4a como sendo uma região de interesse deve-se ao fato de que no processo de transformação da T (Figura 2.1) na DT (Figura 2.2), é neste sítio do esqueleto molecular que ocorre o processo de redução química. Este átomo foi selecionado de modo a se avaliar se haveria alguma relação tipo mimética da T na atuação das BENZO.

Uma vez selecionadas as regiões, coletamos os parâmetros eletrônicos da MIE:

- energias do último orbital ocupado HOMO, do primeiro desocupado LUMO e de seus primeiro vizinhos (HOMO-1 e LUMO+1),
- diferença entre as energias dos orbitais: $\Delta H = \text{HOMO} - \text{HOMO} - 1$ e $\Delta L = \text{LUMO} + 1 - \text{LUMO}$,
- a densidade local de estados (LDOS) para os estados acima citados, calculada para as regiões moleculares 1, 2, 3 e 4 selecionadas (C(H), C(H-1) e C(L), C(L+1)),
- diferenças entre as LDOS para as regiões citadas acima ($\eta H = [C(H) - C(H-1)]$, e $\eta L = [C(L+1) - C(L)]$),

Uma primeira análise destes parâmetros mostrou que, como no caso dos taxóides, aqueles relacionados com os orbitais HOMO e HOMO-1 apresentavam maior correlação com os dados experimentais de atividade.

As tabelas 2.6 apresentam os valores da diferença entre as energias dos orbitais (ΔH), e a diferença entre as LDOS para a formação destes orbitais (ηH) sobre as regiões moleculares, calculadas com os métodos AM1 e PM3.

Observando cuidadosamente ηH para as 4 regiões, os valores das energias dos orbitais de fronteira e a diferença entre eles, foi possível correlacionar a atividade inibidora dos BENZO com parâmetros correspondentes a 3 das 4 regiões moleculares investigadas.

Nas duas tabelas abaixo as moléculas estão ordenadas considerando a ordem decrescente da atividade experimental (ordem crescente de IC_{50}).

Observando os valores das variáveis eletrônicas frente ao índice biológico, tanto para o cálculo AM1 quanto para o PM3, podemos definir os valores críticos ΔH_c e ηH_c (Apêndice A) de separação de atividade para 3 regiões moleculares.

Tabela 2.6 - Variáveis eletrônicas aplicadas na MIE calculadas com os métodos AM1 e PM3: ΔH e ηH calculado para as 4 regiões (Rn) estudadas (Figura 2.6).

AM1							PM3						
Moléculas	IC ₅₀ (nM)	ΔH	ηH_{R1}	ηH_{R2}	ηH_{R3}	ηH_{R4}	Moléculas	IC ₅₀ (nM)	ΔH	ηH_{R1}	ηH_{R2}	ηH_{R3}	ηH_{R4}
1H-40	7,6	1,374	0,513	0,534	0,005	-0,333	1H-40	7,6	1,299	0,506	0,635	-0,006	-0,083
1H-47	8,5	1,395	0,504	0,535	0,004	-0,327	1H-47	8,5	1,304	0,437	0,643	-0,016	-0,001
1H-42	14,3	1,435	0,633	0,535	0,011	-0,551	1H-42	14,3	1,432	0,982	0,708	0,027	-0,935
1H-43	14,4	1,446	0,369	0,526	-0,018	-0,224	1H-43	14,4	1,363	0,325	0,573	-0,032	0,116
1H-45	15,6	1,264	0,391	0,533	-0,004	-0,213	1H-45	15,6	1,119	0,417	0,639	-0,011	-0,053
1H-46	15,8	1,408	0,524	0,535	0,006	-0,410	1H-46	15,8	1,420	0,656	0,716	-0,005	-0,539
1H-39	20	1,382	0,561	0,535	0,009	-0,436	1H-39	20	1,395	0,776	0,699	0,011	-0,656
1H-37	49	1,419	0,440	0,526	-0,010	-0,297	1H-37	49	1,329	0,368	0,572	-0,024	0,039
4aH-24	137	1,121	0,880	0,536	0,041	-0,804	4aH-24	137	1,097	1,131	0,746	0,043	-1,045
4aH-26	141	1,119	0,631	0,508	0,017	-0,529	4aH-26	141	0,969	0,561	0,555	0,003	-0,179
4aH-20	176	1,116	0,874	0,531	0,041	-0,801	4aH-20	176	1,066	1,106	0,735	0,041	-1,021
1H-38	185	1,391	0,876	0,562	0,035	-0,774	1H-38	185	1,374	1,078	0,738	0,032	-0,985
4aH-29	188	1,187	0,611	0,509	0,016	-0,504	4aH-29	188	1,006	0,601	0,573	0,005	-0,181
1H-44	204	1,372	0,431	0,539	-0,009	-0,283	1H-44	204	1,169	0,429	0,600	-0,013	-0,041
1H-35	298	1,346	0,985	0,581	0,046	-0,870	1H-35	298	1,304	1,155	0,753	0,041	-1,051
4aH-25	312	1,073	0,866	0,531	0,039	-0,790	4aH-25	312	1,035	1,094	0,733	0,038	-1,011
1H-41	346	1,425	0,459	0,531	-0,009	-0,317	1H-41	346	1,332	0,377	0,572	-0,024	0,028
1H-36	376	1,399	0,691	0,535	0,018	-0,590	1H-36	376	1,362	0,976	0,702	0,027	-0,890
4aH-21	459	1,167	0,646	0,511	0,0189	-0,547	4aH-21	459	0,999	0,590	0,567	0,005	-0,193
4aH-22	2700	1,073	1,159	0,604	0,065	-1,059	4aH-22	2700	1,062	1,357	0,820	0,059	-1,257
4aH-23	4300	1,022	1,151	0,602	0,061	-1,050	4aH-23	4300	0,998	1,337	0,814	0,053	-1,238
4aH-19	5130	1,066	1,154	0,600	0,063	-1,056	4aH-19	5130	1,031	1,348	0,814	0,057	-1,248
4aH-27	9100	1,151	0,656	0,512	0,020	-0,551	4aH-27	9100	1,006	0,637	0,585	0,008	-0,231

Valores Críticos:

AM1		PM3
$\Delta H_c = 1,1$		$\Delta H_c = 1$

REGIÃO 1

AM1		PM3
$\eta H_c = 1$		$\eta H_c = 1,2$

REGIÃO 2

AM1		PM3
$\eta H_c = 0,6$		$\eta H_c = 0,8$

REGIÃO 4

AM1		PM3
$\eta H_c = -1$		$\eta H_c = -1,1$

Já de início podemos observar que os valores dos parâmetros críticos diferem muito pouco (da ordem de 0,1) quando calculados com os dois métodos semiempíricos. Este é um resultado muito positivo, pois indica a independência dos resultados da MIE com relação ao método semiempírico utilizado no cálculo dos parâmetros eletrônicos. Não podemos afirmar *a priori* que para todos os compostos químicos que se desejar estudar este comportamento de independência se repetirá, mas com certeza podemos propor que isso será verdadeiro para compostos pequenos e pouco flexíveis.

No caso dos BENZO cada um dos dois parâmetros eletrônicos (ΔH e ηH) se mostrou capaz de separar, isoladamente, as moléculas quanto à sua atividade biológica. Desta forma, para classificação dos BENZO quanto à atividade, quatro regras envolvendo apenas um parâmetro puderam ser construídas.

Regras de classificação de atividade:

AM1	PM3
$\Delta H \geq 1,1 \Rightarrow$ Ativo (A)	$\Delta H \geq 1 \Rightarrow$ Ativo (A)

REGIÃO 1

AM1	PM3
$\eta_H < 1 \Rightarrow$ Ativo (A)	$\eta_H < 1,2 \Rightarrow$ Ativo (A)

REGIÃO 2

AM1	PM3
$\eta_H < 0,6 \Rightarrow$ Ativo (A)	$\eta_H < 0,8 \Rightarrow$ Ativo (A)

REGIÃO 4

AM1	PM3
$\eta_H > -1 \Rightarrow$ Ativo (A)	$\eta_H > -1,1 \Rightarrow$ Ativo (A)

Nas tabelas 2.7 apresentamos resumidamente o resultado da aplicação destas regras, observando os valores dos parâmetros apresentados nas tabelas 2.6

Como pode ser observado nas tabelas abaixo, as regras obtidas para os parâmetros eletrônicos isolados apresentam poucos erros na predição da atividade biológica dos compostos (variando de 1 a 3 erros - células em cinza na tabela 2.7). De um modo geral as regras obtidas com o método AM1 apresentam mais acertos, e as regras para ΔH apresentam o menor índice de acertos.

Os parâmetros η_H para as três regiões (R1, R2, e R4) classificaram os 23 compostos apresentando apenas 1 erro (composto inativo 4aH27). Em termos estatísticos isso representa o excelente índice de 96% de acerto na reprodução da atividade experimental.

Tabela 2.7 - Classificação dos BENZO de acordo com as regras da MIE para Δ e para η referente a 3 regiões moleculares (Rn). A atividade biológica experimental dos compostos está representada por sua classificação qualitativa (A.Q.) como ativa (A) ou inativa (I).

AM1					
Moléculas (A.Q.)	ΔH	ηH_{R1}	ηH_{R2}	ηH_{R4}	
1H-40	A	A	A	A	A
1H-47	A	A	A	A	A
1H-42	A	A	A	A	A
1H-43	A	A	A	A	A
1H-45	A	A	A	A	A
1H-46	A	A	A	A	A
1H-39	A	A	A	A	A
1H-37	A	A	A	A	A
4aH-24	A	A	A	A	A
4aH-26	A	A	A	A	A
4aH-20	A	A	A	A	A
1H-38	A	A	A	A	A
4aH-29	A	A	A	A	A
1H-44	A	A	A	A	A
1H-35	A	A	A	A	A
4aH-25	A	I	A	A	A
1H-41	A	A	A	A	A
1H-36	A	A	A	A	A
4aH-21	A	A	A	A	A
4aH-22	I	I	I	I	I
4aH-23	I	I	I	I	I
4aH-19	I	I	I	I	I
4aH-27	I	A	A	A	A

PM3					
Moléculas (A.Q.)	ΔH	ηH_{R1}	ηH_{R2}	ηH_{R4}	
1H-40	A	A	A	A	A
1H-47	A	A	A	A	A
1H-42	A	A	A	A	A
1H-43	A	A	A	A	A
1H-45	A	A	A	A	A
1H-46	A	A	A	A	A
1H-39	A	A	A	A	A
1H-37	A	A	A	A	A
4aH-24	A	A	A	A	A
4aH-26	A	I	A	A	A
4aH-20	A	A	A	A	A
1H-38	A	A	A	A	A
4aH-29	A	I	A	A	A
1H-44	A	A	A	A	A
1H-35	A	A	A	A	A
4aH-25	A	A	A	A	A
1H-41	A	A	A	A	A
1H-36	A	A	A	A	A
4aH-21	A	I	A	A	A
4aH-22	I	I	I	I	I
4aH-23	I	I	I	I	I
4aH-19	I	I	I	I	I
4aH-27	I	I	A	A	A

A MIE, como uma ferramenta de análise qualitativa de atividade (ativo ou inativo), não foi inicialmente estabelecida com a pretensão de qualificar os compostos quanto à intensidade de sua atividade. No estudo dos BENZO, no entanto, pudemos observar que os parâmetros eletrônicos podem nos dar uma indicação de quão ativo um composto pode ser. Analisando mais atentamente os dados das tabelas 2.6 podemos observar padrões mais refinados de diferenciação dos compostos com uma indicação da potência de atividade dos mesmos. Para que esta nova análise fique mais clara consideremos os BENZO divididos não mais em duas classes de atividade, mas em três:

- a classe dos compostos muito ativos (+A), composta de moléculas com $IC_{50} < 100$,
- a classe dos compostos moderadamente ativos (A), composta de moléculas com $100 > IC_{50} < 1000$,
- a classe dos compostos inativos (I), composta de moléculas com $IC_{50} > 1000$.

Os descritores eletrônicos nos permitem diferenciar estas três classes de atividade através de regras similares às construídas na MIE. Para o descritor ΔH temos:

AM1	PM3
+A => $\Delta H > 1,3$	+A => $\Delta H \geq 1,3$
A => $1,1 \leq \Delta H \leq 1,3$	A => $1 < \Delta H < 1,3$
I => $\Delta H < 1,1$	I => $\Delta H \leq 1,0$

Se observarmos agora apenas os valores de ηH , para as regiões 1 e 4 teremos:

REGIÃO 1

AM1	PM3
+A => $\eta H < 0,6$	+A => $\eta H < 0,7$
A => $0,6 \leq \eta H < 1,0$	A => $0,7 \leq \eta H < 1,3$
I => $\eta H > 1,0$	I => $\eta H > 1,3$

REGIÃO 4

AM1	PM3
+A => $\eta H > -0,5$	+A => $\eta H > -0,7$
A => $-1,0 < \eta H \leq -0,5$	A => $-1,1 \leq \eta H < 0,7$
I => $\eta H \leq -1,0$	I => $\eta H \leq -1,1$

Estes novos resultados de potência de atividade, apesar de não serem o alvo principal de nossa investigação, vieram enriquecer as conclusões deste trabalho.

Mais uma vez observamos o grande potencial dos parâmetros eletrônicos da MIE no estudo da atividade biológica de fármacos. Além da capacidade de classificação dos compostos num sistema binário de atividade (ativo ou inativo), os parâmetros eletrônicos parecem abarcar informações mais complexas para o conjunto dos BENZO.

Avaliamos estes resultados na próxima seção. Incorporando ao nosso estudo novos descritores teóricos, investigamos a correlação entre atividade biológica e parâmetros teóricos também através das técnicas de análise de componentes principais e análise hierárquica de clusters.

2.2.3 – GRUPO DE CONTROLE - Investigação da Atividade Biológica dos BENZO Através da Análise de Componentes Principais – PCA e Análise Hierárquica de Clusters – HCA.

As metodologias PCA e HCA, aqui utilizadas para o estudo da correlação entre descritores teóricos e a atividade biológica dos BENZO, como discutido no Apêndice A, reúnem dentro da mesma análise dezenas de parâmetros.

Para o estudo realizado com essas metodologias consideramos apenas parâmetros calculados com o método AM1 dentro do programa Einsigth²⁰. Como discutido na seção anterior, os valores dos descritores teóricos para os BENZO não sofrem grandes mudanças quando calculados com os métodos semiempíricos AM1 e PM3, o que nos permite realizar o estudo com apenas um deles. Selecionamos o método AM1 para dar seqüência à investigação por sua ligeira superioridade na otimização geométrica dos BENZO e no número de acertos obtidos com a MIE.

Iniciamos nossa investigação dos 23 BENZO do GC com 39 descritores. Dentro deste conjunto, estão os descritores da MIE (seção 2.2.2) e as características físico-químicas e estereoquímicas:

- dureza, aproximada pela expressão $HD=(LUMO-HOMO)/2$,
- eletronegatividade de Mulliken, aproximada pela expressão $\chi=(HOMO+LUMO)/2$,
- momento de dipolo,
- refratividade,
- polarizabilidade,
- volume,
- massa,
- calor de formação,
- coeficiente de partição molecular octanol-água ($\log P$).

Considerando a atividade biológica dos compostos, e inúmeras combinações dos parâmetros acima, foi possível separar os BENZO em três subconjuntos na avaliação da PCA. De todas as combinações de descritores obtidas na classificação dos compostos, apresentamos 3 conjuntos que exemplificam muito bem todos os nossos resultados:

- Conjunto A: formado pelos descritores ΔH , η_{H_R1} , η_{H_R3} , volume e eletronegatividade de Mulliken (Figura 2.7),
- Conjunto B: formado pelos descritores ΔH , η_{H_R1} , momento de dipolo, volume e eletronegatividade de Mulliken (Figura 2.8),
- Conjunto C: formado pelos descritores $C(H-1)_R3$, $C(H-1)_R4$, calor de formação, dureza e η_{H_R3} (Figura 2.9).

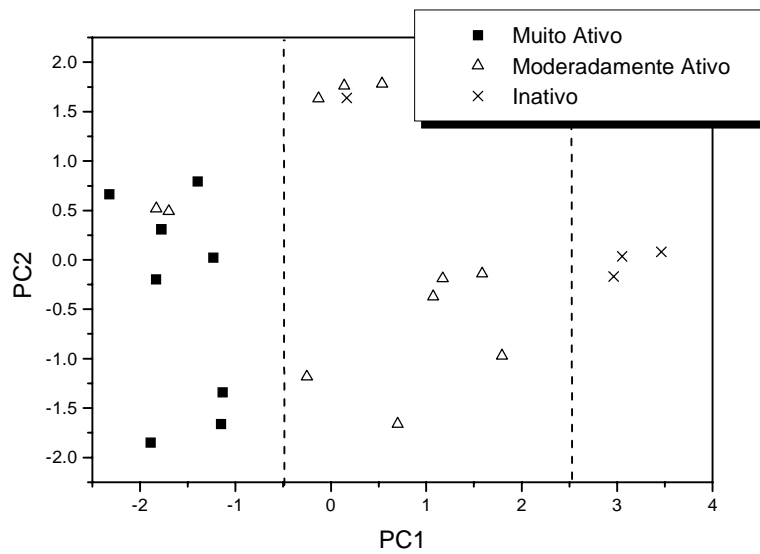


Figura 2.7 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos quanto à atividade biológica, segundo as variáveis do conjunto A.

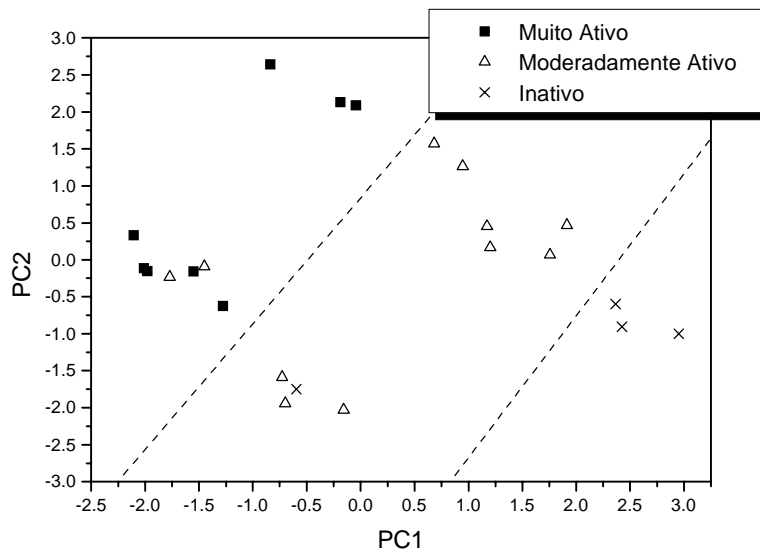


Figura 2.8 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos quanto à atividade biológica, segundo as variáveis do conjunto B.

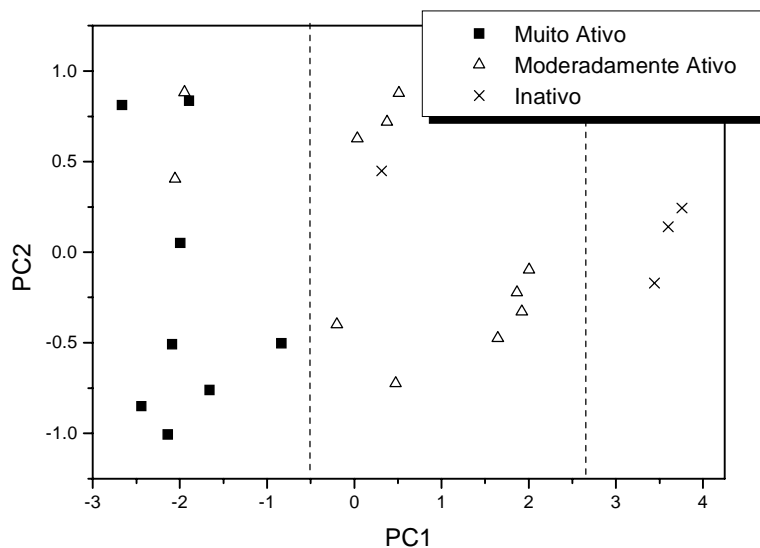


Figura 2.9 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos quanto à atividade biológica, segundo as variáveis do conjunto C.

As três figuras acima mostram a separação dos BENZO do GC segundo sua atividade inibidora da 5AR. Para os três resultados apresentados, os eixos PC1 e PC2 são descritos pelos parâmetros teóricos de acordo com as seguintes equações:

- Conjunto A:

$$PC1 = -0,4569\Delta H + 0,5563\eta H_{R1} + 0,5564\eta H_{R3} - 0,4148vol. + 0,0047 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.1})$$

$$PC2 = -0,3532\Delta H - 0,1865\eta H_{R1} - 0,1612\eta H_{R3} - 0,0067vol. + 0,8999 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.2})$$

- Conjunto B:

$$PC1 = -0,3991\Delta H + 0,6123\eta H_{R1} + 0,4899\text{momento dipolo} - 0,4395vol - 0,1805 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.3})$$

$$PC2 = 0,4536\Delta H - 0,0897\eta H_{R1} + 0,4418\text{momento dipolo} + 0,2537vol - 0,7257\text{elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.4})$$

- Conjunto C:

$$PC1 = -0,4630 \text{ C(H-1)-R3} + 0,4638 \text{ C(H-1)-R4} + 0,4652 \eta_{\text{H-R3}} + 0,4198 \text{ calor de formação} + 0,4217 \text{ dureza} \quad (\text{Eq. 2.5})$$

$$PC2 = 0,3958 \text{ C(H-1)-R3} - 0,2281 \text{ C(H-1)-R4} - 0,3939 \eta_{\text{H-R3}} + 0,6153 \text{ calor de formação} + 0,5074 \text{ dureza} \quad (\text{Eq. 2.6})$$

Para o conjunto *A*, os eixos PC1 e PC2 acumulam 85% da variância do sistema, para o conjunto *B* acumulam 83%, e para o conjunto *C* acumulam 93% .

Nos conjuntos *A* e *C*, os compostos estão separados em grupos que se distanciam em linhas verticais, indicando que o eixo PC1 é o responsável pela separação encontrada. No conjunto *A*, as maiores contribuições para a formação do eixo PC1 e, portanto para a separação, são dadas por $\eta_{\text{H-R1}}$ e $\eta_{\text{H-R3}}$, seguidas por ΔH e pelo volume. Na separação *C* nenhum parâmetro se destaca para a formação do eixo PC1.

Já para o conjunto de parâmetros *B*, a divisão entre os grupos de diferentes atividades é dada por linhas diagonais, indicando que ambos os eixos (PC1 e PC2) são responsáveis pela classificação. Neste caso, como no grupo *C*, todos os parâmetros contribuem para o resultado obtido.

Para todos os resultados observamos que as moléculas estão separadas não somente quanto à sua atividade (ativo ou inativo), mas também quanto à intensidade de atividade (muito ativo ou moderadamente ativo). Esta separação equivale exatamente à observada, em caráter exploratório, para os parâmetros eletrônicos isolados na MIE.

Para os três conjuntos de parâmetros observamos que 3 moléculas não estão classificadas corretamente quanto à sua atividade. São elas 1H-41 e 1H-44 que possuem atividade média e estão aqui classificadas com uma atividade ótima, e a 4aH-27 que é inativa e está aqui classificada com atividade média. É importante observar que, para as duas moléculas ativas, o erro ocorre na intensidade de atividade, mas não na classificação de atividade. Este resultado equivale a um acerto de 87% na separação das moléculas quanto a sua atividade.

O resultado da HCA (Apêndice A para detalhes), construído com base na distribuição dos compostos no espaço das componentes principais, nos mostra mais claramente como estes grupos se aglutinam e a similaridade existente entre eles.

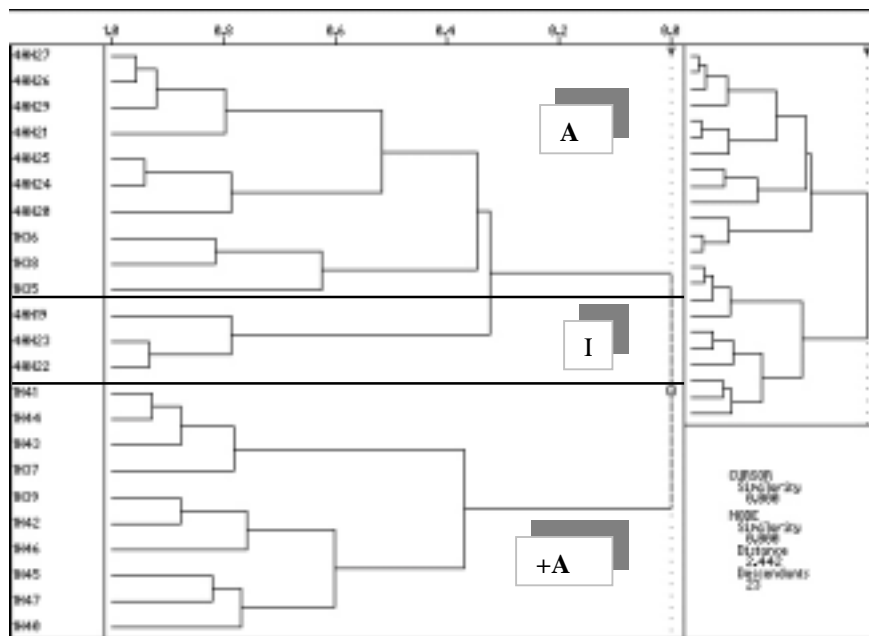


Figura 2.10 - Resultados da análise de HCA. Gráfico de separação dos compostos em agrupamentos, segundo as variáveis do conjunto A.

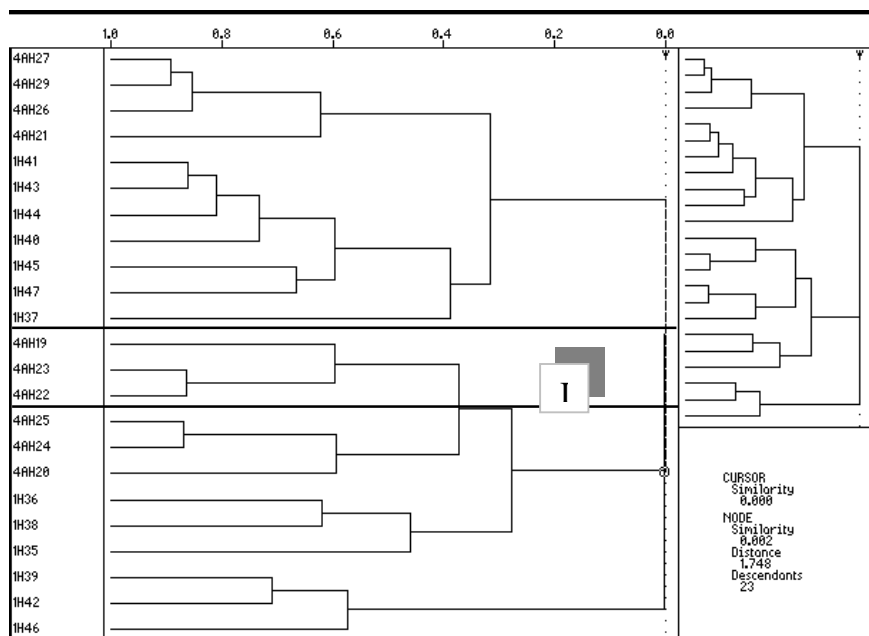


Figura 2.11 - Resultados da análise de HCA. Gráfico de separação dos compostos em agrupamentos, segundo as variáveis do conjunto B.

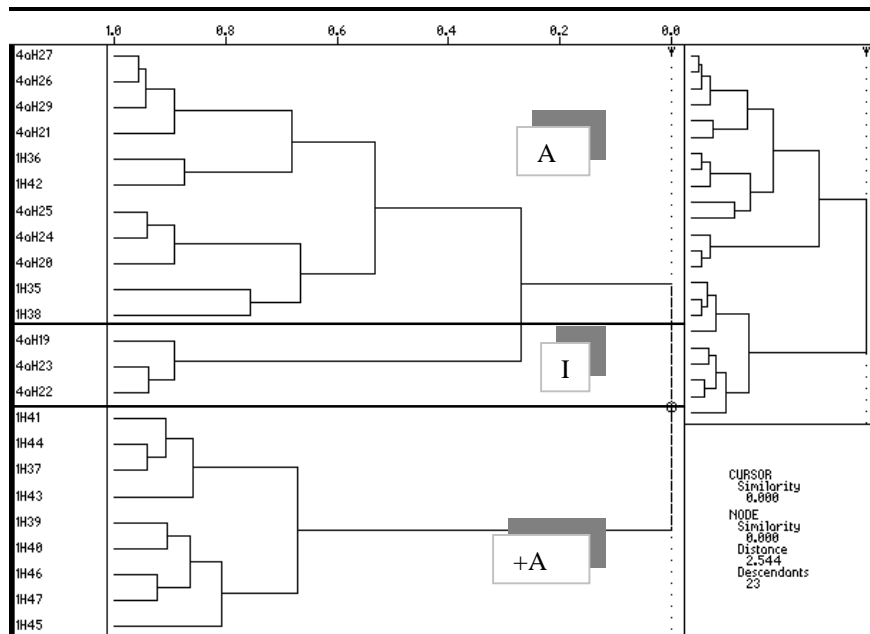


Figura 2.12 - Resultados da análise de HCA. Gráfico de separação dos compostos em agrupamentos, segundo as variáveis do conjunto C.

Na figura 2.10, para o conjunto A, temos a formação de três clusters separando os compostos inativos (I), com atividade moderada (A) e ótima (+A). O grupo de inativos apresenta uma similaridade de 0,32 com o dos moderadamente ativos e os compostos 4AH-27, 1H-44 e 1H-41 estão classificados incorretamente.

Para o conjunto B, figura 2.11, vemos também três clusters principais, mas que não correspondem diretamente aos grupos de atividade dos compostos. Ainda assim, podemos observar a separação do grupo de inativos (I). Os outros dois clusters misturam compostos ativos com intensidades de atividade diferentes.

Por fim no conjunto C, figura 2.12, temos novamente os três clusters agora bem definidos e relacionados com a atividade dos compostos. Neste caso o grupo de inativos (I) apresenta uma similaridade de 0,27 com o grupo dos moderadamente ativos (A), e os compostos 4AH-27, 1H-42, 1H-44 e 1H-41 são classificados em clusters errados.

Para a análise HCA temos um erro médio de 4 compostos em 23 na classificação da atividade.

Para os três conjuntos de parâmetros (A, B e C) as análises PCA e HCA alcançaram acertos de 96 e 83 % na classificação de atividade biológica.

Estas combinações de parâmetros foram selecionadas entre dezenas de outras por apresentarem os melhores resultados. Podemos observar que todas possuem parâmetros eletrônicos e que estes muitas vezes são isoladamente os que mais contribuem para a formação dos eixos PC1 e PC2.

Esta é uma indicação da relevância dos descritores eletrônicos na classificação da atividade biológica dos compostos.

Na figura 2.13 apresentamos um resultado típico da classificação dos BENZO onde os descritores eletrônicos da MIE não foram considerados. No conjunto de parâmetros responsável por este resultado estão presentes a polarizabilidade (polariz), refatividade (refrat), dureza e eletronegatividade de Mulliken, contribuindo para a formação dos eixos principais de acordo com as equações:

$$PC1 = 0,5955 \text{ polariz} + 0,6266 \text{ refrat} - 0,4705 \text{ dureza} - 0,1771 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.7})$$

$$PC2 = 0,3295 \text{ polariz} + 0,2116 \text{ refrat} + 0,3839 \text{ dureza} + 0,8362 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.8})$$

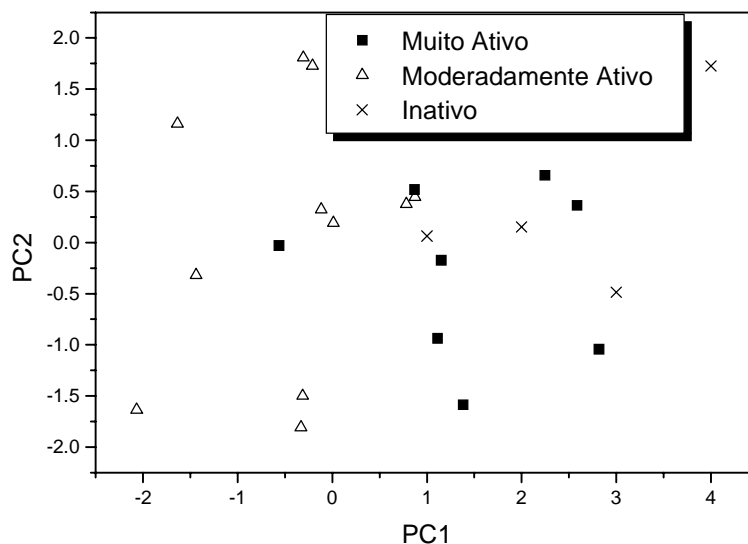


Figura 2.13 - Resultados da análise de PCA. Gráfico de separação dos compostos desconsiderando os descritores eletrônicos da MIE.

Como pode ser observado na figura, as moléculas mais ativas e moderadamente ativas mostram sinais de separação, mas as inativas estão completamente misturadas dentro do grupo de maior atividade. O plano PC1xPC2 construído é responsável por 87.5% da variância do sistema.

Os padrões e regras de separação de atividades construídos na primeira parte do nosso estudo para o GC pode ser utilizado no estudo de atividade de novos BENZO.

Nas próximas seções propomos a atividade biológica dos compostos do GT baseados nos resultados encontrados até aqui.

2.2.4 – GRUPO DE TESTE - Previsão da Atividade Biológica dos BENZO Através da Metodologia de Índices Eletrônicos – MIE.

As moléculas que compõem este grupo não foram ainda testadas experimentalmente quanto à sua atividade biológica. Na literatura, elas são comparadas aos compostos tipo 19-nor-10-azaesteróides¹³ (19NAZ, Figura 2.14), testados para a inibição das enzimas 5AR1 e 5AR2.

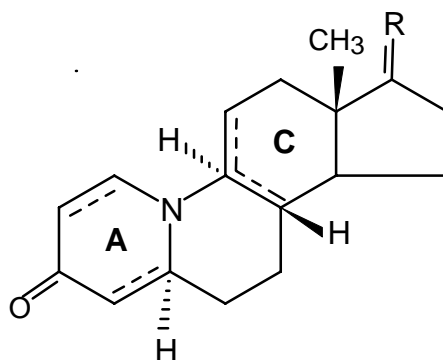


Figura 2.14 - Estrutura básica dos 19-nor-10-azaesteróides.

Dois derivados dos 19NAZ investigados experimentalmente, contendo o anel A saturado, apresentaram em seus testes de atividade biológica valores superiores a 100.000nM para o índice de inibição IC₅₀. Este resultado levou à interpretação de que para os compostos 19NAZ uma insaturação no anel A seria uma característica fundamental para a atividade biológica¹³. Isto sugeriu que a inatividade devido à ausência de insaturações no

anel A deveria também ser observada nos derivados das BENZO, o que significaria que todos os compostos do **GT** deveriam apresentar IC_{50} maiores que 100.000nM e seriam completamente inativos.

No entanto, o composto 8 derivado do BENZO (Tabela 2.1) é um contra-exemplo para esta sugestão experimental inicial. Apresentando o anel A completamente saturado, o composto apresentou IC_{50} igual 478nM em medição experimental¹⁷. Este índice é comparável ao dos compostos 4AH25 (312nM), 1H41 (346nM), 1H36 (376nM) e 4AH21 (459nM) do **GC**, sendo muito inferior ao obtido para os derivados das 19NAZ. De acordo com a nossa divisão qualitativa de atividade o composto 8 deve ser classificado no grupo de atividade moderada ($100 > IC_{50} < 1.000$).

Este resultado e esta aparente contradição na interpretação dos resultados experimentais do **GT** reforçou nosso interesse no estudo destes compostos e nossa proposição de que eles podem apresentar atividade inibidora e não devem ser descartados sem prévia análise.

Outra observação que reforça nossa proposição de que existem diferenças no comportamento dos 19NAZ e dos BENZO é a dependência da atividade biológica com a conjugação do anel C. No caso dos derivados tipo 19NAZ¹³ a ausência de duplas ligações no anel C não afeta a potência de inibição da 5AR. Por outro lado, para os derivados BENZO apresentando um anel alifático observa-se uma forte queda no poder de inibição, tornando alguns compostos completamente inativos (Figura 2.15 e Tabela 2.8)²¹.



Figura 2.15 - Estrutura dos compostos 5 (A) e 7 (B), com o anel C saturado, citados na tabela 2.8.

Tabela 2.8 – Modificação na inibição dos derivados BENZO quando da presença de saturação no anel C.

Anel C saturado		Anel C insaturado	
Mol ²²	IC50 (nM)	Mol ¹⁷	IC50(nM)
5	20.000	4AH-10	5.130
7	4.780	1H-35	298

Além das evidências citadas acima outros estudos apresentam resultados que também indicam que a ausência de insaturações no anel A não necessariamente leva à inatividade do composto como inibidor da enzima 5AR. Para os 4-azaesteróides (4AZ) (Figura 2.16), com atividade inibidora da enzima 5AR1, nenhuma queda na inibição foi observada para compostos com o anel A saturado¹¹.

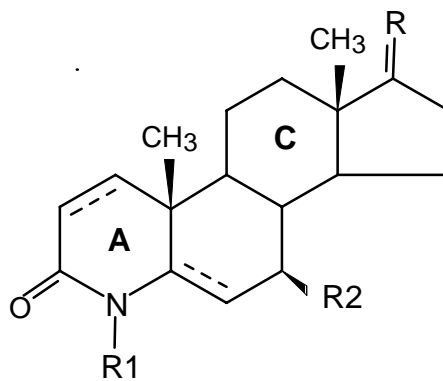
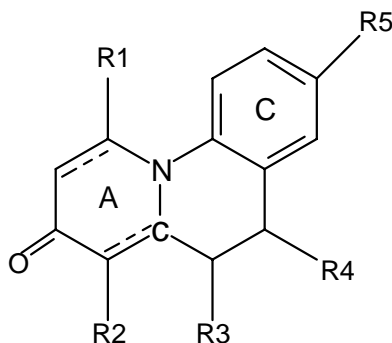


Figura 2.16 - Estrutura básica dos 4-azaesteróides.

Iniciamos a investigação de atividade dos compostos do **GT** utilizando as regras de maior acerto construídas para a MIE com os parâmetros do método AM1 (seção 2.2.1).

Para facilitar a leitura e a compreensão do raciocínio que leva às nossas conclusões, as regras da MIE utilizadas estão resumidamente apresentadas abaixo:

Regras de classificação de atividade:



AMI

REGIÃO 1 (anel A)	REGIÃO 2 (nitrogênio)	REGIÃO 4 (anel C)
$\eta_H < 1 \Rightarrow$ Ativo (A)	$\eta_H < 0,6 \Rightarrow$ Ativo (A)	$\eta_H > -1 \Rightarrow$ Ativo (A)

Em função do número de acertos obtidos para as regras envolvendo η_H , a região a ser avaliada tornou-se indiferente. Nossa escolha foi então observar simultaneamente os resultados de predição para os parâmetros das três regiões.

Na tabela 2.9 apresentamos os valores dos parâmetros η_H para as moléculas do GT. De um modo geral os valores obtidos demonstram uma forte relação com os dos compostos do GC. Observando cada um dos conjuntos de parâmetros separadamente segundo as regras acima, podemos classificar os compostos teste quanto à sua atividade.

Para facilitar a análise dos resultados, os compostos estão ordenados na tabela seguindo a ordem crescente de η_H .

Para o parâmetro η_{H_R1} todos os compostos apresentam valores inferiores a 1, sendo o maior valor (para o composto 5) igual a 0,711, o que indica que nenhum deles se encaixa no subconjunto dos compostos inativos.

Tabela 2.9 –Descritores ηH calculados para diferentes regiões dos compostos BENZO do GT.

Moléculas	ηH_{R1}	Moléculas	ηH_{R2}	Moléculas	ηH_{R4}
13	0,5127	13	0,4437	7	-0,5682
9	0,5321	7	0,4612	2	-0,5784
7	0,5330	9	0,4642	13	-0,5901
2	0,5400	2	0,4691	11	-0,6069
10	0,5410	10	0,4745	9	-0,6130
3	0,5426	3	0,4749	10	-0,6205
12	0,5500	12	0,4842	3	-0,6269
11	0,5590	11	0,4867	12	-0,6425
14	0,5650	14	0,5033	1	-0,6500
8	0,6040	8	0,5437	4	-0,6593
15	0,6330	15	0,5491	14	-0,6595
1	0,6360	6	0,5510	6	-0,6711
16	0,6370	17	0,5596	17	-0,6889
6	0,6380	18	0,5624	8	-0,6934
17	0,6473	1	0,5653	5	-0,6975
18	0,6477	16	0,5683	15	-0,7039
4	0,6571	4	0,5728	16	-0,7223
5	0,7110	5	0,6101	18	-0,7301

Este resultado, onde todos os compostos apresentam as características dos ativos, nos permite investigar a intensidade desta atividade observando mais atentamente os valores de ηH_{R1} e aplicando as regras mais refinadas de indicação da potência de atividade:

REGIÃO 1

+A => $\eta H < 0,6$

A => $0,6 \leq \eta H < 1,0$

I => $\eta H > 1,0$

REGIÃO 4

+A => $\eta H > -0,5$

A => $-1,0 < \eta H \leq -0,5$

I => $\eta H \leq -1,0$

De acordo com estas regras propomos que os compostos teste 2, 3, 7, 9, 10, 11, 12, 13 e 14 deverão apresentar $IC_{50} < 100nM$ enquanto para os demais o índice IC_{50} estará acima de $101nM$, mas se mantendo abaixo de $1.000nM$.

Para η_{H_R2} apenas o composto 5 possui valor acima de 0,6 sendo considerado inativo em nossa análise, e previsto para apresentar $IC_{50} > 1.000$ nM. Para os demais, todos ativos, não é possível, para este parâmetro, detectar se algum composto tende a apresentar uma atividade mais pronunciada.

Para η_{H_R4} todos os compostos apresentam valor maior que -1 e devem apresentar índices de atividade inferiores a 1.000nM. Para η_{H_R4} , no entanto não é possível identificar nenhum composto com atividade muito pronunciada.

O resultado de classificação de atividade dos compostos do **GT** (e principalmente da intensidade de atividade), segundo os parâmetros e regras da MIE, mantém características experimentais observadas para a otimização da atividade dos BENZO devido à inclusão de grupos ligantes em posições determinadas do esqueleto molecular¹⁷. Para as moléculas do **GC** observou-se que a inclusão de um grupo metil ou um átomo de cloro na posição 8 do esqueleto molecular fazia aumentar a atividade dos compostos. Este mesmo comportamento pode ser observado claramente na previsão da tabela 2.9, onde as moléculas estão ordenadas em ordem decrescente de atividade segundo os parâmetros da MIE. Verificamos em nossos resultados que o composto 2 (com grupo metil na posição 8) e 3 (com cloro na posição 8) deverão apresentar maior índice de inibição da enzima 5AR1 do que o composto 1 (com hidrogênio na posição 8). O mesmo deve ocorrer com os compostos 6 (com metil), 8 (com cloro) e 4 (com hidrogênio), e 7 (com metil), 9 (com cloro) e 5 (com hidrogênio).

Concluimos desta análise inicial com a MIE que, dos 18 compostos do **GT**, 9 deverão apresentar o índice experimental IC_{50} inferior a 100nM (compostos 2, 3, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14), 8 deverão apresentar $100 > IC_{50} < 1.000$ nM (compostos 1, 4, 6, 8, 15, 16, 17, 18) e apenas 1 deverá ser inativo com IC_{50} maior que 1.000nM (composto 5).

2.2.5 – GRUPO DE TESTE - Previsão da Atividade Biológica dos BENZO Através da Análise de Componentes Principais – PCA.

O comportamento de atividade do GT também foi investigado através da metodologia PCA. A metodologia PCA é classificada dentro da quimiometria como uma técnica exploratória e apresenta limitações em estudos de previsão. A aplicação da

metodologia nos estudos de simulação de atividade se resume em decidir se novos compostos possuem de um modo geral as características de outro grupo de compostos já conhecido.

No caso específico do nosso estudo gostaríamos de comprovar a semelhança em atividade das moléculas do **GT** e do **GC**. Para tal, os compostos teste devem ser projetados no espaço de componentes principais PC1 x PC2 (PC's de um modo geral) construído para os parâmetros selecionados pelo GC²².

Projetamos os novos compostos nos resultados PCA A e B apresentados na seção 2.2.3. Os resultados das projeções das novas moléculas nos espaço das componentes principais são apresentados nas figuras 2.17 e 2.18.

Em cada um destes gráficos projetamos os 43 compostos (23 do **GC** e 18 do **GT**) no espaço de componentes principais construído como combinação das variáveis que foram capazes de fazer a separação em atividade do grupo de controle isoladamente.

Podemos observar na figura 2.17 que os compostos teste se misturam com os do **GC**, mostrando maior afinidade com as moléculas ativas. Apenas a molécula 6 se aproxima da região ocupada por moléculas inativas, não chegando, porém, a fazer parte deste grupo.

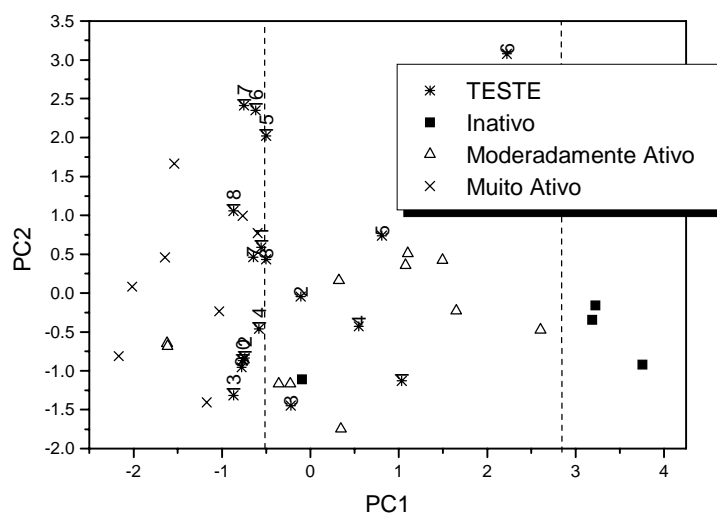


Figura 2.17 - Resultados da análise de PCA para as variáveis do conjunto A. Gráfico de separação dos compostos do GC e proposição de atividade para os compostos do GT.

A figura 2.18, para o conjunto de variáveis *B*, mostra o mesmo comportamento.

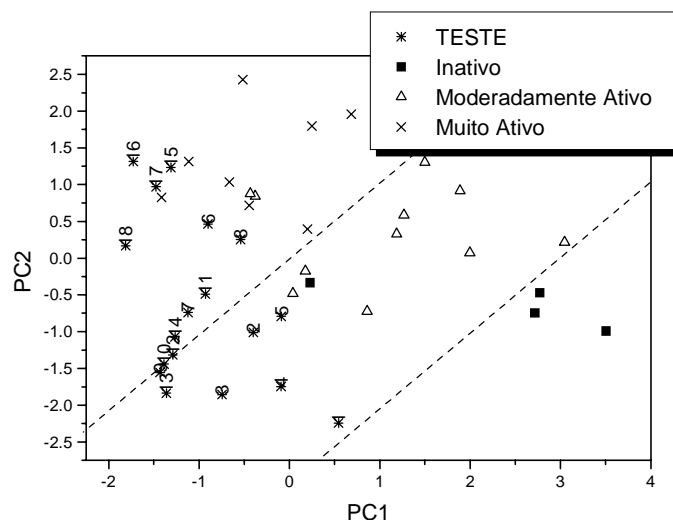


Figura 2.18 - Resultados da análise de PCA para as variáveis do conjunto B. Gráfico de separação dos compostos do GC e proposição de atividade para os compostos do GT.

Os eixos PC1 e PC2 acima são construídos de acordo com as equações:

- Conjunto A:

$$PC1 = -0,1661\Delta H + 0,63848\eta H_{R1} + 0,58586\eta H_{R3} - 0,4624vol. - 0,0875 \text{ elet. Mulliken.} \quad (\text{Eq. 2.9})$$

$$PC2 = 0,19659\Delta H + 0,0354\eta H_{R1} + 0,1612\eta H_{R3} - 0,50918vol. - 0,7806 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.10})$$

- Conjunto B:

$$PC1 = 0,10322\Delta H + 0,59088\eta H_{R1} + 0,5704 \text{ momento dipolo} - 0,5515vol. + 0,10287 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.11})$$

$$PC2 = 0,7587\Delta H - 0,1051\eta H_{R1} + 0,40654 \text{ momento dipolo} + 0,39249vol. - 0,3067 \text{ elet. Mulliken} \quad (\text{Eq. 2.12})$$

Observamos que as equações mantêm as mesmas variáveis investigadas na seção 2.2.2, mas as contribuições de cada variável para a formação dos componentes principais

foi modificada pela presença das novas moléculas. Isto ocorre uma vez que o sistema é autoescalado após a inclusão de novos compostos de forma a se uniformizar os valores dos diferentes descritores, evitando uma análise que favoreça um descritor em detrimento dos outros.

Concluimos desta análise com o método de PCA que todos os compostos do **GT** deverão ser ativos, sendo os compostos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 13 moderadamente ativos e os demais com IC_{50} inferior a 100nM.

Além das duas metodologias já apresentadas, utilizamos o método dos primeiros vizinhos para termos uma nova avaliação da atividade dos compostos do **GT**. Os resultados estão apresentados na próxima seção.

2.2.6 – GRUPO DE TESTE - Previsão da Atividade Biológica dos BENZO Através da Análise de Primeiros Vizinhos – KNN.

O método KNN propõe a atividade de um composto observando quem são os seus vizinhos dentro de um espaço de descritores (Apêndice A).

Aplicamos o método KNN considerando as distribuições espaciais dos compostos nos espaços PCA. A escolha do número de vizinhos a serem aplicados na predição, para cada um dos conjuntos de parâmetros, foi feita otimizando-se os acertos numa previsão de treinamento. Esta otimização é feita considerando-se apenas o **GC** e consiste em prever a atividade das moléculas deste grupo uma a uma, observando-se seus K vizinhos.

A tabela 2.10 apresenta os erros nas previsões durante o treinamento no GC para os conjuntos de parâmetros *A* e *B*.

Tabela 2.10 - Erros na previsão de atividade dos compostos do GC em função do número *K* de vizinhos considerados na metodologia KNN.

Número <i>n</i> de vizinhos - <i>K_n</i>	Erros na previsão Conjunto parâmetros A	Erros na previsão Conjunto parâmetros B
K1	6	7
K2	6	7
K3	7	7
K4	7	7
K5	11	10
K6	8	9
K7	7	10

Podemos observar que para 3 e 4 vizinhos ocorrem 7 erros na previsão de atividade do compostos do **GC**, o que corresponde a um acerto de 70%. Apesar de para o conjunto A termos apenas 6 erros para o estudo com 1 e 2 vizinhos, consideramos que este é um numero muito pequeno de vizinhos podendo levar a resultados incorretos.

O resultado das previsões de treinamento pode ser visualizado nas tabelas 2.11 e 2.12. Os índices 1, 2 e 3 nas tabelas indicam compostos muito ativos, moderadamente ativos e inativos, respectivamente. A atividade experimental qualitativa (A.Q.) está apresentada na primeira coluna da tabela para comparação.

No **GC** o número de moléculas muito ativas e moderadamente ativas é de fato maior que o número das inativas. Isto poderia, em princípio, desfavorecer nossa análise com o método KNN, mas como pudemos observar nos resultados PCA e HCA (seção 2.2.3), o grupo de compostos inativos encontra-se afastado dos demais. Desta forma não há a possibilidade de que um composto teste se encontre próximo dos dois grupos (ativo e inativo) ao mesmo tempo e seja classificado (como ativo) unicamente por uma diferença no número de elementos de cada grupo.

Isto pode ser comprovado pelos resultados das tabelas 2.11 e 2.12 abaixo, onde verificamos que considerando 1, 2, 3 e 4 vizinhos apenas 1 composto inativo é classificado de forma incorreta. Este é exatamente o composto 4AH-27, que foi classificado incorretamente nas análises anteriores.

Tabela 2.11 - Previsões de treinamento do conjunto de parâmetros A para os compostos do GC considerando diferentes números de vizinhos (Kn), na metodologia KNN.

Predição - conjunto A								
	A.Q.	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
1H-40	1	2	2	2	2	1	1	1
1H-47	1	1	1	1	1	1	1	1
1H-42	1	1	1	1	1	1	1	1
1H-43	1	2	2	2	2	1	1	1
1H-45	1	1	1	1	1	1	1	1
1H-46	1	1	1	1	1	1	1	1
1H-39	1	1	1	1	1	1	1	1
1H-37	1	2	2	2	2	2	2	2
4AH-24	2	2	2	2	2	3	2	2
4AH-26	2	3	3	2	2	2	2	2
4AH-20	2	2	2	2	2	3	2	2
1H-38	2	2	2	2	2	2	2	2
4AH-29	2	3	3	2	2	2	2	2
1H-44	2	2	2	1	1	1	1	1
1H-35	2	2	2	2	2	2	2	2
4AH-25	2	2	2	2	2	3	2	2
1H-41	2	2	2	1	1	1	1	1
1H-36	2	2	2	1	1	1	1	2
4AH-21	2	2	2	2	2	2	2	2
4AH-22	3	3	3	3	3	2	2	2
4AH-23	3	3	3	3	3	2	2	2
4AH-19	3	3	3	3	3	2	2	2
4AH-27	3	2	2	2	2	2	2	2

Tabela 2.12 - Previsões de treinamento do conjunto de parâmetros B para os compostos do GC considerando diferentes números de vizinhos (K_n), na metodologia KNN.

Predição conjunto B								
		K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
1H-40	1	2	2	2	2	1	1	1
1H-47	1	1	1	1	1	1	1	1
1H-42	1	1	1	1	1	2	2	2
1H-43	1	2	2	2	2	1	1	1
1H-45	1	1	1	1	1	1	1	2
1H-46	1	1	1	1	1	1	1	1
1H-39	1	1	1	1	1	2	2	2
1H-37	1	2	2	2	2	2	2	2
4AH-24	2	2	2	2	2	2	2	2
4AH-26	2	3	3	2	2	2	2	2
4AH-20	2	2	2	2	2	3	2	2
1H-38	2	2	2	2	2	2	2	2
4AH-29	2	3	3	2	2	2	2	2
1H-44	2	2	2	1	1	1	1	1
1H-35	2	2	2	2	2	2	2	2
4AH-25	2	2	2	2	2	2	2	2
1H-41	2	1	1	1	1	1	1	1
1H-36	2	2	2	1	1	2	2	2
4AH-21	2	2	2	2	2	2	2	2
4AH-22	3	3	3	3	3	2	2	2
4AH-23	3	3	3	3	3	2	2	2
4AH-19	3	3	3	3	3	2	2	2
4AH-27	3	2	2	2	2	2	2	2

Aplicando então o método KNN, considerando 4 vizinhos, obtemos as previsões de atividade para os compostos do GT que estão apresentadas na tabela 2.13. Vale a pena destacar que os resultados de atividades propostas permanecem os mesmos quando consideramos 3 vizinhos.

Tabela 2.13 – Resultados da metodologia KNN na indicação de atividade para os compostos do GT. Os índices indicam: 1 muito ativo, 2 moderadamente ativo e 3 inativo.

Predição de Atividade para o Conjunto Teste		
Moléculas	Conjunto de Parâmetros A	Conjunto de Parâmetros B
1	2	3
2	2	2
3	2	2
4	2	2
5	2	1
6	2	1
7	2	2
8	2	1
9	2	2
10	2	2
11	2	2
12	2	2
13	2	2
14	2	2
15	1	1
16	1	1
17	1	1
18	1	1

Os dois conjuntos de parâmetros A e B apresentam resultados diferentes de intensidade de atividade para os compostos 1, 5, 6 e 8. Quase todos os compostos ainda assim estão classificados como ativos (moderadamente ativos em sua maioria), apenas o composto 1 é classificado como inativo pela análise do conjunto de parâmetros B.

Este resultado está em pleno acordo com os apresentados pelas análises realizadas com outras metodologias, onde verificamos que grande maioria dos compostos deverá apresentar atividade biológica entre ótima e moderada.

Para concluirmos nosso estudo, na tabela 2.14 estão sumarizadas todas as informações de previsão de atividade obtidas para o GT. Os índices utilizados na tabela seguem o padrão adotado na tabela 2.13. O índice A por sua vez indica que o composto deverá ser ativo, mas que não foi possível classificá-lo quanto à intensidade de atividade.

Tabela 2.14 – Sumário da atividade proposta para os compostos BENZO do GT segundo diferentes metodologias.

Moléculas	MIE- ηH_R1	MIE- ηH_R2	MIE- ηH_R4	PCA- A	PCA- B	KNN - A	KNN- B	Atividade Proposta
1	2	A	A	2	2	2	3	3
2	1	A	A	2	2	2	2	2
3	1	A	A	2	2	2	2	2
4	2	A	A	2	2	2	2	2
5	2	3	2	2	2	2	1	3
6	2	A	A	2	1	2	1	2
7	1	A	A	1	1	2	2	1
8	2	A	A	A	1	2	1	A
9	1	A	A	1	A	2	2	A
10	1	A	A	1	1	2	2	1
11	1	A	A	1	1	2	2	1
12	1	A	A	1	1	2	2	1
13	1	A	A	1	2	2	2	2
14	1	A	A	1	1	2	2	1
15	2	A	2	A	1	1	1	1
16	2	A	2	1	1	1	1	1
17	2	A	2	1	1	1	1	1
18	2	A	2	1	1	1	1	1

Analisando os resultados de todas as metodologias, observamos que apenas os compostos 1 e 5 obtiveram uma indicação de inatividade e serão então considerados inativos em nosso parecer. O composto 4 foi o único classificado por unanimidade como composto de atividade moderada.

Desconsiderando as moléculas 1, 4 e 5 e a classificação dos parâmetros η H_R2 e η H_R4 (por não apresentarem seletividade quantitativa na atividade), podemos propor a intensidade de atividade dos demais compostos. Observando os resultados das 5 análises consideramos uma classificação por votos, sendo uma pontuação de no mínimo 3 indicações necessária para classificar o composto quanto à intensidade da atividade. O resultado está apresentado na última coluna da tabela 2.14.

De acordo com nosso resultado final, para os 18 compostos do **GT**:

- 2 (compostos 1 e 5) deverão apresentar o índice $IC_{50} > 1.000nM$,

- 5 (compostos 2, 3, 4, 6 e 13) serão moderadamente ativos com $100 > IC_{50} < 1.000$ nM,
- 9 (compostos 7, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17 e 18) serão muito ativos com $IC_{50} < 100$,
- 2 (compostos 8 e 9) serão ativos, mas não puderam ser classificados quanto à intensidade de atividade.

2.3 – Conclusões.

Na primeira parte de nosso estudo dos compostos BENZO, partindo da MIE, observamos uma correlação direta e simples entre a atividade inibidora dos compostos à enzima 5AR1 e o intervalo de energia ΔH . De forma completamente independente, e apresentado uma maior porcentagem de acertos (96% de acerto na reprodução da atividade experimental), esta correlação pode ser feita com os descritores ηH para 3 regiões moleculares diferentes.

Pudemos comprovar ainda que a diferença nas regras da MIE formuladas para parâmetros calculados por diferentes métodos semiempíricos é muito pequena e se manifesta apenas como um deslocamento nos valores críticos dos descritores Δc e ηc .

Observamos numa análise mais atenta, que além das regras de separação qualitativa de atividade, os parâmetros eletrônicos da MIE são capazes de indicar a intensidade de inibição dos compostos biologicamente ativos. Este comportamento não havia sido ainda observado para os conjuntos de compostos já investigados com a MIE.

A investigação com os métodos PCA e HCA mais uma vez refletiram a confiabilidade dos resultados obtidos com a MIE, apresentando ótimos índices de acerto na reprodução dos resultados experimentais e selecionando dentre dezenas de descritores os eletrônicos como importantes na análise de atividade biológica.

Na segunda parte deste estudo utilizamos as regras e padrões obtidos para o GC para investigar e sugerir o comportamento de atividade biológica para os compostos que compõem o GT.

Nossos resultados incluindo análises com a MIE, PCA e KNN indicam que dos 18 compostos do GT apenas 2 deverão ser biologicamente inativos com índice experimental IC_{50} superior a 1000nM. Os 16 restantes serão ativos (5 moderadamente ativos, 9 muito ativos e 2 não classificados quanto a intensidade).

2.4 – Referências

- 1- J. Imperato-McGinley, L. Guerrero, T. Gautier, R. E., Peterson , *Science* **186**, 1213-1215 (1974).
- 2- G. J. Gormley, *Endocrine-Related Cancer* **3**, 57-63 (1994).
- 3- G. L. Sansone and R.M. Reisner , *J. Invest. Dermatol.* **56**, 366-372 (1971).
- 4- F. Kuttann, I. Mowszowicz, G. Shaison, P. Mauvais-Jarvis, *J. Endocrinol* **75**, 83-91 (1977).
- 5- D.W. Russel, J.D. Wilson, *Annu. Rev. Biochem.* **63**, 25-61 (1994).
- 6- B. Kenny, S. Ballard, J. Blagge D. Fox, *J. Med. Chem.* **40**(9), 1293-1315 (1997).
- 7- H.G. Bull, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 2359-2365, (1996).
- 8- E. Palomino, GI- 198745 Glaxo-Wellcome. *Curr. Opin. Cent. Periph. Nerv. Sust. Invest. Drugs* **1**, 253-256 (1999).
- 9- D. Thiboutot, G. Harris, V. Iles, G. Cimis, K. Gilliland, S. Hagari, *J. Invest. Dermatol.* **105**, 209-214 (1995).
- 10- A. Kurup, R. Garg and C. Hansch, *Chem Rev.* **100**, 909-924 (2000).
- 11- R. K. Bakshi, G. F. Patel, G. H. Rasmusson, W. F. Baginsky, G. Cimis, K. Ellsworth, B. Chang, H. Bull, R. L. Tolman and G. S. Harris, *J. Med. Chem.* **37**, 3871-3874 (1994).
- 12- G. A. Bakken and P. C. Jurs, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **41**, 1255-1265 (2001).
- 13- A. Guarna, C. Belle, F. Machetti, E. G. Occhiato, A. H. Payne, C. Cassiani, A. Comerci, G. Danza, A. De Bellis, S. Dini, A. Marrucci and M. Serio, *J. Med. Chem.* **40**, 1112-1129 (1997).
- 14- R. W. Hartmann, M. Hector, S. Haidar, P. B. Ehmer, W. Reichert e J. Jose, *J. Med. Chem.* **43**, 4266 (2000).
- 15- C.D. Jones, J.E. Audia, D.E. Lawhorn, L.A. McQuaid, B.L. Neubauer, A.J. Pike, P.A. Pennington, N.A. Stamm, R.E. Toomey, K.R. Hirsch, *J. Med. Chem.* **36**, 421-423 (1993).
- 16- K. F. Erhard, H-K Yen, D. S. Yamashita, M. Brandt, H. Mohammed, M. A. Levy and D. A. Holt, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **4**, 1365-1368 (1994).
- 17- A. Guarna, F. Machetti, E. G. Occhiato, D. Scarpi, A. Comerci, G. Danza, R. Mancina, M. Serio and K. Hardy, *J. Med. Chem.* **43**, 3718-3735 (2000).
- 18- Titan © 1999 Wavefunction, Inc., Schrödinger, Inc. ISBN 1-890661-10-4.

- 19- Hyperchem™ 5.1. 1997 Hypercube.
- 20- Einsight 3.0. Infometrix, Inc. 2200 Sixth Ave, Suite 833, Seattle WA, 98121, 1991.
- 21- A. Guarna, E. G. Occhiato, F. Machetti, A. Trabocchi, D. Scarpi, G. Danza, R. Mancina, A. Comerci and M. Serio *Bioog. Med. Chem.* **9**, 1385-1393 (2001).
- 22- Guia do usuário Pirouette, versão 3.02, Infometrix. Inc., capítulo 5.

Capítulo 3

Chaveamento Ótico - Interconversão reversível de moléculas orgânicas por irradiação de luz.

3.1 – Introdução

Pesquisas envolvendo novas técnicas, modelos e materiais utilizados para o armazenamento de informações têm sido motivadas, em parte, pela utilização crescente de computadores e aparelhos eletrônicos nos meios acadêmico, industrial e doméstico. O armazenamento de uma grande densidade de dados em dispositivos cada vez menores associado à velocidade na escrita e leitura das informações são as características de maior interesse no desenvolvimento de novos dispositivos capazes de arquivar dados^{1,2}.

Uma alternativa proposta nos últimos anos para modelos de elementos memória, capazes de atender as necessidades acima, considera a utilização de sistemas orgânicos, moleculares e atômicos, para o armazenamento de dados¹⁻¹⁴. Estes sistemas ocupariam pequeno espaço físico (de dimensões nanométricas) ao mesmo tempo em que viabilizariam o processamento ótico de informações (próximo à velocidade da luz). Com o desenvolvimento nanotecnológico, através do controle na manipulação de amostras de dimensões nanométricas^{15,16}, e o sucesso dos sistemas de gravação de dados em CD-Rs (compact disk-recordable) por meio de dispositivos óticos digitais esta proposta tem se tornado cada dia mais real.

Devido a peculiaridades como a facilidade em sua fabricação, a possibilidade de serem estruturalmente modelados através de uma engenharia molecular, a introdução e modulação de variadas propriedades físicas através de simples modificações em sua estrutura e a construção e caracterização de sistemas moleculares isolados, os materiais orgânicos se destacam e têm sido aceitos como promissores em aplicações óticas, elétricas, magnéticas e mecânicas^{1,2}.

Para o funcionamento eficiente de dispositivos moleculares de chaveamento necessita-se de um sistema biestável, isto é, duas formas diferentes de uma molécula que possam se interconverter estimuladas por uma fonte externa (Figura 3.1). A biestabilidade pode ser baseada na mudança de propriedades como isomerização, diferenças no comportamento de complexação ou transferência eletrônica, enquanto a luz, calor, pressão, mudança de pH ou reações químicas, podem ser os agentes estimulantes da interconversão. De um modo geral, qualquer material ou dispositivo que possua dois estados estáveis que

possam ser identificados e interconvertidos, pode ser utilizado como elemento de memória de um computador digital que utilize uma lógica binária.

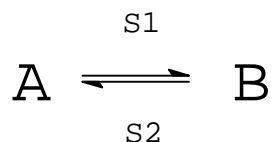


Figura 3.1 – Ilustração da interconversão de dois estados estáveis. A e B representam as duas formas dos sistemas e S1 e S2 referem-se aos diferentes estímulos externos responsáveis pelo comportamento de conversão reversível.

O funcionamento do dispositivo molecular que investigamos, e que descreveremos neste capítulo, está baseado no comportamento fotocromico de moléculas quirais. O fotocromismo é definido como uma transformação reversível, estimulada por luz, entre dois estados de uma molécula que possuam diferentes espectros de absorção¹⁷. Estes sistemas serão referidos neste capítulo como sistemas moleculares de chaveamento ótico.

O funcionamento destes dispositivos e as mudanças sofridas pelo material devido ao estímulo luminoso podem ser investigadas teoricamente, analisando-se o sistema sob o ponto de vista topológico, eletrônico e espectral.

Nós investigamos teoricamente a estrutura eletrônica de um conjunto de 4 moléculas tipo alquenos, sendo duas delas neutras (cis- e trans-2-nitro-7-dimetilamino-9-(2',3',-di-hidro-1'-H-nafto [2,1-b]tiopyran-1'-ilideno)-9H-tioxanteno, **P-1** e **M-2** respectivamente) e duas positivamente carregadas (carga +1, **P-3** e **M-4**) (Figura 3.2), cuja quiralidade e fluorescência podem ser reversivelmente moduladas pela luz⁶⁻¹⁰. As moléculas carregadas são obtidas das estruturas neutras através da protonação do grupo doador dimetilamino (Figura 3.2).

A síntese de sistemas de chaveamento molecular ótico de módulo duplo baseado em alquenos tipo hélices quirais, nos quais a quiralidade, o espectro UV/visível e a fluorescência podem ser reversivelmente modulados pela luz, foi inicialmente reportada e tem sido investigada por Feringa e colaboradores⁶⁻¹⁰.

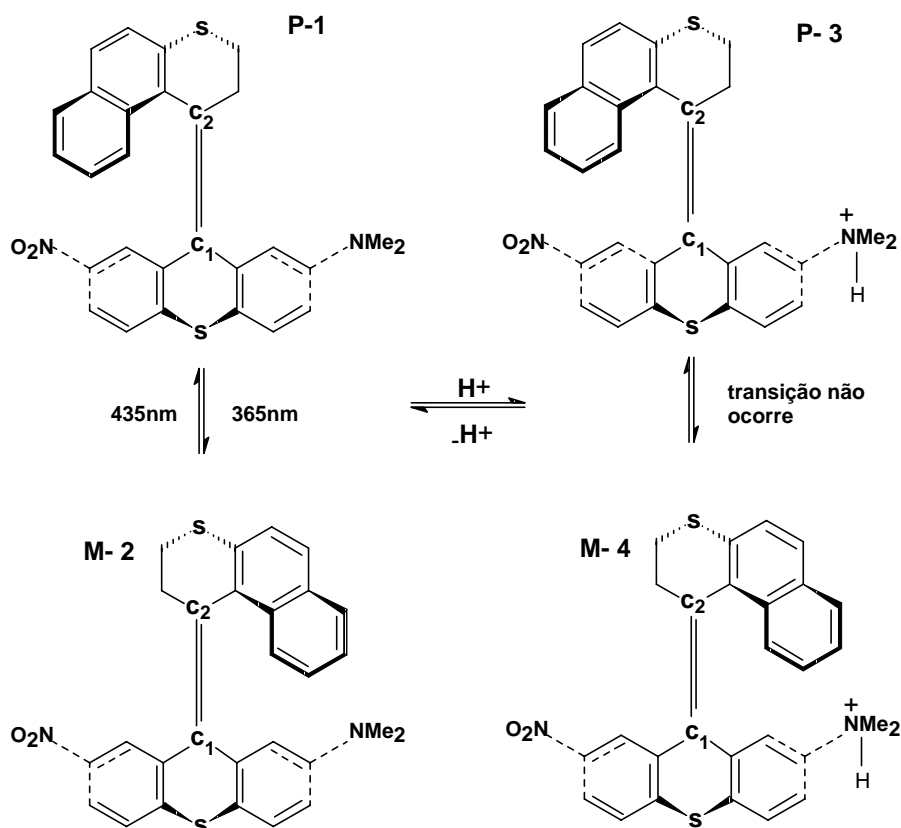


Figura 3.2 – Sistema de chaveamento ótico. Isômeros cis e trans neutros (P-1 e M-2) e protonados (P-3 e M-4) biestáveis.

O processo de chaveamento para este sistema específico está relacionado à transição reversível cis \rightleftharpoons trans das moléculas (P-1 \rightleftharpoons M-2) por uma rotação entre sua metade superior (metade do naftaleno) e a metade inferior (tioxanteno) através da dupla ligação C1=C2 (Figura 3.2), associada à uma inversão da quiralidade helicoidal.

Esta interconversão pode ser bloqueada através da protonação da unidade doadora (dimetilamina) das moléculas **P-1** e **M-2** (passando a **P-3** e **M-4**, Figura 3.2), o que permite a manutenção e a leitura dos dados armazenados por estados distintos. O processo de protonação é reversível e após a desprotonação a transição fotoquímica entre **P-1** e **M-2** é restaurada, permitindo que toda informação seja apagada e/ou reescrita.

Desta forma estas 4 moléculas constituem um sistema de chaveamento ótico molecular biestável e apresentam características primordiais para o armazenamento e a recuperação satisfatória de dados, tais como a estabilidade dos isômeros para a retenção de

informações, a possibilidade da detecção dos 2 estados distintos (**P-1** e **M-2** ou **P-3** e **M-4**) permitindo a leitura e a manutenção de suas propriedades moleculares e eletrônicas a cada operação reversível escrever/apagar^{1,2}. Cada diastereômero (pseudoenantiômero, como são identificados cada um dos isômeros dessa classe, reforçando sua característica de inversão na helicidade) pode representar um estado distinto como um elemento lógico binário.

Com o auxílio das ferramentas de cálculos teóricos, buscamos uma caracterização geométrica e espectroscópica das moléculas, comparando nossos resultados teóricos com os experimentais disponíveis na literatura. Os resultados obtidos, relacionados à estabilidade molecular, propriedades dos estados fundamental e excitado e espectro de absorção, facilitaram o entendimento dos processos relacionados com a interconversão dos isômeros neutros e o bloqueio na interconversão dos isômeros protonados neste dispositivo de chaveamento.

3.2 - Metodologia e Resultados

3.2.1 - Análise Conformacional

A ausência de dados geométricos experimentais para todas as moléculas estudadas tornou imperativa uma busca por suas conformações de menor energia através de uma investigação sistemática dos graus de liberdade de cada uma das moléculas.

Para o estudo teórico do sistema de chaveamento ótico foram investigadas as conformações mais estáveis das moléculas para seu estado fundamental e para o primeiro estado excitado, suas propriedades eletrônicas e espectrais, assim como a barreira de interconversão entre os pares de isômeros.

Considerando o detalhamento envolvido nos cálculos de busca sistemática de conformações, que se refletiu em dias de computação mesmo para os sistemas neutros, e a necessidade da realização de cálculos em sistemas carregados, desenvolvemos este estudo baseado em cálculos semiempíricos.

Dentre os métodos mais aplicados atualmente no tratamento de compostos orgânicos¹⁸ os métodos semiempíricos PM3 (Parametric Method 3)^{19,20} e AM1 (Austin Method 1)²¹ destacam-se como uma evolução do método MNDO (Modified Neglect of Differential Overlap) apresentando resultados de qualidade associados a um baixo esforço computacional. Existe, no entanto, um grande debate com respeito aos resultados produzidos por estes dois métodos, uma grande discussão se faz em torno da questão chave: Qual deles é capaz de produzir o melhor resultado para um sistema estudado?

De forma a selecionarmos o melhor método para otimização das moléculas que constituem o sistema de chaveamento iniciamos nossa investigação avaliando os resultados de otimização geométrica obtidos para os métodos PM3 e AM1. A molécula **P-1** foi escolhida para esta avaliação por ser a única a apresentar sua estrutura obtida por análise de raios-X⁷.

Nas tabelas 3.1, 3.2 e 3.3, baseadas na figura 3.3, apresentamos os resultados dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedrais mais significativos para as geometrias obtidas com os dois métodos, comparados à geometria experimental.

Como pode ser observado nos dados das tabelas abaixo, a geometria reproduzida pelo método PM3 é a que melhor descreve os resultados experimentais de raios-X. Nas tabelas, Δ PM3 e Δ AM1 indicam os desvios dos dados teóricos tomando como padrão os valores experimentais de raios-X.

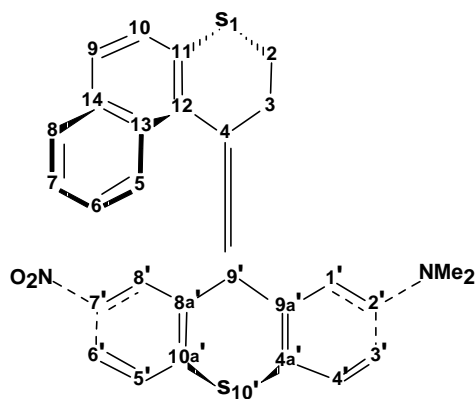


Figura 3.3 – Estrutura esquemática da molécula P-1. Os números indicam os átomos de carbono que compõem a molécula, enquanto o símbolo S mostra a presença de átomos de enxofre.

Tabela 3.1 – Comprimentos de ligação da molécula P-1 (Figura 3.3) obtidos por dados de Raios $-X^7$ e otimizados pelos métodos PM3 e AM1.

Comprimentos de Ligação (Å)					
Átomos	Raios-X	PM3	AM1	ΔPM3	ΔAM1
S1-2	1,819	1,831	1,775	0,012	-0,044
2-3	1,529	1,519	1,511	-0,010	-0,018
3-4	1,505	1,501	1,498	-0,004	-0,007
4-12	1,486	1,475	1,469	-0,011	-0,017
12-11	1,391	1,385	1,388	-0,006	-0,003
12-13	1,432	1,428	1,429	-0,004	-0,003
13-5	1,423	1,421	1,422	-0,002	-0,001
5-6	1,367	1,369	1,374	0,002	0,007
6-7	1,409	1,413	1,414	0,004	0,005
7-8	1,370	1,369	1,374	-0,001	0,004
8-14	1,416	1,420	1,421	0,004	0,005
14-9	1,421	1,422	1,423	0,001	0,002
14-13	1,421	1,411	1,419	-0,010	-0,002
9-10	1,357	1,366	1,368	0,009	0,011
10-11	1,415	1,419	1,420	0,004	0,005
11-S1	1,759	1,759	1,692	0,000	-0,067
4-9'	1,353	1,350	1,352	-0,003	-0,001
1'-2'	1,402	1,403	1,416	0,001	0,014
2'-3'	1,409	1,405	1,419	-0,004	0,010
3'-4'	1,382	1,385	1,386	0,003	0,004
4'-4a'	1,383	1,396	1,398	0,013	0,015
4a'-9a'	1,407	1,403	1,406	-0,004	-0,001
4a'-S10'	1,766	1,763	1,697	-0,003	-0,069
S10'-10a'	1,760	1,760	1,690	0,000	-0,070
10a'-8a'	1,405	1,405	1,409	0,000	0,004
10a'-5'	1,397	1,397	1,402	0,000	0,005
5'-6'	1,379	1,386	1,387	0,007	0,008
6'-7'	1,391	1,401	1,407	0,010	0,016
7'-8'	1,376	1,398	1,402	0,022	0,026
8'-8a'	1,392	1,395	1,399	0,003	0,007
8a'-9'	1,483	1,474	1,469	-0,009	-0,014
9'-9a'	1,489	1,476	1,471	-0,013	-0,018
9a'-1'	1,388	1,393	1,395	0,005	0,007

Tabela 3.2 – Ângulos de ligação da molécula P-1 obtidos por dados de Raios-X⁷ e otimizados pelos métodos PM3 e AM1.

Ângulos de Ligação (Graus)					
Átomos	Raios-X	PM3	AM1	△PM3	△AM1
S1-2-3	114,27	115,25	115,89	0,98	1,62
2-3-4	110,74	109,04	110,77	-1,70	0,03
3-4-12	111,68	110,92	110,98	-0,76	-0,70
4-12-11	118,16	117,23	117,34	-0,93	-0,82
11-12-13	118,28	119,81	119,71	1,53	1,43
12-13-14	119,73	118,96	119,04	-0,77	-0,69
14-13-5	118,06	118,67	118,46	0,61	0,40
13-5-6	120,79	120,65	120,90	-0,14	0,11
5-6-7	120,87	120,49	120,44	-0,38	-0,43
6-7-8	119,73	120,17	120,03	0,44	0,30
7-8-14	120,72	120,37	120,63	-0,35	-0,09
8-14-13	119,54	119,62	119,53	0,08	-0,01
13-14-9	118,81	119,74	119,51	0,93	0,70
14-9-10	120,63	120,39	120,50	-0,24	-0,13
9-10-11	120,73	120,41	120,44	-0,32	-0,29
10-11-12	120,79	120,24	120,25	-0,55	-0,54
12-11-S1	123,61	123,51	124,05	-0,10	0,44
11-S1-2	103,53	104,64	105,08	1,11	1,55
4-9'-8a'	122,04	123,48	122,98	1,44	0,94
1'-2'-3'	117,31	118,83	117,72	1,52	0,41
2'-3'-4'	120,38	120,43	120,55	0,05	0,17
3'-4'-4a'	121,49	120,56	121,23	-0,93	-0,26
4'-4a'-9a'	119,58	119,51	119,12	-0,07	-0,46
4a'-9a'-1'	118,45	119,75	119,84	1,30	1,39
4a'-S10'-10a'	99,87	99,33	101,46	-0,54	1,59
9a'-4a'-S10'	121,14	121,85	122,84	0,71	1,70
S10'-10a'-8a'	119,84	121,69	122,32	1,85	2,48
10a'-8a'-9'	120,44	119,05	119,22	-1,39	-1,22
8a'-10a'-5'	121,01	119,60	119,73	-1,41	-1,28
10a'-5'-6'	120,41	120,50	120,84	0,09	0,43
5'-6'-7'	117,78	119,95	119,08	2,17	1,30
6'-7'-8'	122,79	119,93	120,93	-2,86	-1,86
7'-8'-8a'	119,66	120,00	119,42	0,34	-0,24
8'-8a'-10a'	117,94	119,89	119,87	1,95	1,93
8a'-9'-9a'	113,53	113,26	113,25	-0,27	-0,28
9'-9a'-4a'	118,73	118,75	118,43	0,02	-0,30
9a'-1'-2'	122,69	120,68	121,27	-2,01	-1,42

Tabela 3.3 – Ângulos diedrais da molécula P-1 (Figura 3.3) obtidos por dados de Raios- X^7 e otimizados pelos métodos PM3 e AM1.

Ângulos Diedrais (Graus)					
Átomos	Raios-X	PM3	AM1	ΔPM3	ΔAM1
3-4-9'-9a'	5,367	4,788	6,339	-0,58	0,97
12-4-9'-8a'	-0,355	-4,039	-1,240	-3,68	-0,88
12-13-5-6	-175,316	177,912	179,297	-5,56	-5,38
14-8-7-6	0,763	-0,008	0,013	-0,77	-0,75
9'-8a'-10a'-S10'	-3,370	-4,408	-4,368	-1,04	-1,00
9'-9a'-4a'-S10'	0,868	6,731	7,912	5,86	7,04
4-12-11-S1	-1,804	-5,144	-5,137	-3,34	-3,33
4-3-2-S1	46,730	45,161	41,331	-1,57	-5,40

A melhor performance do método PM3 em relação ao AM1 pode ser quantificada através do Desvio Médio Quadrático (DMQ – Equação 1.1) calculado para os dados geométricos das tabelas 3.1, 3.2 e 3.3. Na tabela 3.4 apresentamos os DMQ confirmando os melhores resultados do método PM3 para comprimentos de ligação e ângulos diedrais.

Tabela 3.4 – Desvio quadrático médio (Eq.1.1) dos comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ângulos diedrais calculado por métodos semiempíricos frente aos dados experimentais de Raios- X^7 .

Desvio Quadrático Médio			
Método Semiempírico	Comprimento de Ligação	Ângulo de Ligação	Ângulo Diedral
PM3	$0,69 \times 10^{-2}$	1,13	3,43
AM1	$0,24 \times 10^{-1}$	1,03	3,91

Considerando o resultado desta análise inicial, as configurações mais estáveis para as demais 3 moléculas estudadas (**M-2**, **P-3** e **M-4**), assim como suas propriedades eletrônicas foram calculadas utilizando-se o método semi-empírico PM3 implementado no pacote MOPAC 6.0²², com o auxílio do programa Chem2pac²³.

3.2.2 – Investigação eletrônica do funcionamento do sistema.

Como descrito em detalhes na introdução deste capítulo, o processo de chaveamento para este sistema está relacionado à transição reversível das moléculas (**P-1**↔**M-2**) por uma rotação entre sua metade superior e a metade inferior através da dupla ligação C1=C2 (Figura 3.2), associada a uma inversão na quiralidade helicoidal. Esta interconversão foi verificada experimentalmente estimulando-se as moléculas com radiação nos comprimentos de onda de 365nm (3,397eV) e 435nm (2,851eV)⁶⁻¹⁰.

Associadas ao processo de interconversão entre cada par de moléculas estão muitas mudanças conformacionais e consumo de energia associados a elas. Estimativas teóricas podem ser feitas com respeito ao custo energético envolvido no giro axial das duas metades componentes da molécula. Neste sentido simulamos a barreira de rotação ao redor da dupla ligação C1=C2 (Figura 3.2) através de um mapeamento dos valores do calor de formação de cada molécula para um giro de 180 graus, partindo da configuração **P-1/P-3** até a configuração **M-2/M-4**, e vice-versa, mantendo fixa a helicidade das mesmas. As moléculas foram otimizadas a cada 5 graus no processo giratório, considerando inicialmente as moléculas em seu estado fundamental.

Na figura 3.4 apresentamos as curvas obtidas para os dados que compõem o giro das metades inferior e superior das moléculas, tendo como eixo a dupla ligação entre carbonos C1=C2. Os valores das barreiras de rotação e o desnível energético entre o início e o fim do processo são explicitados nas tabelas 3.5 e 3.6.

Observando gráficos e os dados das tabelas 3.5 e 3.6 verificamos que o custo energético para o giro, mantendo-se a ligação dupla das moléculas em seu estado fundamental, não apresenta muitas mudanças entre os compostos, e está na faixa de 1,735 eV para cada uma das quatro moléculas. Estes resultados não nos permitem entender o favorecimento do giro das moléculas neutras (ou o bloqueio de interconversão das carregadas), uma vez que as barreiras de energia para a interconversão não diferem significativamente entre os sistemas neutros e protonados.

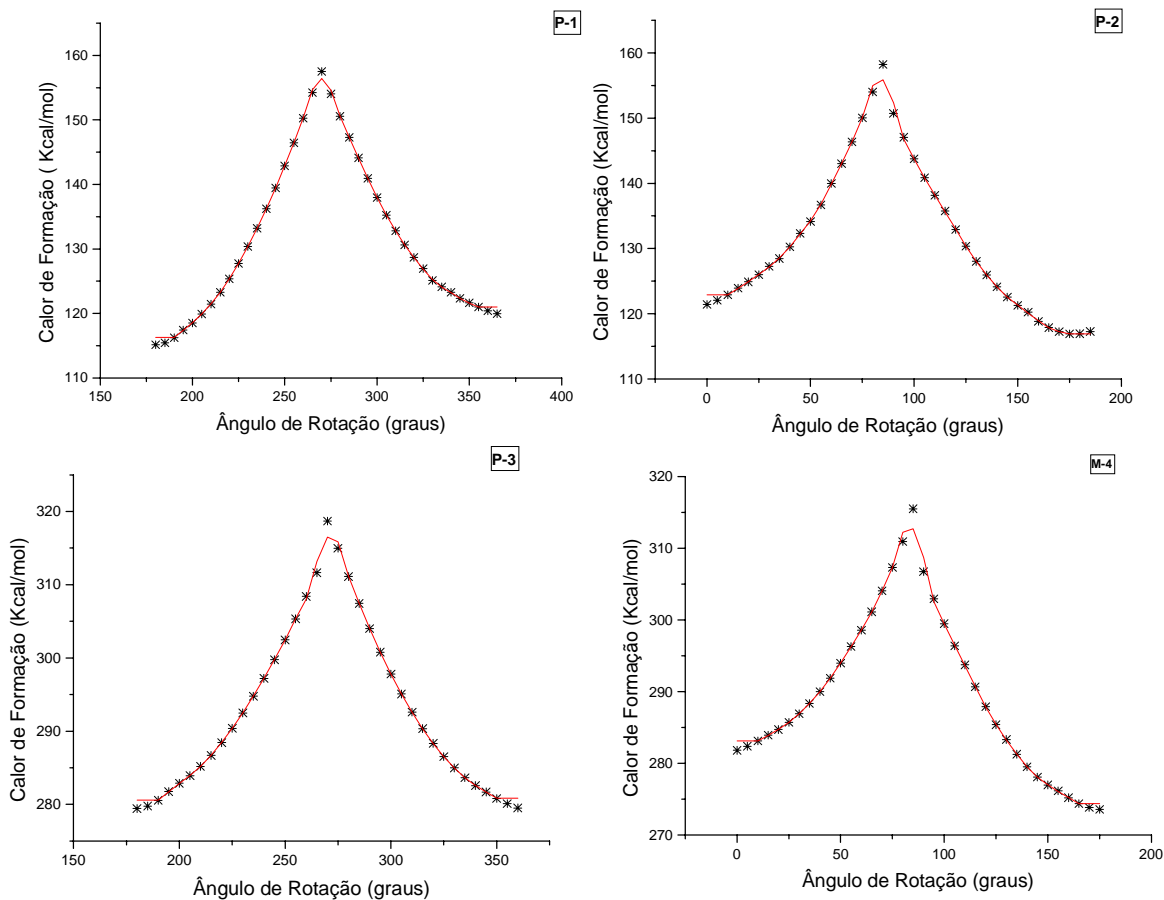


Figura 3.4 – Barreira de energia para rotação ao redor da ligação dupla C1=C2.

Tabela 3.5 – Calor de formação para moléculas em estado fundamental, com as conformações referentes aos pontos inicial, máximo (ou intermediário) e final das curvas de giro (Figura 3.4).

Calor de Formação (Kcal/mol)			
Moléculas	Inicial	Intermediário	Final
P-1	115,1437	157,5197	120,4389
M-2	116,9375	158,5125	121,4538
P-3	279,4344	318,6889	279,5010
M-4	273,5818	315,5008	281,8144

Tabela 3.6 – Barreira e Desnível das Bordas da curva do calor de formação para um giro de 180 graus entre as duas metades componentes dos isômeros em seu estado fundamental.

Calor de Formação (Kcal/mol)		
Moléculas	Barreira de Rotação	Desnível das Bordas
P-1	42,376	5,295
M-2	41,278	4,516
P-3	39,255	0,066
M-4	41,919	8,233

Por outro lado, como o processo de interconversão entre os isômeros ocorre somente através de um estímulo de fótons de luz, é razoável pensar na transição ocorrendo para os estados excitados das moléculas.

Numa análise eletrônica, a irradiação luminosa estimula a excitação do sistema pela liberação de um elétron do grupo doador dimetilamina, o que acarreta uma modificação na geometria das moléculas não protonadas através do aumento do comprimento de ligação, na dupla ligação C1=C2. Já para as moléculas protonadas, o processo não segue a mesma dinâmica, uma vez que o elétron excitado permanece no grupo doador, onde ocorreu a protonação da molécula. Isto pode ser observado no esquema apresentado na figura 3.5, que apresenta o movimento fotolítico dos elétrons para **P-1**.

De forma a simularmos a perturbação sofrida nas moléculas após o estímulo luminoso estudamos algumas propriedades eletrônicas do primeiro estado excitado das quatro moléculas, a variação na estrutura e no calor de formação devido à excitação, e comparamos os resultados aos obtidos para o estado fundamental das mesmas 4 moléculas.

O cálculo considerando a excitação eletrônica foi realizado apenas para os pontos inicial, intermediário (ângulo para o qual o calor de formação é máximo) e ponto final das curvas obtidas no giro das moléculas neutras, observadas na figura 3.4. O pequeno número de pontos calculados para o estado excitado ocorreu em função da dificuldade em se tratar estes estados. Para obter um resultado satisfatório foram necessárias aproximadamente 72 horas de cálculo para cada uma das moléculas neutras e 120 horas para as protonadas. Os cálculos foram realizados num Pentium II com 128MB de memória RAM.

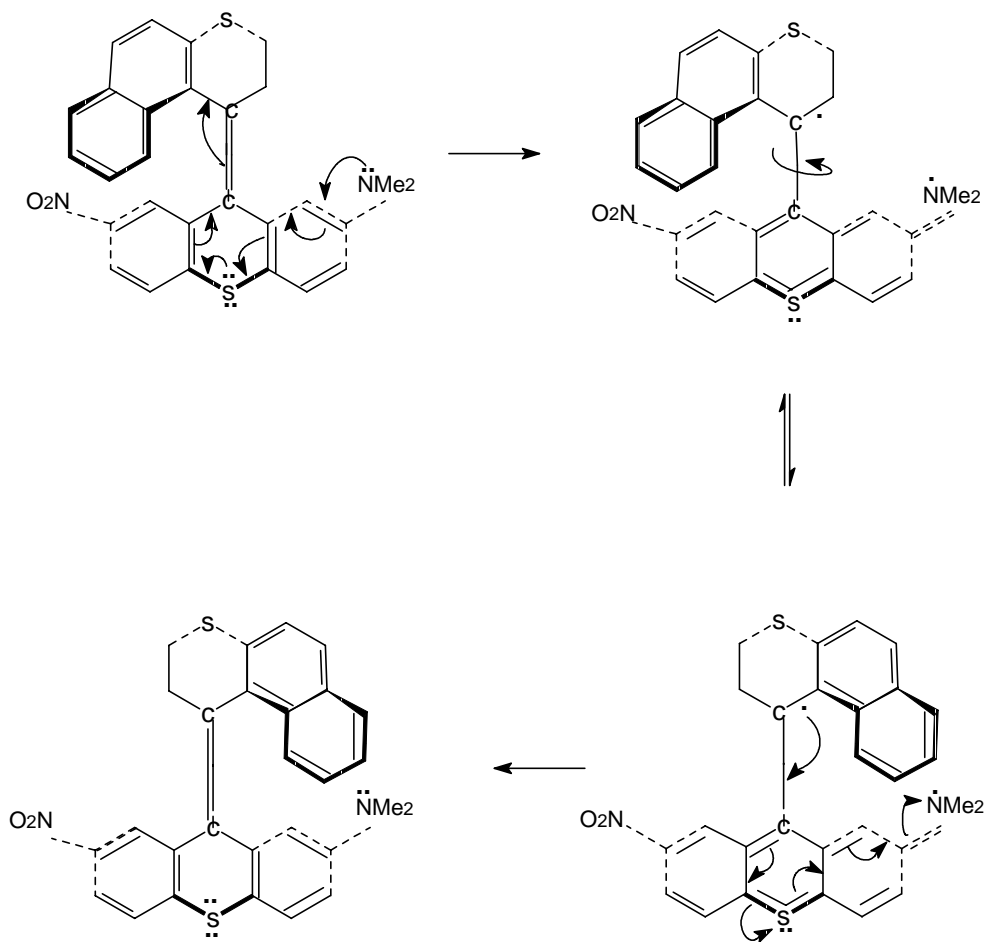


Figura 3.5 – Esquema da interconversão entre P-1 e M-2 indicando a transferência de cargas ocorrida em resposta à foto-excitação das moléculas.

Os valores do calor de formação para os 3 pontos da interconversão das moléculas excitadas são apresentados nas tabelas 3.7 e 3.8.

Tabela 3.7 – Calor de formação, em Kcal/mol, para moléculas em seu primeiro estado excitado (dubleto), com as conformações referentes aos pontos inicial, intermediário e final das curvas de giro (Figura 3.4).

Calor de Formação (Kcal/mol)			
Moléculas	Inicial	Intermediário	Final
P-1	199,2490	187,8636	188,5599
M-2	200,5258	189,2393	205,6074
P-3	343,3989	338,7032	339,2952
M-4	344,8707	337,8745	338,6568

Tabela 3.8 - Profundidade do Vale e Desnível das Bordas da curva do calor de formação, em Kcal/mol, para os isômeros em seu estado excitado (dubleto).

Calor de Formação (Kcal/mol)		
Moléculas	Profundidade do Vale	Desnível das Bordas
P-1	11,3854	10,6891
M-2	11,2856	5,0816
P-3	4,6957	0,5920
M-4	6,9962	0,7823

Na figura 3.6 apresentamos as curvas de rotação obtidas para as moléculas nos estados fundamental e excitado. A curva de ajuste dos pontos correspondentes ao comportamento no estado excitado foi obtida com um ajuste polinomial quadrático.

O comportamento observado para os calores de formação das moléculas em seu estado excitado difere do observado anteriormente para as moléculas no estado fundamental. Para o ponto intermediário, visto como o pico máximo no giro das moléculas em seu estado fundamental, observamos agora uma queda no valor do calor de formação, com a formação de um vale. Se para o estado fundamental não era possível observar uma diferença significativa nos valores do calor de formação das moléculas neutras (**P-1** e **M-2**) e protonadas (**P-3** e **M-4**), para o estado excitado esta diferença torna-se mais evidente. O vale na curva de interconversão das moléculas neutras é aproximadamente duas vezes mais profundo do que o vale na interconversão das protonadas. Este resultado é uma indicação da dificuldade encontrada experimentalmente para interconverter os dois isômeros

protonados. Este comportamento pode ser observado simplesmente comparando a profundidade dos vales nas curvas obtidas (Figura 3.6).

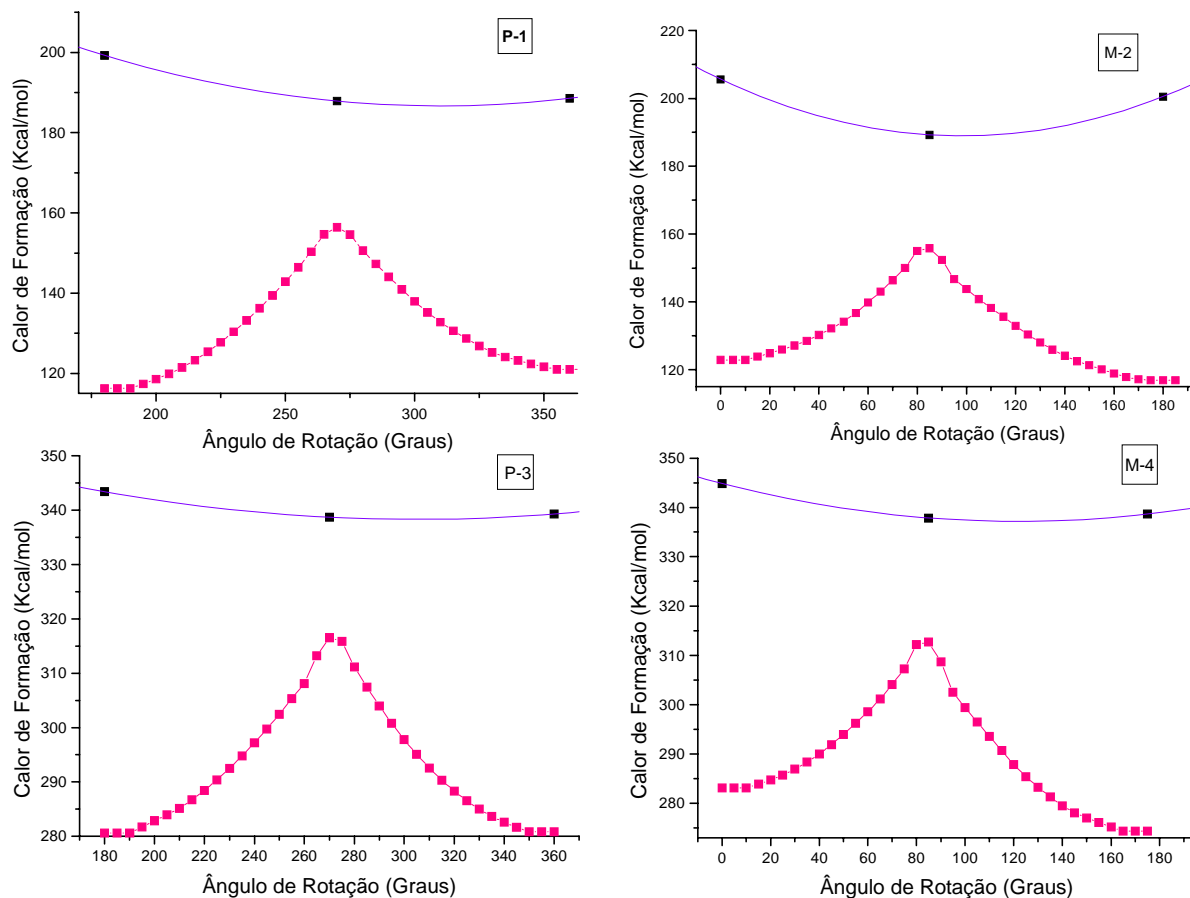


Figura 3.6 – Curvas do Calor de formação para o giro ao redor do eixo da dupla ligação $C1=C2$ para as 4 moléculas (neutras e protonadas). As curvas em cor rosa simulam a rotação dos isômeros no estado fundamental e as curvas em violeta o ajuste para o estado excitado dubleto.

Observando os resultados até aqui obtidos, propomos uma rota para a interconversão dos dois isômeros neutros, conservando o caminho sugerido pelo esquema de foto-excitação do sistema (Figura 3.5).

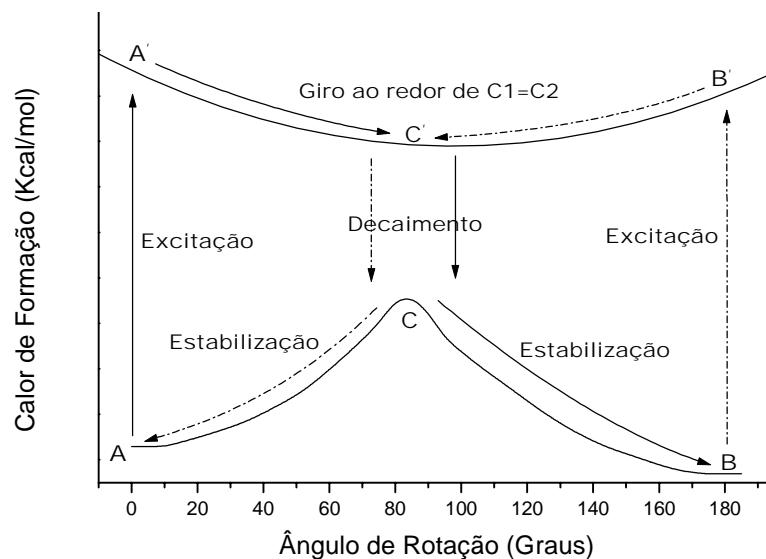


Figura 3.7 – Rota proposta para a interconversão entre os isômeros cis/trans.

A figura 3.7 apresenta esquematizada a rota de interconversão das moléculas neutras, onde pode ser observado o seguinte comportamento:

- A incidência luminosa excita o sistema, que neste novo estado pode girar ao redor da ligação C1=C2 sem barreiras.
- Após um giro de em média 90 graus (percorrendo a rota favorável na curva de energia potencial) o sistema decai.
- O giro dos 90 graus restantes ocorre à medida em que o sistema se estabiliza (relaxa).

A energia necessária para excitar cada um dos isômeros é apresentada na tabela 3.9. Observamos que a energia de excitação das moléculas protonadas é ligeiramente menor. A energia de excitação para os isômeros neutros é da ordem de 3,6 eV.

Tabela 3.9 – Energia de excitação do sistema para um estado dubleto.

Moléculas	Energia de Excitação (Kcal/mol)
P-1	84,1053
M-2	83,5883
P-3	63,9645
M-4	71,2889

Na tabela 3.10 resumimos todos os dados significativos para o entendimento do processo de interconversão das moléculas neutras e do bloqueio na interconversão das protonadas. Estes resultados nos permitem estimar a barreira de interconversão para os isômeros através da diferença no calor de formação dos estados fundamental e excitado para ângulos reversos das estruturas (**P-1** girado de 180 graus e **M-2** em 0 grau, e vice-versa), assim como através da profundidade das curvas do estado excitado como uma medida da energia de estabilização das moléculas.

As células em cinza na tabela indicam as energias de conversão de **P-1** para **M-2** ($A \rightarrow A'$) como 3,63 eV e de **M-2** para **P-1** ($B \rightarrow B'$) como 2,96 eV. Estes valores são uma ótima estimativa para os respectivos 3,40 e 2,85 eV obtidos experimentalmente.

Podemos compreender também por que as moléculas protonadas são bloqueadas para a interconversão. Como já foi dito, para um estímulo de luz as moléculas neutras sofrem uma elongação na dupla ligação C1=C2, com uma significativa energia de estabilização (EE na tabela 3.10), o que lhes permite girar ao redor do eixo da ligação. Para as moléculas protonadas isso não ocorre, a dupla ligação é mantida e a energia de estabilização da molécula é praticamente a metade da correspondente neutra. Por outro lado, a barreira de rotação ao redor da ligação dupla é alta (1,7eV, como indicado na tabela 3.10) o que impossibilita a conversão.

Os valores de energia de interconversão obtidos para as moléculas neutras através de nossos cálculos teóricos são maiores que a energia cedida ao sistema experimentalmente, uma vez que realizamos nosso estudo com base em cálculos Hartree-Fock. A teoria Hartree-Fock superestima os valores dos níveis de energia do sistema, uma vez que desconsidera a correlação eletrônica explícita. A correção para a correlação, no método utilizado (PM3), é feita apenas através da parametrização semiempírica. Uma correção para estes dados foi obtida considerando-se explicitamente a correlação eletrônica em um cálculo pós-Hartree-Fock para a simulação do espectro de absorção ótica das moléculas. Os resultados para cálculos CI (Configuration Interaction) são apresentados na próxima seção.

Tabela 3.10 – Sumário dos resultados PM3 para o estado fundamental, primeiro estado excitado e barreira de rotação ao redor da ligação C1=C2 (Figura 3.2). São mostrados os calores de formação para o estado fundamental (A, B), excitado (A', B') e pontos intermediários (C, C'). As diferenças de energia para as transições verticais (X para X'), a altura da barreira (Barreira) e a energia de estabilização (C'para A'ou C'para B') (EE) são indicadas.

Mol.	A ^a	A', ^a	(A→A',) ^b	B ^a	B', ^a	(B→B',) ^b	Barreira _b	C ^a	C', ^a	(C→C',) ^b	EE ^a
P-1	115,14	199,25	3,65	120,44	188,56	2,96	1,84	157,52	187,86	1,32	11,39
M-2	116,94	200,53	3,63	121,45	205,61	3,65	1,79	158,51	189,24	1,33	11,29
P-3	279,43	343,40	2,78	279,50	339,30	2,59	1,70	318,69	338,70	0,87	4,70
M-4	273,58	344,87	3,09	281,81	338,66	2,47	1,82	315,50	337,87	0,97	7,00

^a Calor de Formação e Energia de Estabilização em Kcal/mol.

^b Transições Eletrônicas e Barreira em eV.

3.2.3 – Transições Eletrônicas e Espectro de Absorção UV

Procuramos investigar também os processos relacionados às transições eletrônicas das moléculas, através da simulação de seu espectro de absorção na região do ultravioleta. Consideramos para este cálculo o método semi-empírico ZINDO/S (Zerner Intermediate Neglect of Differential Overlap), com parametrização espectroscópica, desenvolvida pelo grupo do professor M. Zerner²⁴. As conformações moleculares utilizadas no cálculo foram as mais estáveis para o estado fundamental, previamente otimizadas com o método PM3. Foram consideradas para o cálculo CI (Configuration Interaction) 196 configurações eletrônicas com excitações simples. Os espectros foram simulados alargando-se as linhas obtidas, utilizando-se envoltórios gaussianos com largura de 0,03 eV. Os resultados obtidos estão sumarizados na figura 3.8.

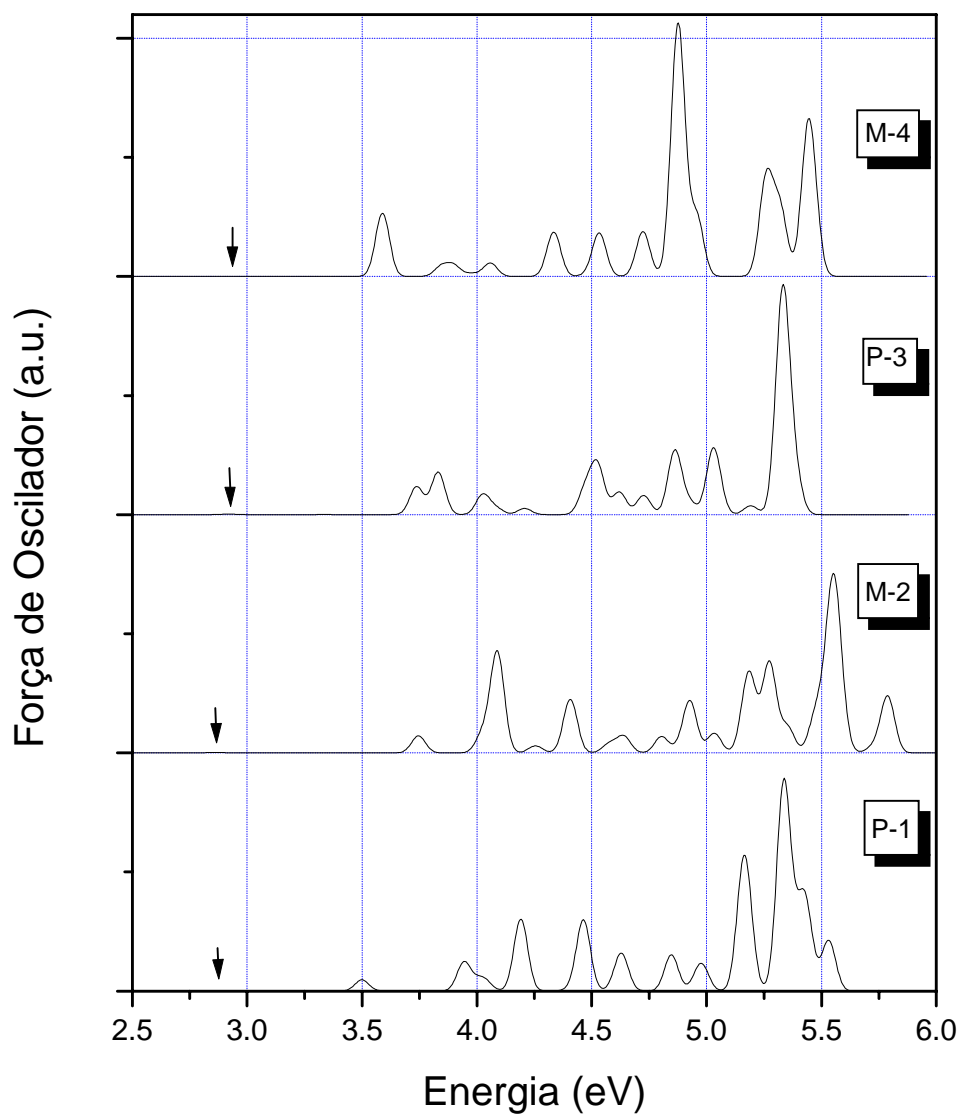


Figura 3.8 – Simulação do espectro de absorção ótica das quatro moléculas que constituem o sistema de chaveamento. As setas indicam o limiar de absorção.

A tabela 3.11 traz os valores do limiar de absorção e do pico de absorção máxima para as quatro moléculas, assim como os orbitais moleculares que contribuem mais significativamente para os estados selecionados e o peso destas contribuições. A notação utilizada, $|A \rightarrow B\rangle$, indica uma nova configuração formada a partir da configuração do estado fundamental, retirando-se um elétron do orbital molecular A e colocando-o no orbital B .

Existe uma concordância excelente entre os dados teóricos e experimentais⁶⁻¹⁰. Como pode ser observado na tabela 3.11, para a molécula **P-1** obtivemos a primeira absorção ocorrendo para a energia 2,87 eV, muito próximo do valor 2,79 eV obtido experimentalmente. Já o pico máximo de absorção experimental ocorre para 5,51 eV, para o qual obtivemos teoricamente o valor de 5,34 eV. A literatura reporta também o valor do pico máximo de absorção da molécula **M-2**, sendo este de 5,61 eV e para o qual, teoricamente, obtivemos 5,55 eV⁶⁻¹⁰. Os valores teóricos obtidos apresentam um erro de 0,03% para **P-1** e 0,01% para a **M-2**, em relação aos dados experimentais. Estes são resultados muito bons, considerando o fato de que os dados experimentais foram obtidos em solução enquanto os teóricos são obtidos para moléculas isoladas em vácuo. Para as moléculas protonados **P-3** e **M-4** nenhum dado experimental foi reportado na literatura.

Observando na tabela 3.11 as configurações que contribuem mais fortemente para os estados de transição, vemos que, para P-1 e P-3, o limiar de absorção tem uma maior contribuição dos estados formados pela transição de um elétron dos orbitais mais internos (HOMO-9, HOMO-11), para os primeiros orbitais virtuais (LUMO, LUMO+3) (HOMO - Highest Occupied Molecular Orbital, LUMO – Lowest Unoccupied Molecular Orbital). Já M-2 tem maior peso de estados formados da transição de elétrons dos orbitais de fronteira (HOMO, HOMO-1) para os primeiros orbitais virtuais (LUMO, LUMO+1, LUMO+2). Para o pico máximo de absorção as maiores contribuições para as 4 moléculas são de estados com excitação dos elétrons dos orbitais de fronteira para os virtuais medianos (LUMO+1, LUMO+4, LUMO+5, LUMO+7).

Tabela 3.11 - Transições eletrônicas para as quatro moléculas que constituem o sistema de chaveamento. Energias de transições e principais configurações.

Molécula	Limiar de Absorção (eV)	Contribuições mais Significativas	Pico Máximo Absorção (eV)	Contribuições mais Significativas
P-1	2,8679	0,9339 H-11→L> + 0,2562 H-11→L+3> + 0,1288 H-11→L+1> - 0,1023 H-12→L>	5,3379	0,3314 H-4→L+1> + 0,2858 H-2→L+1> + 0,2547 H→L+5> + 0,232 H-4→L+6> - 0,22123 H→L+4> - 0,2211 H-3→L+2>
M-2	2,8612	0,7159 H→L> + 0,4423 H-3→L> + 0,4243 H-1→L> - 0,1359 H→L+3> - 0,1176 H-5→L> - 0,1137 H-4→L> +	5,5512	0,4129 H→L+7> + 0,2783 H→L+8> + 0,2688 H→L+3> - 0,2565 H-4→L+1> - 0,2227 H-2→L+2> + 0,22058 H-4→L>
P-3	2,9192	0,8609 H-9→L> + 0,2880 H-9→L+6> - 0,2596 H-10→L> - 0,1716 H-9→L+3> + 0,1307 H-12→L+12> - 0,1019 H-9→L+1>	5,3342	0,4444 H-1→L+4> + 0,3172 H-2→L+4> - 0,3050 H→L+7> - 0,2654 H-1→L+3> + 0,2304 H→L+6> - 0,2082 H→L+8>
M-4	2,3929	0,6752 H→L+1> - 0,5069 H→L+2> + 0,3028 H→L+3> - 0,2004 H→L+9> + 0,1964 H→L+5> + 0,1420 H→L+4>	4,8777	0,5181 H→L+4> + 0,3763 H-1→L+3> - 0,3337 H-4→L> + 0,2863 H→L+8> + 0,2328 H-2→L+4> + 0,1931 H-1→L+4>

Através da investigação dos orbitais envolvidos na excitação podemos identificar diretamente as regiões espaciais moleculares relacionadas neste processo. Na figura 3.9 apresentamos isosuperfícies 3D para os orbitais moleculares HOMO e LUMO, envolvidos nas contribuições dominantes da excitação da molécula M-2. Informações como estas nos permitem modular os intervalos de energia de absorção molecular através de substituições químicas em posições adequadas.

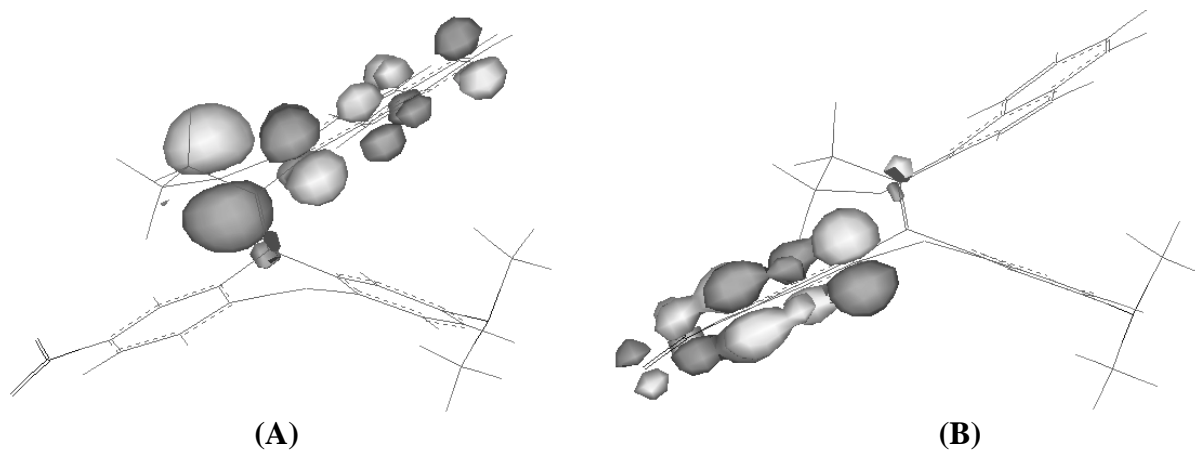


Figura 3.9 – Isosuperfícies PM3 dos orbitais (A) HOMO e (B) LUMO para a molécula M-2.

3.3 – Conclusões

A metodologia desenvolvida para o estudo deste sistema pode em princípio ser utilizada para a análise e para o *design* de novos e mais aperfeiçoados sistemas de chaveamento ótico. Ela permite obter uma boa estimativa das barreiras de interconversão entre os isômeros e uma simulação para o espectro de absorção bastante confiável.

Em nossos resultados propomos uma rota para a interconversão dos isômeros neutros através da qual é possível justificar, em termos energéticos, o bloqueio de conversão entre os compostos protonados.

A simulação do espectro de absorção energética, na região do UV, reproduziu com precisão as energias de primeira absorção e absorção máxima e nos permitiu mapear as regiões moleculares afetadas diretamente por estas transições.

A abordagem aqui desenvolvida é uma ferramenta alternativa e poderosa de auxílio nas pesquisas tecnológicas diminuindo o tempo e os investimentos dedicados ao desenvolvimento de novos sistemas moleculares de chaveamento ótico.

3.4 - Referências

- 1- B. L. Feringa, W. F. Jager and B. de Lange, *Tetrahedron* **49**, 8267-8310 (1993).
- 2- B. L. Feringa, R. A. Van Delder, N. Koumura and E. M. Geertsema, *Chemical Reviews* **100**, 1789-1816 (2000).
- 3- F. Kulzer, S. Kummer, R. Matzke, C. Bräuchle and T. Basché, *Nature* **387**, 688-691 (1997).
- 4- B. L. Feringa; N. Koumura; R. A. Van Delden; M. K. J. Ter Wiel, *Applied Physics A-Materials Science & Processing* **75**, 301-308 (2002).
- 5- P. R. Hania, R. Telesca, L. N. Lucas, A. Pugzlys, J. van Esch, B. L. Feringa, J. G. Snijders and K. Duppen, *J. Phys. Chem. A* **106**, 8498-8507 (2002).
- 6- N. P. M. Huck and B. L. Feringa, *J. Chem Soc., Chem Commun.* 1095 (1995).
- 7- W. F. Jager, J. C. de Jong, B. de Lange, N. P. M. Huck, A. Meetsma and B. L. Feringa, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* **34**, 348-350 (1995).
- 8- B. L. Feringa, W. F. Jager and B de Lange, *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 5468-5470 (1991).
- 9- B. L. Feringa, N. P. M. Huck and A. M. Schoevaars, *Adv. Mater.* **8**, 681-684 (1996).
- 10- N. P. M. Huck, W. F. Jager, B. de Lange, B. L. Feringa, *Science* **273**, 1686-1688 (1996).
- 11- P. M. V. B. Barone, S. O Dantas and D. S. Galvão, *Synthetic Metals* **102**, 1454-1455 (1999).
- 12- S. O. Dantas, P. M. V. B. Barone, S. F. Braga, D. S. Galvão, *Synthetic Metal* **116**, 275-279 (2001).
- 13- S. F. Braga, D. S. Galvão, P. M. V. B. Barone and S. O. Dantas, *J. Phys. Chem. B* **105**, 8334-8338 (2001).
- 14- D. S. Galvão, S. F. Braga, P. M. V. B. Barone and S. O. Dantas, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **708**, BB10.27.1-BB1027.6 (2002).
- 15- J. Li, D. Stein, C. McMullan, D. Branton, M. J. Aziz e J. A. Golovchenko, *Nature* **412**, 166-169 (2001).
- 16- H. Yan, X. Zhang, Z. Shen e N. C. Seeman, *Nature* **415**, 62-65 (2002).
- 17- H. Dürr, H. Bouas, H. Laurent (Editores), *Photocromism, Molecules and Systems in Studies in Organic Chemistry 40*; Elsevier: Amsterdam, 1990.

- 18- M. C. Zerner em *Reviews in Computational Chemistry II*, K. B. Lipkowitz, D. B. Boyd (Editores), VCH Publishers: New York, 1991, Capítulo 8.
- 19- J. J. P Stewart, *J. Comput. Chem.* **10**, 209-220 (1989).
- 20- J. J. P. Stewart, *J. Comput. Chem.* **10**, 221-264 (1989).
- 21- M. J. S.Dewar, E. G. Zoebisch, E. F. Healy, J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3902 (1985).
- 22- MOPAC6, Program 455, *Quantum Chemistry Exchange, Indiana University, Bloomington, Indiana 47405, USA*,
- 23- M. Cyrillo, D. S.Galvão, *EPA Newsletter* **67**, 31-34 and 34-38 (1999).
<http://www.ifi.unicamp.br/gsonm/chem2pac>.
- 24- W. D. Edwards and M. C. Zerner, *Theor. Chem. Acta*, **72**, 347 (1987).

Apêndice A

Métodos de Reconhecimento de Padrões e Análise Teórica de Atividade Biológica de Fármacos.

A.1 – Introdução

Neste trabalho, nos dedicamos a investigar sistematicamente propriedades teóricas (eletrônicas, físico-químicas e estereoquímicas) de conjuntos de fármacos com o objetivo de determinar regras e padrões indicadores de uma correlação entre a atividade biológica destes fármacos e características intrínsecas de sua estrutura molecular.

A importância deste estudo é evidenciada pela observação de que pequenas variações na estrutura química de compostos de uma família são responsáveis por grandes mudanças em sua atividade biológica. Apesar da complexidade envolvida nos processos de interação composto-alvo biológico e em sua rota metabólica no organismo, as propriedades moleculares dos fármacos são fundamentais para a definição do caráter de atividade que ele apresenta. Por este motivo, investigações de atividade biológica, mesmo que qualitativas, baseadas em fatores que dependam diretamente da estrutura e dos átomos constituintes de um composto, representam um grande avanço na formulação/seleção de novos compostos-teste.

Estudos de relações qualitativas de atividade baseados em parâmetros teóricos são freqüentemente identificados como estudos de estrutura-atividade (SAR - *Structure-Activity Relationship*) e consideram a atividade biológica através de índices experimentais de atividade.

Para os conjuntos de fármacos aqui apresentados, consideramos uma análise “binária” de atividade, onde ativo ou inativo são as classificações experimentais básicas para a investigação. Nossa classificação de atividade baseou-se no índice *in vitro* IC₅₀ que mede a concentração molar da droga capaz de reduzir em 50% determinada função do organismo.

Dentre os vários métodos de investigação SAR conhecidos, aplicamos em nossas análises a Metodologia de Índices Eletrônicos (MIE), a Análise de Componentes Principais (PCA - *Principal Component Analysis*), a Análise Hierárquica de Clusters (HCA - *Hierarchical Cluster Analysis*) e a Metodologia de Primeiros Vizinhos (KNN- *K Nearest Neighbors*).

Neste apêndice faremos uma breve descrição de cada um destes métodos, sem a pretensão de que esta seja uma referência completa para iniciantes no assunto.

A.2 – Metodologia de Índices Eletrônicos – MIE.

De um modo geral, os métodos de SAR diferem no conjunto de parâmetros moleculares empregados para a investigação da atividade biológica. O principal objetivo de qualquer destes métodos, no entanto, é encontrar regras que possam levar à predições confiáveis de atividades biológicas de compostos hipotéticos (não-sintetizados) ou não-testados, auxiliando assim, na escolha entre vários candidatos para futuras sínteses e também no “design” de melhores candidatos.

A MIE foi desenvolvida por Barone *et al.*¹⁻³, para investigar a ação carcinogênica dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos permitindo classificá-los em duas categorias: causadores de câncer ou não.

Empregando regras muito simples, que envolvem parâmetros puramente eletrônicos, a MIE está baseada no conceito de Densidade Local de Estados (LDOS – *Local Density Of States*)⁴ e nos valores críticos da diferença de energia eletrônica entre os níveis dos orbitais moleculares de fronteira.

A densidade de estados (DOS - *Density Of States*) é definida como o número de estados eletrônicos por unidade de energia. O conceito correlato da LDOS, isto é, a DOS calculada sobre uma região molecular específica, nos permite mapear a distribuição de um orbital molecular, ocupado ou virtual, sobre um esqueleto molecular. Dessa forma, a LDOS é uma indicação de como um átomo, ou um conjunto de átomos, contribui para a formação de um orbital molecular específico.

Para os cálculos da LDOS consideramos a aproximação LCAO (*Linear Combination of Atomic Orbital*) em que um orbital molecular é escrito como uma combinação linear de orbitais atômicos⁴:

$$\psi_m = \sum_i c_{mi} \phi_i \quad (\text{Eq. A.1})$$

Nessa aproximação, a contribuição de cada átomo para a formação de um nível eletrônico é dada pelo coeficiente do orbital atômico elevado ao quadrado, isto é, pela densidade de probabilidade correspondente ao nível, naquele sítio. Para LDOS a soma é

feita sobre todos os orbitais atômicos correspondentes aos átomos de uma região que se deseje investigar (n_i à n_f), levando à seguinte expressão ¹⁻³:

$$LDOS(E_i) = 2 \sum_{m=n_i}^{n_f} |c_{mi}|^2 \quad (\text{Eq. A.2})$$

O número 2 na equação acima é derivado do princípio de exclusão de Pauli (máximo de 2 elétrons por nível eletrônico).

Para a obtenção da LDOS torna-se imprescindível dividir a molécula em regiões. O critério de seleção destas regiões considera que elas devem ser comuns a todos os compostos da classe investigada (esqueleto básico), e devem ser reconhecidamente importantes do ponto de vista químico e/ou biológico.

A LDOS é diretamente aplicada na MIE através do parâmetro η . η é definido como uma medida da diferença da contribuição dos átomos de uma determinada região molecular para a formação de dois níveis moleculares:

$$\eta = LDOS_{\text{Nível.1}} - LDOS_{\text{Nível.2}} \quad (\text{Eq. A.3})$$

O segundo parâmetro fundamental da MIE é Δ . Δ por sua vez é definido como a separação em energia entre os mesmos dois níveis moleculares acima:

$$\Delta = E_{\text{Nível1}} - E_{\text{Nível2}} \quad (\text{Eq. A.4})$$

Δ contém uma informação global da molécula (envolvendo os autovalores moleculares) enquanto η contém informações locais que refletem a distribuição de cargas sobre a molécula.

A figura A.1 ilustra a obtenção dos parâmetros, onde cada linha vertical representa um nível de energia. Os valores de η e Δ podem ser obtidos nos eixos vertical e horizontal, respectivamente. Para o cálculo da DOS a soma da equação A.3 considera todos os átomos da molécula enquanto para LDOS (de fato uma projeção da DOS) a soma considera somente os átomos de uma determinada região.

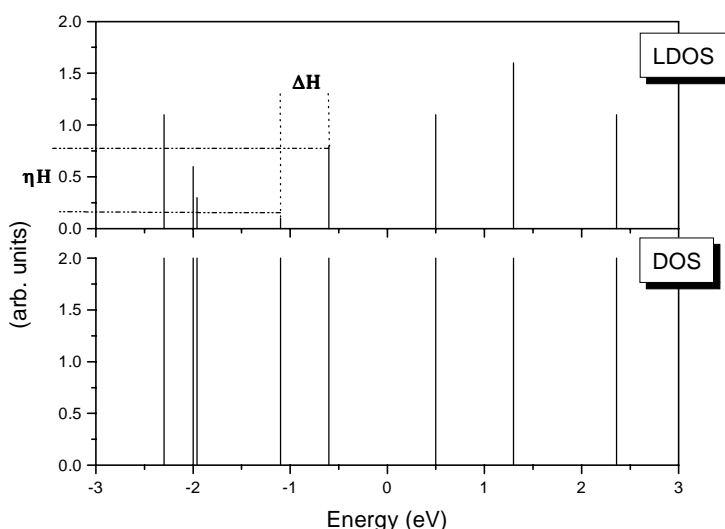


Figura A.1 - Distribuição discreta típica da LDOS e DOS. Cada linha vertical representa um estado e sua altura indica quanto a região molecular estudada contribui para a formação do orbital associado a esta energia. ΔH representa a diferença em energia entre dois estados e ηH a diferença nas LDOS.

Os orbitais moleculares de interesse na investigação com a MIE, são os orbitais de fronteira HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital), HOMO-1, LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) e LUMO+1. O destaque dado a estes orbitais (principalmente HOMO e LUMO) está relacionada com sua importância na reatividade dos compostos, uma vez que estes são os orbitais envolvidos nas reações químicas entre dois compostos.

Considerando os dois parâmetros destacados acima (Δ e η) a MIE utiliza regras simples para classificar os compostos de uma família quanto à sua atividade biológica.

As regras obtidas apresentam tipicamente a seguinte forma:

Se $\eta > \eta_C$ E $\Delta > \Delta_C$, a molécula será ativa, caso contrário será inativa.

η_C e Δ_C na regra acima representam valores críticos e são determinados através de uma análise cuidadosa dos parâmetros teóricos frente à classificação de atividade dos compostos dada pelos índices experimentais. Estes valores são definidos como o valor limite de η e Δ através dos quais os compostos ativos podem ser separados dos inativos.

É durante a busca destes valores críticos que são determinados quais os orbitais moleculares [(HOMO e HOMO-1) ou (LUMO e LUMO+1)] que melhor representam a atividade biológica dos compostos (a base para a construção das regras de seleção).

As regras da MIE podem também ser interpretadas através de tabelas Booleanas de predição de atividade.

Como exemplo, consideremos a regra de atividade destacada acima. Para esta regra as regras Booleanas podem ser escritas como:

Regras Booleanas:

$\Delta(+)$ e $\eta(+)$ \Rightarrow (+) Ativo

$\Delta(+)$ e $\eta(-)$ \Rightarrow (-) Inativo

$\Delta(-)$ e $\eta(+)$ \Rightarrow (-) Inativo

$\Delta(-)$ e $\eta(-)$ \Rightarrow (+) Inativo

onde + / - indicam que os valores de Δ e η para o compostos analisados são maiores/menores que o valor crítico.

Desde seu desenvolvimento em 1996, a MIE já foi aplicada no estudo de atividade de compostos de famílias distintas com aplicações das mais diversificadas. A tabela A.1 sumariza as informações até hoje obtidas com esta metodologia e mostra o sucesso dos seus resultados comparados com outras metodologias.

Tabela A.1 – Sumário dos resultados obtidos pela MIE e por outros métodos (em alguns casos) para diferentes as classes de compostos estudadas.

Classe do composto (Método de Cálculo)	Ação Biológica	# moléculas	Δ_c(eV)	η_c	Acerto com PCA (%)	Acerto com NN (%)	Acerto com MIE (%)
HAP(Hückel)⁵	Carcinogênico	78	0.408	0.0	80.8	84.6	78.2
HAP(PM3)⁶	Carcinogênico	78	0.309	0.0	78.2	78.2	79.5
Lapachol(PM3)⁷	Anti-tumoral Antibiótico Anti-malarial	25	-	0.0	-	-	96
Ácido Naftóico (PM3)⁸	Inibidor da Integrase do HIV	6	-	0.0 (LUMO)	-	-	100
Talidomida (PM3)⁹	Anti-inflamatório	32	0.15	0.1	-	-	85
Talidomida (AM1)⁹	Anti-inflamatório	32	0.15	0.1	-	-	90
Esteróides (PM3)¹⁰	Afinidade de ligação ao CBG	31	0.41	0.156	100	-	100
APs (PM3)¹¹	Atividade Progesteronal	21	0.80	0.0	85.7	95.2	90.5
Taxóides (PM3)¹²	Anti-tumoral	20	0.15	0.0	100	-	85
Benzo[c]quinolizin-3-onas (AM1)¹³	Inibidor de 5alpha-reductase	23	-	1	87	-	96
Benzo[c]quinolizin-3-onas (PM3)¹³	Inibidor de 5alpha-reductase	23	-	1.2	-	-	96
Esterilquinolinas (AM1)¹⁴	Inibidores da integrase do HIV-1	32	0,4 (LUMO)	0,298	90,62	93,75	93,75
Esterilquinolinas (PM3)¹⁴	Inibidores da integrase do HIV-1	32	0,122 (LUMO)	0,855	93,75	100	93,75
Tetraciclins (AM1)¹⁵	Inibidores da <i>Escherichia coli</i>	14	0,7	1,39	100	-	100
Tetraciclins (PM3)¹⁵	Inibidores da <i>Escherichia coli</i>	14	0,58	0,53	92,5	-	82,85

A.3 – Análise de Componentes Principais - PCA

PCA¹⁶⁻¹⁸ é uma metodologia que se classifica dentro das chamadas análises multivariadas de reconhecimento de padrões, abrangendo paralelamente dezenas de variáveis (na verdade, quantas se desejar). Ela tem como objetivo principal separar amostras em subconjuntos observando suas semelhanças. Esta é uma ferramenta muito utilizada na quimiometria aplicada na classificação qualitativa da atividade biológica de fármacos, na seleção de qualidade de alimentos, na análise de poluentes etc.

Numa representação geométrica, para uma análise onde n variáveis (descritores) são consideradas, cada amostra (compostos químicos, no nosso caso) pode ser representada como ponto no espaço n -dimensional das variáveis (onde cada variável equivale a um eixo). Este é um espaço de variáveis correlacionadas (espaço A - onde informações semelhantes são dadas por diferentes variáveis) e o papel da PCA é construir um novo espaço de variáveis descorrelacionadas (espaço P – espaço de componentes principais) no qual as moléculas poderão ser investigadas quanto à sua similaridade.

As variáveis devem ser escalonadas antes do início da análise PCA. O escalonamento consiste numa transformação dos descritores para que possam ser comparados numa mesma escala, apesar de possuírem unidades diferentes. O mais comum dos escalonamentos, chamado de auto-escalonamento, transforma as variáveis tal que sua média é zero e a variância deve estar entre 0 e 1. Na construção do espaço P alguns vínculos devem ser considerados, sendo os mais significativos a necessidade de que a distribuição estatística dos pontos (dispersão) no espaço A seja mantida e que os novos eixos sejam descorrelacionados (ortogonais).

A distribuição estatística das amostras é quantificada pela variância da distribuição dos pontos e as componentes principais são construídas maximizando-se esta variância. Desta forma a primeira componente principal (PC1) é a que contém a maior informação estatística do sistema inicial, seguida pela PC2, e assim sucessivamente até a PCn. O que se obtém como resultado é um novo espaço onde as primeiras PC's são responsáveis por toda a informação relevante da distribuição e da similaridade entre as amostras (informalmente uma redução na dimensão do espaço de descritores para análise das amostras).

Matematicamente a construção dos PC's equivale a uma rotação de eixos (figura A.2 de forma que os PCs são apenas combinações lineares das variáveis originais.

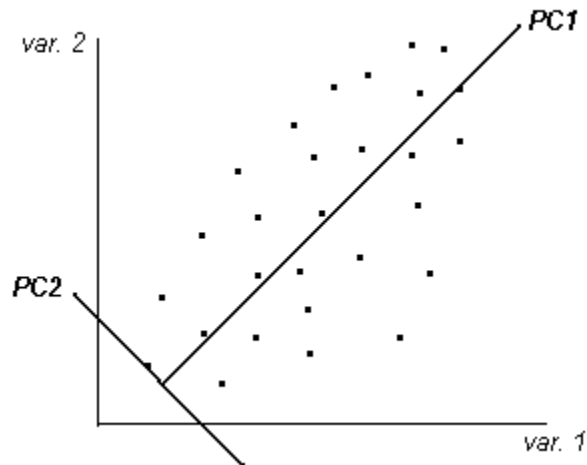


Figura A.2 – Construção típica dos componentes principais PC1 e PC2 para uma distribuição de pontos.

Os resultados de uma análise PCA são apresentados por um conjunto de amostras (gráfico de score) e um conjunto de descritores (gráfico de loading) representados em planos xy (planos das componentes principais de maior variância)¹⁹ (Figuras A.3 e A.4. As distribuições dos pontos nestes dois gráficos são correlacionadas, e para um melhor entendimento dos resultados obtidos com a metodologia devem ser analisadas em conjunto. As amostras mais à direita no gráfico de score apresentam um alto valor para as variáveis mais à direita no gráfico de loading. O mesmo ocorrendo para amostras e descritores localizados mais à esquerda, na parte superior ou inferior dos gráficos.

Durante a aplicação do PCA, grande parte dos descritores inicialmente considerados são descartados, restando apenas os poucos capazes de separar as amostras em subgrupos de acordo com os dados experimentais de controle. A seleção dos “melhores” descritores é feita visualmente através dos resultados obtidos para os gráficos de score.

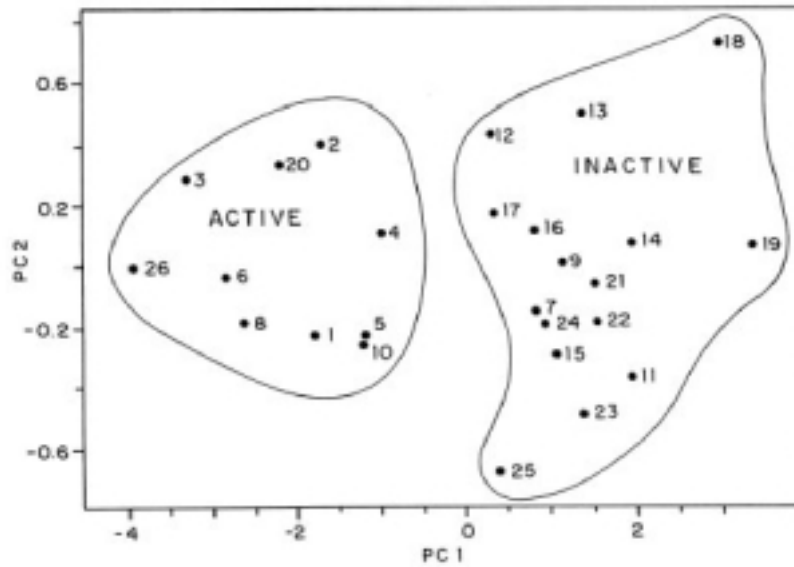


Figura A.3– Gráfico de score. Distribuição típica de amostras agrupadas pelo método PCA⁶.

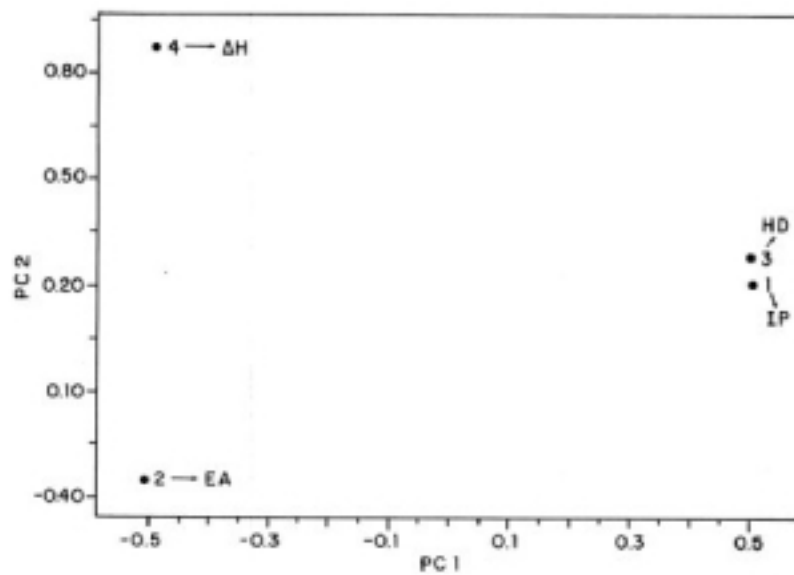


Figura A.4– Gráfico de loading. Distribuição dos descritores responsáveis pela separação das amostras na figura A.2.

Este é considerado um ótimo método de seleção das variáveis relevantes na separação de compostos químicos quanto à uma atividade experimental específica (química, biológica, etc.).

A.4 – Análise Hierárquica de Clusters – HCA

O HCA^{16,18,20} permite obter uma medida da similaridade entre as amostras distribuídas no espaço das componentes principais, segundo uma hierarquia dada pela proximidade entre as amostras.

No HCA as distâncias (euclidianas) entre as amostras são calculadas e comparadas. Distâncias pequenas são indicadores de que as amostras são relativamente similares. Existe mais de uma maneira de se considerar a medida de proximidade entre amostras (ou grupos de amostras) no método HCA. Algumas das mais comuns são a conexão de vizinhos mais próximos (ou conexão simples), a conexão de vizinhos mais distantes (ou conexão completa) e a conexão por meio de centróides.

Para todos os métodos, a análise HCA sempre tem início com o cálculo da distância entre as amostras duas a duas. O par mais próximo é selecionado e transformado em um grupo que passa a ser identificado no gráfico de similaridade como uma amostra única. Isso é feito sucessivamente unindo novas amostras aos pares ou aos grupos já formados.

No método de vizinhos mais próximos a distância entre um grupo que acaba de ser formado e as demais amostras (ou outro grupo já formado anteriormente) é dada pela menor distância entre a amostra e as amostras do grupo (calculadas separadamente). O método de vizinhos mais distantes baseia-se na mesma idéia, mas a distância considerada na análise de similaridade é a maior distância entre a amostra e as amostras do grupo.

A figura A.5 ilustra o cálculo da distância entre um grupo de duas amostras e uma amostra A. Na análise de vizinhos mais próximos D1 corresponde à medida de proximidade entre eles, já na análise de vizinhos mais distantes a proximidade é dada por D2.

Já para o método de centróides, cada par de amostras passa a ser identificado por um único ponto localizado no centro do grupo. A medida da proximidade entre grupos neste caso é dada pela distância entre os centros (Figura A.6).

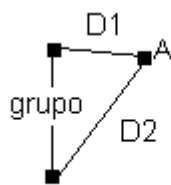


Figura A.5– Cálculo da distância entre grupos e pontos para os métodos de vizinhos mais próximos e mais distantes.

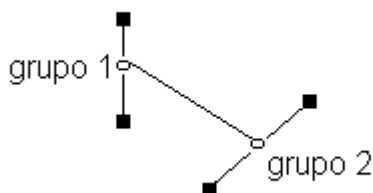


Figura A.6- Cálculo da distância entre grupos para o método dos centróides.

Os estágios sucessivos em que as moléculas são agrupadas é apresentado na forma de um dendograma de similaridade (Figura A.7. A similaridade é calculada considerando-se a menor distância entre duas amostras (d_{ij}) (ou grupos de amostras) e também a maior distância (d_{max}) entre quaisquer das amostras da distribuição, de acordo com a equação:

$$S_{ij} = 1 - \frac{d_{ij}}{d_{max}} \quad (\text{Eq. A.5})$$

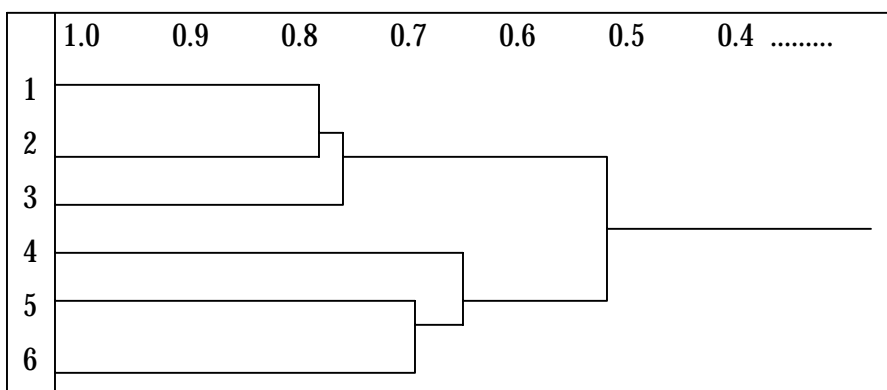


Figura A.7– Representação típica de um dendograma obtido pelo método HCA.

Neste dendograma as linhas horizontais representam as amostras e as linhas verticais indicam a similaridade entre elas. A similaridade varia de 0 (quando as amostras estão muito distantes) a 1 (quando os pontos são coincidentes).O resultado final de um dendograma nos permite verificar como as amostras se aglomeram e se há uma relação de semelhança entre os vários subgrupos formados.

A.5 – Análise de Primeiros Vizinhos – KNN

O método KNN²¹, utilizado principalmente na classificação de novos compostos para os quais não se tem informação experimental, é um método muito simples.

Assim como o HCA, ele utiliza o espaço e a distribuição das amostras construídos cuidadosamente no estudo do PCA. Para esta distribuição são calculadas as distâncias (euclidiana) entre uma amostra nova (um composto teste) e as amostras de um conjunto de treinamento (compostos de controle). Para um conjunto de treinamento com n amostras, n distâncias são calculadas para uma nova amostra e as menores K distâncias são selecionadas (onde K é um número inteiro). A nova amostra deverá ser classificada no subgrupo que contém o maior número de vizinhos dentro dos K selecionados.

A escolha do número de vizinhos K a serem considerados na investigação pode ser feita por otimização, determinando-se a habilidade de previsão de atividade para diferentes valores de K , dentro do grupo de treinamento. Normalmente o valor ótimo de K varia entre 3 e 5 vizinhos.

Este é um método que apesar da simplicidade matemática é capaz de classificar amostras dentro de várias categorias em uma mesma investigação. O método é sensível, no entanto, ao fato de na análise o número de amostras de um conjunto ser muito superior à do outro. Torna-se mais sensível ainda se, neste caso, os conjuntos estiverem muito próximos entre si.

A.6 – Referências

- 1- P. M. V. B. Barone, A. Camilo Jr., D. S. Galvão, *Phys. Rev. Lett.* **77**, 1186 (1996).
- 2- P. M. V. B. Barone, A. Camilo Jr., D. S. Galvão, *J Mol. Struct. (Theochem)* **505**, 55 (2000).
- 3- R. S. Braga, P. M. V. B. Barone, D. S. Galvão, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **464**, 257 (1999).
- 4- I. N. Levine, *Quantum Chemistry*, 4th ed., Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs: New Jersey, 1991.
- 5- R. Vendrame, R. S. Braga, Y. Takahata, D. S. Galvão, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **39**, 1094 (1999).
- 6- R. Vendrame, R. S. Braga, Y. Takahata, D. S. Galvão, *J. Mol. Struct (Theochem)* **529**, 253 (2001).
- 7- L. L. Mazzali e D. S. Galvão – submetido
- 8- M. Cyrillo, D. S. Galvão, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **464**, 267 (1999).
- 9- L. L. E. Santo, D. S. Galvão, *J. Mol. Struct. (Theochem)* **464**, 273 (1999).
- 10- R. Vendrame, V. R. Coluci, R. S. Braga e D. S. Galvão *J. Mol. Struct (Theochem)* **619**, 195 (2002).
- 11- R. S. Braga, R. Vendrame, D. S. Galvão, *J Chem Inf. Comput. Sci.* **40**, 1377(2000).
- 12- S. F. Braga e D. S. Galvão *J Chem Inf. Comput. Sci.* – aceito.
- 13- S. F. Braga e D. S. Galvão – submetido.
- 14- F. Sato e D. S. Galvão – a ser publicado.
- 15- F. Sato e D. S. Galvão – a ser publicado.
- 16- D. L. Massart, B. G. M. Vandeginste, S. N. Deming, Y. Michotte, L. Kaufman, *Chemometrics: a textbook 2*. Elsevier, Capítulo 21, pp369
- 17- J. M. Deane, *Multivariate Pattern Recognition in Chemometrics, illustrated by case studies*, R. G. Brereton (Editor), Elsevier, Amsterdam, 1992, Capítulo 5, pp125.
- 18- J. C. Miller e J. N. Miller, *Statistics for Analytical Chemistry*, Ellis Horwood Ptr Prentice Hall, New York, 1994 ,3ª edição, Capítulo 7, pp169.
- 19- T. Naes, P. Baardseth, H. Helgesen, T. Isakson *Meat Science* **43**, s135 (1996).

- 20- J. M. Deane, *Multivariate Pattern Recognition in Chemometrics, illustrated by case studies*, R. G. Brereton (Editor), Elsevier, Amsterdam, 1992, Capítulo 6, pp179.
- 21- D. L. Massart, B. G. M. Vandeginste, S. N. Deming, Y. Michotte, L. Kaufman, *Chemometrics: a textbook 2*. Elsevier, Capítulor 23.

Apêndice B

Outros Trabalhos Relacionados com a Tese.

B.1 – Introdução

Durante o período do meu doutoramento, além dos estudos apresentados nos capítulos 1, 2 e 3 desta tese, outros foram desenvolvidos em colaboração com pesquisadores de outras instituições do Brasil e do exterior.

Estes estudos, relacionados aos nanotubos de carbono, foram motivados pelo sucesso destes materiais tanto do ponto de vista acadêmico como tecnológico.

A sugestão de novas famílias de nanotubos com características eletrônicas novas e a proposta de um sistema dinâmico baseado em nanotubos concêntricos são discutidos nas seções deste apêndice.

B.2 – Formas alotrópicas do carbono e dispositivos dinâmicos.

Nos últimos 10 anos, a maior parte dos estudos ligados a compostos de carbono se relaciona com a investigação de fulerenos e nanotubos. Desde suas descobertas revolucionárias datadas de 1985¹ para os fulerenos, e 1991² para os tubos, estas novas formas de carbono têm atraído grande atenção para suas propriedades e suas aparentes inesgotáveis aplicabilidades.

Os nanotubos (NTs) ganharam grande notoriedade na comunidade científica por apresentarem raios nanométricos com comprimentos maiores em até 4 ordens de grandeza, serem mecanicamente fortes e rígidos (quando comparados com as fibras sintéticas) e principalmente por apresentarem comportamento condutor e semiconductor modulados unicamente por características estruturais, como seu raio e sua quiralidade³. Por simplicidade um NT pode ser teoricamente “construído” enrolando-se uma folha de grafite (grafeno). A direção em que esta folha é enrolada e o diâmetro do tubo formado podem ser obtidos de um par de números (n, m) que resumem então o tipo do tubo e suas propriedades. Os tubos para os quais $n=m$ são chamados armchair, aqueles em que $n=0$ com $m>n$ são chamados zig-zag, e os demais são tubos quirais.

Uma das aplicações dos NTs da mais alta importância é a possibilidade de se colocar em prática a idéia da miniaturização da eletrônica em escala molecular. Observando as possíveis aplicações já propostas para os NTs, verificamos que são inúmeras, incluindo compósitos condutores⁴, dispositivos de armazenamento e conversão de energia⁵, sensores⁶, fontes de radiação⁷, dispositivos semicondutores nanométricos⁸ e meio de armazenamento de gases⁹.

Mas as pesquisas envolvendo NTs ultrapassam o limite de seu uso como condutor, isolante ou dispositivos diversos. Elas trouxeram de volta o interesse pela investigação do grafite e incentivaram pesquisas em novas formas alotrópicas de carbono, que podem ser formas condensadas como os carbinos^{10,11}, carbolitos¹² e tubulanos¹³, ou novas estruturas como os planos, bolas e tubos de grafinos¹⁴ (os chamados fullereneinos¹⁵ e nanotubos de grafinos¹⁶).

Além dos estudos estáticos, os esforços envolvidos na efetivação de sistemas nanomecânicos têm aumentado o leque de propostas para um bom emprego dos nanotubos

e fulerenos. Dentre as mais novas proposições estão o funcionamento de osciladores formados de nanotubos concêntricos¹⁷, onde um tubo interno oscila dentro de um externo que funciona como uma capa. Este movimento “permanente” e de dissipação quase nula é causado e mantido por interações de van der Waals¹⁸ entre os tubos, podendo atingir frequências da ordem de gigahertz¹⁹.

B.2.1 – Os nanotubos de grafino.

Os grafinos representam novas fases do carbono, sendo formas alotrópicas propostas em 1987¹⁴. Estas fases do carbono são formadas por um arranjo planar de carbonos sp e sp² na forma de anéis aromáticos interconectados por grupos acetilênicos (Figura B.1).

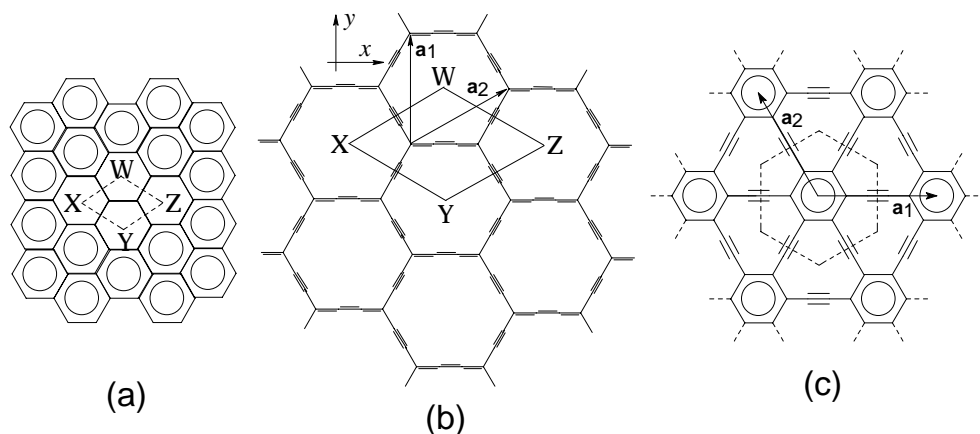


Figura B.1 – Estrutura química e representação para a célula unitária para: (A) grafeno, (B) α -grafino e (C) γ -grafino.

Muito esforço tem sido dedicado para o desenvolvimento de técnicas e metodologias para a síntese destes materiais. Novas possibilidades surgiram com a preparação dos hexaetilbenzenos, monômeros ideais para a construção do grafino^{20,21}.

Dentro da mesma proposta aplicada para o arranjo planar dos grafinos, estruturas como bolas (chamadas fullereneinos) e tubos (chamados nanotubos de grafino) de carbono contendo triplas ligações podem ser vislumbradas.

Se considerarmos a possibilidade da formação de tubos além dos convencionais, assim como um nanotubo convencional pode ser visto como uma folha de grafeno enrolada, novos nanotubos podem ser vistos como folhas de grafinos enroladas (Figura 3). A idéia de se enrolar folhas formando tubos não é nova, mas é novo o conceito de tubos formados a partir destas novas fases. Como um teste para verificar a potencialidade desta proposta, iniciamos a investigação da estrutura eletrônica para tubos formados com uma das possíveis fases dos grafinos, os α -grafinos, numa abordagem tight-binding¹⁶. Nos primeiros resultados obtidos pudemos verificar que os novos tubos estudados podem ser condutores ou semicondutores, e assim como para os convencionais este caráter obedece a uma regra bem definida. Este resultado promissor nos leva a crer que propriedades eletrônicas tão surpreendentes quanto às já observadas para os nanotubos poderão ser obtidas para os nanotubos de grafino.



Figura B.2 - Estrutura de um nanotubo γ -grafino.

Esses novos tubos apresentam uma porosidade superior à dos convencionais, além de uma maior flexibilidade devido à presença das triplas ligações em sua estrutura o que lhes concede também novas características mecânicas e elásticas. Devido à presença de grupos acetilênicos, um comportamento ótico singular é esperado para estas novas estruturas. Este comportamento tem por base estudos que apontam efeitos óticos não lineares de terceira ordem observados para supermoléculas dendrimétricas possuindo carbonos ligados em triplas ligações²⁴⁻²⁶.

Esta investigação foi desenvolvida em conjunto com Sérgio Legoas e Vitor Rafael Coluci (que fazem parte do Grupo de Sólidos Orgânicos e Novos Materiais sob orientação

do professor Douglas Soares Galvão) e com Ray H. Baughman (pesquisador chefe do NanoTech Institute do Departamento de Química da Universidade do Texas em Dallas). Os detalhes dos resultados obtidos para o estudo das propriedades eletrônicas dos nanotubos de grafinos e da abordagem adota neste estudo estão são apresentados na referência 16.

B.2.2 – Osciladores de nanotubos

A possibilidade de que movimentos oscilatórios fossem obtidos em nanotubos foi levantada em 2000 por John Cummings e Alex Zett¹⁷. Através de técnicas refinadas eles conseguiram abrir a extremidade de um tubo, externo a um conjunto de múltiplos tubos concêntricos (nanotubos multiwall). O próximo passo foi prender um manipulador nos tubos internos e trazê-los para fora, numa configuração tipo telescópio. Esta montagem foi realizada dentro um microscópio de transmissão eletrônica e permitiu o registro da retração do tubo telescopado sob a ação unicamente de forças atrativas de van der Waals entre os tubos (Figura B.3).

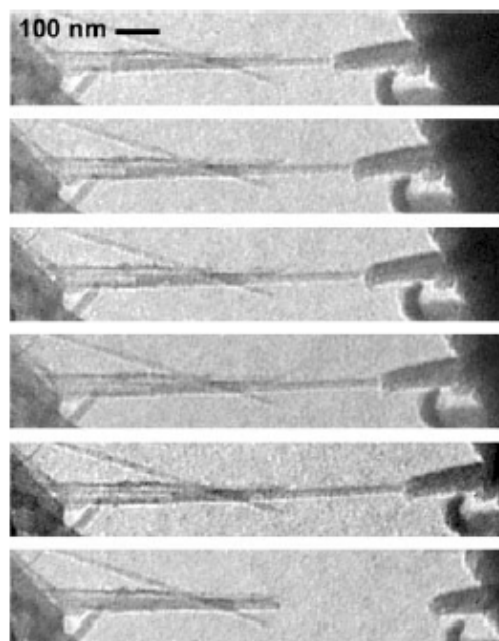


Figura B.3 – Parte do vídeo de retração do tubo interno após ser telescopado (fonte : referência 17)

No trabalho desenvolvido em colaboração com Sérgio Legoas e Vitor R. Coluci, (Unicamp, orientação do professor Douglas S. Galvão) e dos pesquisadores Sócrates de O. Dantas e Pablo Z. Coura (da Universidade Federal de Juiz de Fora)¹⁹ mostramos, através de simulações dependentes do tempo e da temperatura, que um conjunto de dois tubos concêntricos constitui um oscilador com frequências de gigahertz e sem nenhum atrito. A manutenção deste movimento depende apenas da distância radial entre os nanotubos de carbono (não estudamos ainda sistemas contendo heteroátomos), não importando sua característica estrutural (tubos, armchair, zig-zag ou quirais).

Além disso, propomos uma solução para a montagem de osciladores que funcionem livres de contaminação. O modelo de um halter é completamente fechado nas bordas e permite que o tubo interno oscile sem nenhuma alteração no movimento (Figura B.4).

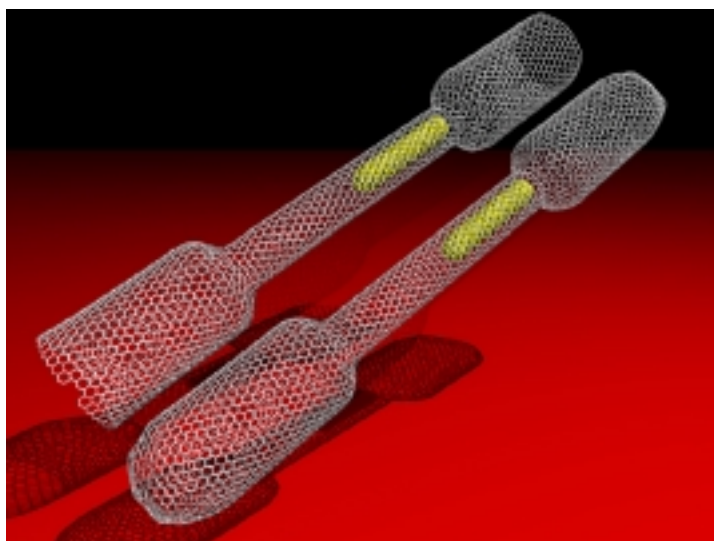


Figura B.4 – Figura artística do oscilador selado na forma de um halter.

Uma das propostas de inicialização do movimento oscilatório é através da utilização de um campo elétrico externo ao sistema de tubos. Pretendemos investigar as mudanças que poderão ocorrer no movimento oscilatório quando houver um desbalanço de cargas nos tubos, onde as cargas descreveriam o efeito da aplicação de um campo externo.

Este trabalho teve grande destaque, sendo escolhido como capa da revista *Physical Review Letter* de 7 de fevereiro de 2003 (detalhes na referência 19). Foi também destaque na *Revista Pesquisa Fapesp* de março de 2003²⁷.

B.3 – Referências

- 1- T. H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, H. and R. E. Smalley *Nature (London)* **318**, 162 (1985),
- 2- S. Iijima *Nature (London)* **354** (6348), 56-58 (1991),
- 3- S.J. Tans, M.H. Devoret, H.J. Dai, A. Thess, R.E. Smalley, L.J. Geerligs, C. Dekker *Nature*, **386**, 474 (1997),
- 4- M. J. Biercuk et al. *Appl. Phys. Lett.* **80**, 2767 (2002),
- 5- K. H. An et al. *Adv. Funct. Mater* **11**, 387 (2001),
- 6- S. S. Wong, E. Joselevich, A. T. Woolley, C. L. Cheung, C. M. Lieber, *Nature*, **394**, 52 (1998),
- 7- H. Sugie et al. *Appl. Phys. Lett.* **78**, 2578 (2001)
- 8- A. Bachtold, P. Hadley, T. Nakanishi, C. Dekker *Science*, **294**, 1317 (2001),
- 9- A. C. Dillon, K. M. Jones, T. A. Bekkedahl, C. H. Kiang, D. S. Bethune e M. J. Heben, *Nature*, **386**, 377 (1997),
- 10- F. Cataldo , *Polymer International*, **44**, 191 (1997),
- 11- N. Xiao, Q. Xu, S. Tsubota, J. Sun, J.B. Chen, *Organometallics*, **21**, 2764 (2002),
- 12- A. M. Ionov, S. Danzenbacher, S. L. Molodtsov, K. Koepernik, M. Richter, C. Laubschat, *Applied Surface Science* **175**: 207 (2001),
- 13- R. H. Baughman and D. S. Galvão, *Chem. Phys. Letters* **211**, 110 (1993),
- 14- R. H. Baughman, H. Echhardt and m. Kertesz, *J. Chem. Phys.* **87**, 6687 (1987)
- 15- R. H. Baughman, D. S. Galvão e C. Cui *Chem. Phys. Letters* **204**, 8 (1993).
- 16- V. R. Coluci, S. F. Braga, S. B. Legoas, D. S. Galvão e R. H. Baughman, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **739**, H5.6.1 (2003).
- 17- J. Cumings e A. Zettl, *Science* **289**, 602 (2000),
- 18- Q. Zeng e Q. Jiang, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 45503 (2002),
- 19- S. B. Legoas , V. R. Coluci, S. F. Braga, P. Z. Coura, S. O. Dantas e D. S. Galvão, *Phys. Rev. Let.* **90**, 55504-1 (2003).
- 20- M. Sonoda, A. Inaba, K. Itahashi, and Y. Tobe, *Org. Lett.* **3** 2419, 2001;
- 21- J. E. Anthony, S. I. Khan, and Y. Rubin, *Tetrahedron Letters* **38** 3499, 1997;
- 22- N. Hamada, S.-I. Sawada, and A. Oshiyama, *Phys. Rev. Lett.* **68**, 1579 (1992),

- 23- Y. Miyamoto, S. G. Louie and M. L. Cohen, *Phys. Rev. Lett.* **76**, 2121 (1996),
- 24- R. Kopelman, M. Shortreed, Z.-Y. Shi, W. Tan, Z. Xu, J. S. Moore, A. Bar-Haim, and J. Klafter, *Phys. Rev. Lett.* **78**, 1239 (1997),
- 25- D. Rana and G. Gangopadhyay, *Chem. Phys. Lett.* **334**, 314 (2001),
- 26- K. Harigaya, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1**, 1687 (1999),
- 27- Revista Pesquisa Fapesp número 85, março de 2003.

Apêndice C

Produção Científica

C.1 - Trabalhos Apresentados em Eventos Científicos

Título: Molecular dynamics simulation of carbon nanotubes as gigahertz oscillators.

Autores: S. F. Braga, S. B. Legoas, V. R. Coluci, P. Z. Coura, S. O. Dantas e D. S. Galvão.

Congresso: Eleventh International Workshop on Computational Physics and Materials Science: Total Energy and Force Methods.

Local: Trieste - Italia

Período: 16/01 a 18/01/2003

Título: Graphyne nanotubes. New families of carbon nanotubes.

Autores: Vitor R. Coluci, Scheila F. Braga, Sergio B. Legoas, Douglas S. Galvão e Ray H. Baughman.

Congresso: 2002 Materials Research Society Fall meeting

Local: Boston – EUA

Período: 2/12 a 6/12/2002

Título: The Graphynes. A new family of carbon nanotubes.

Autores: Scheila F. Braga, Vitor R. Coluci, Sergio B. Legoas, Douglas S. Galvão.

Congresso: I Congresso Brasileiro de Carbono

Local: Piracicaba – SP

Período: 18/11 a 20/11/2002

Título: Estudo da estrutura-atividade de inibidores da 5alfa-reductase humana.

Autores: Scheila F. Braga, Douglas S. Galvão.

Congresso: XXV Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada

Local: Caxambu - MG

Período: 7/5 a 11/5/2002

Título: Dual mode optical molecular switching systems for organic memories.

Autores: Douglas S. Galvão, Scheila F. Braga, Paulo M. V. B. Barone, Sócrates O. Dantas.

Congresso: 2001 Materials Research Society Fall meeting

Local: Boston – EUA

Período: 26/11 a 30/11/2001

Título: Molecular dynamics studies of the interaction of ellipticines with artificial membranes.

Autores: Scheila F. Braga, Alessandra A. Ribeiro, Pedro G. Pascutti, Douglas S. Galvão.

Congresso: XI Simpósio Brasileiro de Química Teórica.

Local: Caxambu- MG

Período: 18/11 a 21/11/2001

Título: Universal molecular quantum descriptors: a new SAR methodology.

Autores: Vitor R. Coluci, Scheila F. Braga, Paulo M. V. B. Barone, Douglas S. Galvão.

Congresso: 1º Simpósio Brasileiro em Química Medicinal. Novas Estratégias em Planejamento Racional de Fármacos

Local: Caxambu –MG

Período: 11/11 a 16/11/2001

Título: A new SAR methodology with universal quantum molecular descriptors.

Autores: Scheila F. Braga, Vitor R. Coluci, Rosana Vendrame, Paulo M. V. B. Barone e Douglas S. Galvão.

Congresso: 3rd Workshop on Chemical Structure and Biological Activity: Perspectives in QSAR.

Local: São Paulo - SP

Período: 8/11 a 10/11/2001

Título: Structure-activity studies of taxoids using pattern recognition methods.

Autores: Scheila Furtado Braga e Douglas Soares Galvão

Congresso: School on Computational Physics- CIFMC_UNB

Local: Brasília

Período: 20/8 a 24/8/2001

Título: Física contra o câncer.

Autores: Scheila Furtado Braga

Congresso: II Encontro de Jovens Pesquisadores no IFGW _ UNICAMP

Local: Campinas

Período: 4/7 a 6/7/2001

Título: Estudo da estrutura-atividade do Taxol e derivados.

Autores: Scheila F. Braga e Douglas S. Galvão

Congresso: XXIV Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada

Local: São Lourenço / MG

Período: 15/5 a 19/5/2001

Título: A theoretical investigation of photswitching molecular devices.

Autores: Paulo M. V.B. Barone, Scheila F. Braga, Sócrates O. Dantas e D. S. Galvão

Congresso: VII Escola Brasileira de Estrutura Eletrônica

Local: Goiânia/GO

Período: julho/2000

Título: Theoretical investigation on the photoswitching mechanism on chiroptical systems.

Autores: Scheila F. Braga e Douglas S. Galvão

Congresso: XXIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada

Local: Caxambu / MG

Período: 09/5 a 13/5/2000

Título: Estudo da estrutura eletrônica do Taxol e derivados.

Autores: Scheila F. Braga e Douglas S. Galvão

Congresso: XXIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada

Local: Caxambu / MG

Período: 09/5 a 13/5/2000

Título: A dual-mode photoswitching mechanism and charge transfer on chiroptical systems - theoretical study.

Autores: Sócrates. O. Dantas, Scheila F. Braga, Paulo M. V. B. Barone e Douglas S. Galvão

Congresso: Fourth International Topical Conference on Optical Probes of Conjugated Polymers and Photonic Crystals

Local: Salt Lake City /EUA

Período: fevereiro/2000.

Título: Estudo da estrutura eletrônica do 10 deacetil baccatin III.

Autores: Scheila F. Braga, Ricardo P. B. dos Santos e Douglas S. Galvão

Congresso: X Simpósio Brasileiro de Química Teórica

Local: Caxambu / MG

Período: 21/11 a 24/11/1999

C.2 - Publicações em Periódicos Internacionais

- S. F. Braga and D. S. Galvão, A Structure –Activity Study of Taxol, Taxotere and Derivatives Using the Electronic Indices Methodology (EIM), *Journal of Chemical Information and Computer Sciences* **43**, 699-706 (2003)
- S. B. Legoas, S. F. Braga, V. R. Coluci, P. Z. Coura, S. O. Dantas and D. S. Galvão Molecular-Dynamics Simulations of Carbon Nanotubes as Gigahertz Oscillators., *Physical Review Letters* **90**, 055504 (2003)
- Vitor R. Coluci, Scheila F. Braga, Sergio B. Legoas, Douglas S. Galvão and Ray H. Baughman., Graphyne nanotubes: New Families of Carbon Nanotubes, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **739**, H5.6.1- H5.5.6 (2003)
- Scheila F. Braga and Douglas S. Galvão, A Semiempirical Study on the Electronic Structure of 10-Deacetylbaaccatin-III, *Journal of Molecular Graphics and Modeling*, **21**, 57-70(2002)
- Douglas S. Galvão, Scheila F. Braga, Paulo M. V. B. Barone and Sócrates de O. Dantas., Dual-Mode Optical Molecular Switching Systems for Organic Memories, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **708**, (2002)
- S. F. Braga, D. S. Galvão, P. M. V. B. Barone and S. O. Dantas, A Theoretical Investigation on the Dual-Mode Photoswitching Mechanism of some Chiroptical Systems., *J. Phys. Chem. B* **105**, 8334-8338 (2001)
- Sócrates de O. dantas, Paulo M. V. B. Barone, Scheila F. Braga e Douglas S. Galvão., A Dual-Mode Photoswitching Mechanism and Charge Transfer on Chiroptical Systems – Theoretical Study., *Synthetic Metals* **116** (1-3), 275-279 (2001).