

Modelagem Molecular de Novas Estruturas com Potencial Atividade Farmacológica

Leandro S. Bergmann & João B. L. Martins

Neste trabalho foram estudados derivados citotóxicos da nor- β -lapachona, uma hidroxinaftoquinona substituída, 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona. O Método de funcional de densidade foi utilizado, com o funcional de troca-correlação híbrido B3LYP e função de base 6-311+G(2d). Todas as estruturas foram otimizadas com nível B3LYP/6-311+G(2d), após estudo conformacional com o método semi-empírico PM3. Inicialmente as geometrias foram otimizadas no vácuo no nível B3LYP. Numa segunda etapa foram otimizadas utilizando o método contínuo de solvente CPCM. Com o resultados de estrutura eletrônica foram realizados estudos estatísticos com o método das componentes principais, bem como o uso de regressão linear múltipla para avaliar a relação com a atividade destes compostos..

Palavras-chave: *lapachonas, efeito do solvente, DFT.*

In this work we have studied cytotoxic derivatives of nor- β -lapachones. The method of density functional was used with the hybrid exchange-correlation functional B3LYP, and 6-311+G(2d) basis function. All structures were optimized at the B3LYP/6-311+G(2d) level, followed by a conformational study with semi-empirical PM3 method. Initially, the geometries were optimized in the vacuum at B3LYP level. In a second step these geometries were optimized using the CPCM solvent continuum method. Statistical studies were carried out with the results of electronic structure, using the principal component analysis, as well as the multiple linear regression in order to analyze the relation with the activity of these compounds.

Keywords: *lapachones, solvent effect, DFT.*

Introdução

A busca por novos tratamentos anticancer, antibacterial, tripanomicida, entre outros, têm sido de grande importância na química medicinal¹. Compostos que apresentam o derivado quinonóide são de interesse farmacológico, estudados pela sua atividade antitumoral e antimalária²⁻⁴. Derivados citotóxicos da nor- β -lapachona fazem parte de uma crescente e contínua busca por novos compostos ativos. O lapachol é uma hidroxi-naftoquinona substituída, 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona, é extraída da casca de várias espécies de plantas do gênero *Tabebuia*.

A modelagem é um dos campos da química computacional que tem tido grande desenvolvimento nas últimas décadas. É caracterizada por aplicações da Mecânica Clássica e de métodos estocásticos, como Monte Carlo. Desta forma possibilita a predição do comportamento espacial e químico da interação entre um receptor biológico (macromolécula) e um ligante. O estudo de docking molecular é uma das aplicações da modelagem molecular mais utilizadas para desenhar o reconhecimento molecular^{6,7}.

Para esses sistemas é possível usar métodos híbridos que utilizam além das equações da mecânica molecular, as considerações da mecânica quântica para resolver parte do problema de reconhecimento molecular. São os métodos denominados QM/MM (Quantum Mechanics/Molecular Mechanics)^{6,8}.

Estes estudos são fundamentais no desenho de novos fármacos e no melhoramento de modelos já existentes, levando a predição de agonistas modificados ou antagonistas atuantes no sítio ativo do receptor^{6,9}.

O uso de métodos de estrutura eletrônica torna possível obter informações acerca das interações, como o mapa de potencial eletrostático, o contorno da densidade eletrônica, a energia e os coeficientes dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO¹⁰, bem como outros métodos podem obter a hidrofobicidade, lipofilicidade, interações eletrostáticas, ligações hidrogênio, interações com metais, IC_{50} , toxicidade, área de superfície polar, $\log P$ e $\log S$, os quais são alguns exemplos das propriedades moleculares de maior interesse para a definição do padrão farmacofórico que serão usadas neste trabalho.

Os compostos estudados neste trabalho foram

sintetizados por da Silva e colaboradores^{1,3,4}. O objetivo deste trabalho é descrever a atividade dos compostos estudados através de suas propriedades eletrônicas, usando a teoria do funcional da densidade (DFT).

Metodologia

Para o estudo de estrutura eletrônica foram utilizados o método semi-empírico PM3 e o *ab initio* DFT com o funcional híbrido B3LYP.

Para o método *ab initio* foi empregada a função de base 6-311+G(2d). Todas as geometrias dos fármacos foram otimizadas em coordenadas internas com otimização completa de todos os parâmetros geométricos (distâncias, ângulos e diedros). Cálculos de frequência vibracional foram utilizados para acompanhar o mínimo das geometrias obtidas, bem como correlacionar com dados experimentais.

Os estudos teóricos, para determinar os parâmetros estruturais e eletrônicos, foram realizados através do programa Gaussian 09⁵. Numa segunda etapa foram otimizadas utilizando o método contínuo de solvente CPCM⁵. Para traçar os componentes principais dos dados obtidos neste estudo, foi utilizado o método de análise multivariada PCA e de regressão linear múltipla, com o qual o mapeamento do perfil farmacofórico foi realizado.

Resultados e Discussão

A nomenclatura das moléculas era ensj + dois números. Os substituintes das moléculas, que apresentavam o núcleo estão representado na Figura 1.

As moléculas utilizadas para a realização dos cálculos computacionais são representadas na Figura 2. A maioria delas representa o núcleo representado pela Figura 1, sendo que, apesar do fato de que todas elas foram otimizadas, apenas as que apresentam este núcleo característico foram utilizadas para a regressão linear múltipla e a principal component analysis (PCA).

Os cálculos realizados em todas as moléculas são representados na tabela 1 a seguir.

Para a realização da regressão linear múltipla e da PCA, foram utilizadas apenas algumas propriedades aplicadas somente àquelas moléculas que apresentam o núcleo representado na figura. Tirando algumas moléculas que não apresentam propriedades cruciais ou

que elas sejam muito discrepantes, as que sobraram para a realização da PCA e da regressão linear múltipla foram: ensj01, ensj04, ensj22, ensj23, ensj24, ensj25, ensj31, ensj33, ensj35, ensj38, ensj39, ensj40.

ensj01, $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$,

ensj04, $R_1 = R_2 = R_4 = H$; $R_3 = F$,

ensj22, $R_1 = R_2 = R_4 = H$; $R_3 = NO_2$,

ensj23, $R_1 = R_2 = R_4 = H$; $R_3 = Cl$,

ensj24, $R_1 = R_2 = R_4 = H$; $R_3 = Br$,

ensj25, $R_1 = R_2 = R_4 = H$; $R_3 = OMe$,

ensj31, $R_1 = R_3 = Br$; $R_2 = R_4 = H$,

ensj32, $R_1 = R_4 = H$; $R_2 = R_3 = Cl$,

ensj33, $R_1 = NO_2$; $R_2 = R_4 = H$; $R_3 = OMe$,

ensj34, $R_1 = Me$; $R_2 = R_3 = H$; $R_4 = NO_2$,

ensj35, $R_1 = R_4 = H$; $R_2 = NO_2$; $R_3 = F$,

ensj36, $R_1 = R_3 = NO_2$; $R_2 = R_4 = H$,

ensj37, $R_1 = H$; $R_2 = R_3 = R_4 = OMe$,

ensj38, $R_1 = NO_2$; $R_2 = R_3 = R_4 = H$,

ensj39, $R_1 = Me$; $R_2 = R_3 = H$; $R_4 = NO_2$,

ensj40, $R_1 = R_2 = OMe$; $R_3 = H$,

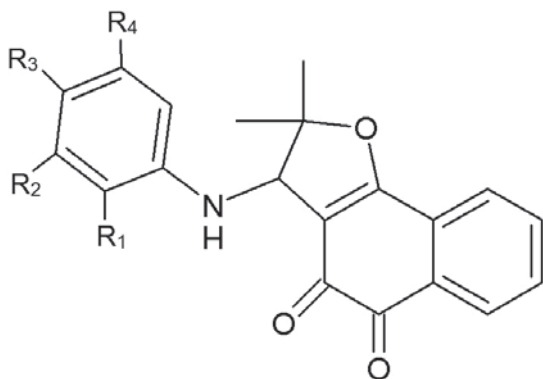


Figura 1. Representação do núcleo presente nas moléculas utilizadas para as análises.

A equação obtida para o HL-60 apresentou o R^2 de 0,987438, enquanto que a equação para o HCT-8

apresentou 0,995041. As propriedades utilizadas para a regressão foram: E(HOMO), E(LUMO), E(HOMO-1), E(HOMO-2), E(HOMO-3), E(HOMO-4), E(HOMO-5), Dipolo, Frequência (C=O)₁, Frequência (C=O)₂, Frequência (R₂NH). Foram obtidas as seguintes equações para cada um dos IC₅₀:

$$HL-60 = 101,01 * E(HOMO) - 145,94 * E(LUMO) - 309,01 * E(HOMO-1) + 374,55 * E(HOMO-2) - 91,87 * E(HOMO-3) + 214,99 * E(HOMO-4) + 457,78 * E(HOMO-5) + 0,27 * Freq.(C=O)_1 + 0,15 * Freq.(C=O)_2 - 0,03 * Freq.(R_2NH).$$

$$HCT-8 = 4,57 * E(HOMO) - 93,84 * E(LUMO) - 1003,61 * E(HOMO-1) + 1626,46 * E(HOMO-2) - 18,37 * E(HOMO-3) - 84,35 * E(HOMO-4) + 97,87 * E(HOMO-5) + 0,03 * Freq.(C=O)_1 + 0,11 * Freq.(C=O)_2 - 0,01 * Freq.(R_2NH).$$

Analisando as equações, observa-se que as propriedades que mais influenciam o valor do IC₅₀ são o HOMO-1 e o HOMO-2. Para uma melhor observação do que estes resultados significam, pode-se analisar uma representação gráfica dos orbitais eletrônicos em qualquer uma das moléculas. Como exemplo, os orbitais eletrônicos da molécula ensj22 são mostrados na Figura 3.

Um interessante padrão que vem da análise destes orbitais é que o HOMO está totalmente localizado no anel substituído, enquanto que o LUMO está totalmente localizado na nor-β-lapachona. Também é observado que o HOMO-1 e o HOMO-2 estão localizados no mesmo anel do LUMO.

A PCA foi feita com as mesmas moléculas e propriedades utilizadas para a realização da regressão linear múltipla. Para uma melhor análise, as moléculas podem ser divididas entre ativantes e desativantes de acordo com os substituintes ligados ao fragmento de arilamina. A Tabela 2 mostra a divisão.

A PCA (Figuras 4, 5, 6) de todas as moléculas mostra que tal análise é capaz de separar as moléculas de acordo com seus substituintes, não tendo nenhuma relação com o IC₅₀.

A molécula com os substituintes mais ativantes é o ensj40, com dois -OMe ligados ao fragmento de arilamina. Esta molécula fica no extremo direito da PCA, indicando que o poder ativante dos substituintes aumenta da esquerda para a direita. As moléculas com os substituintes mais desativantes são a ensj22 e a

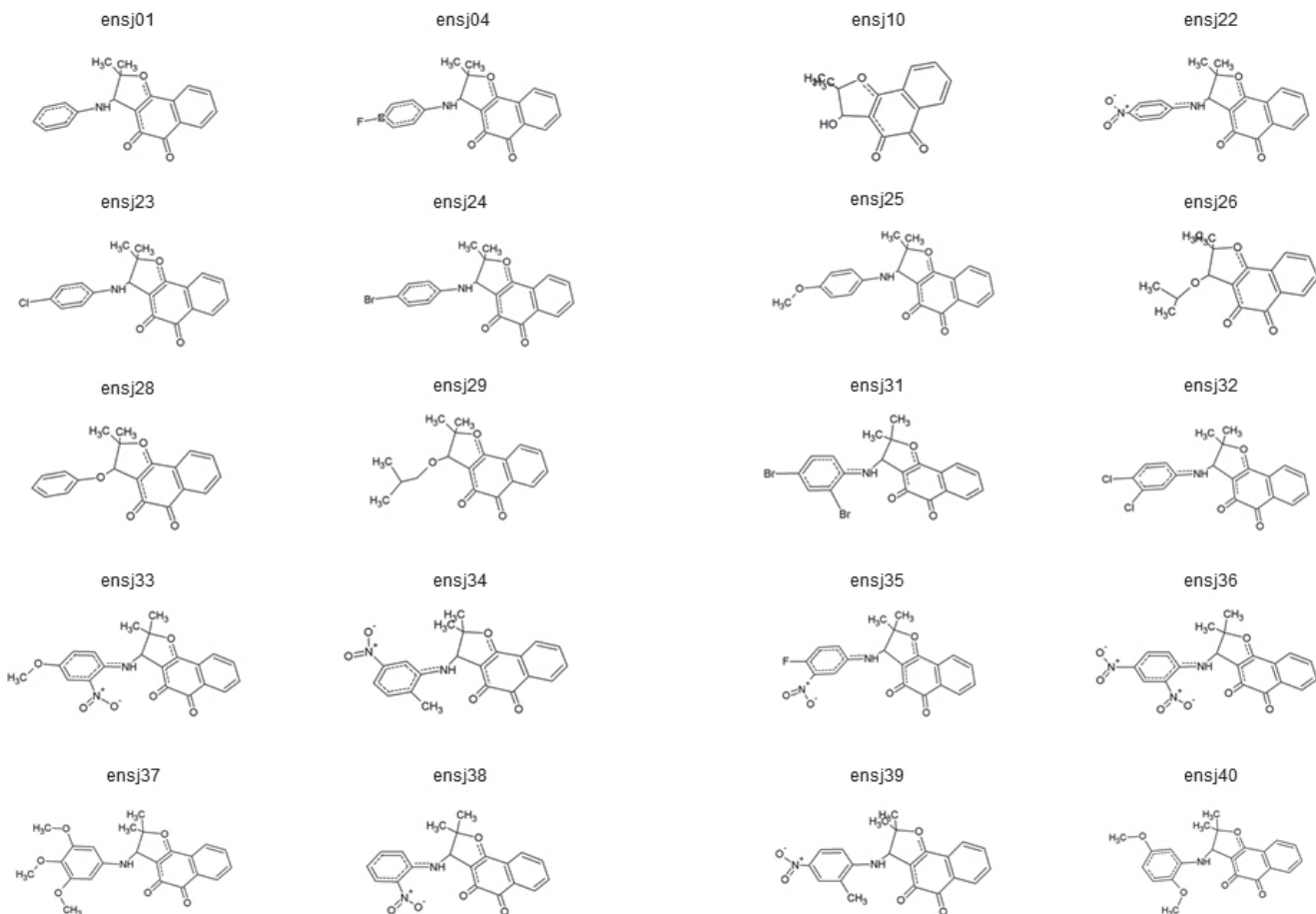


Figura 2. Representação de todas as moléculas utilizadas nos cálculos computacionais.

ensj38. Ambas se situam no extremo esquerdo da PCA, confirmando a hipótese de que o poder ativante dos substituintes aumenta da esquerda pra direita.

A divisão apenas ocorre quando se observa a PC1, enquanto que a PC2 não apresenta qualquer relação com o poder ativante dos substituintes. Uma PCA apenas das moléculas que se caracterizam como ativantes ou uma apenas das desativantes é outra tentativa de se achar alguma relação da PCA com as atividades dos compostos.

Uma análise detalhada dos valores de atividade de cada composto, levando em conta as posições que eles ocupam tanto na PC1 quanto na PC2, mostra baixa relação entre as PCA's e as atividades (IC_{50}) dos compostos estudados. As PCA's das moléculas ativantes e desativantes mostram que apesar de não existir qualquer relação que defina um padrão para os IC_{50} , elas conseguem dividir as moléculas

mais ativantes das menos ativantes e as mais desativantes das menos desativantes.

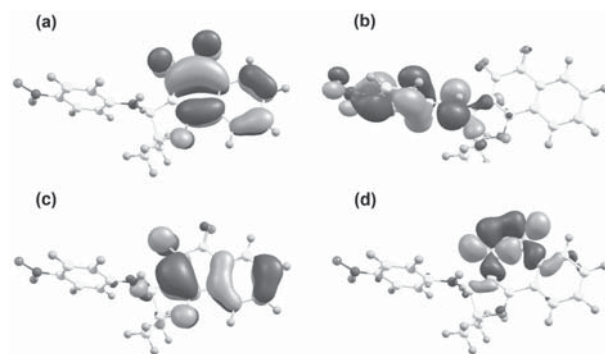


Figura 3. Representação do LUMO(a), HOMO(b), HOMO-1(c) e HOMO-2(d), da molécula ensj22.

Tabela 1. Energia dos orbitais (u.a.).

Molécula	HOMO	LUMO	HOMO-1	HOMO-2	HOMO-3	HOMO-4	HOMO-5
ensj01	-0.211	-0.126	-0.251	-0.262	-0.263	-0.285	-0.297
ensj04	-0.212	-0.126	-0.251	-0.264	-0.271	-0.285	-0.298
ensj10	-0.250	-0.136	-0.264	-0.285	-0.298	-0.300	-0.313
ensj22	-0.231	-0.127	-0.254	-0.266	-0.284	-0.286	-0.299
ensj23	-0.213	-0.134	-0.252	-0.264	-0.272	-0.285	-0.298
ensj24	-0.213	-0.126	-0.252	-0.264	-0.272	-0.285	-0.291
ensj25	-0.199	-0.133	-0.250	-0.262	-0.264	-0.283	-0.297
ensj26	-0.247	-0.133	-0.260	-0.274	-0.284	-0.296	-0.309
ensj28	-0.237	-0.135	-0.254	-0.264	-0.267	-0.286	-0.299
ensj29	-0.247	-0.133	-0.261	-0.274	-0.284	-0.296	-0.310
ensj31	-0.218	-0.126	-0.253	-0.264	-0.267	-0.285	-0.295
ensj32	-0.218	0.074	-0.252	-0.264	-0.267	-0.285	-0.298
ensj33	-0.217	-0.127	-0.253	-0.265	-0.286	-0.288	-0.298
ensj34	-0.223	-0.127	-0.253	-0.265	-0.277	-0.285	-0.298
ensj35	-0.224	-0.127	-0.253	-0.265	-0.285	-0.292	-0.298
ensj36	-0.250	-0.128	-0.257	-0.268	-0.287	-0.301	-0.306
ensj37	-0.201	-0.126	-0.230	-0.251	-0.261	-0.272	-0.281
ensj38	-0.231	-0.136	-0.254	-0.265	-0.286	-0.287	-0.299
ensj39	-0.228	-0.136	-0.254	-0.265	-0.275	-0.286	-0.299
ensj40	-0.199	-0.134	-0.230	-0.251	-0.263	-0.285	-0.295

Conclusão

A regressão múltipla linear mostrou que os orbitais HOMO-1 e HOMO-2 são de grande importância na determinação das atividades dos compostos estudados. A PCA, além de dividir os compostos entre ativantes e desativantes, foi capaz de determinar o poder ativante dos substituintes ligados ao fragmento arilamina com precisão razoável. A PCA não foi capaz de criar qualquer padrão relacionando as propriedades calculadas com os IC_{50} das moléculas estudadas. As figuras dos orbitais moleculares dos compostos mostra que o HOMO está totalmente localizado no anel substituído enquanto que o LUMO

está totalmente localizado na nor- β -lapachona, sendo que o HOMO-1 e o HOMO-2 estão localizados no mesmo anel do LUMO, apontando a importância desta parte do composto na determinação da atividade.

Tabela 2. Divisão das moléculas entre ativantes e desativantes de acordo com os substituintes ligados ao fragmento de arilamina.

Característica	Moléculas
Neutro	ensj01
Ativante Fraco/Médio	ensj04, ensj23, ensj24, ensj31, ensj32
Ativante Forte	ensj25, ensj37, ensj40
Desativante Forte	ensj22, ensj33, ensj34, ensj35, ensj36, ensj38, ensj39.

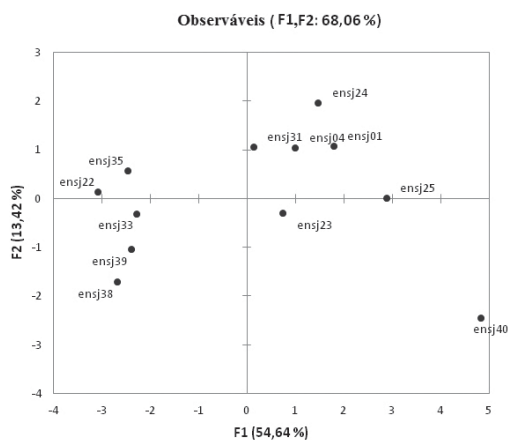


Figura 4. PCA de todas as moléculas utilizadas para a regressão, sem IC₅₀.

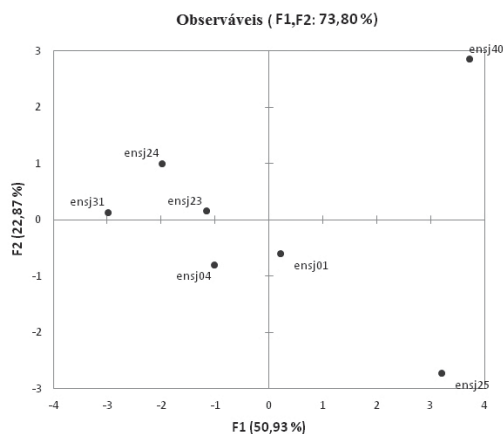


Figura 5. PCA das moléculas caracterizadas como ativantes.

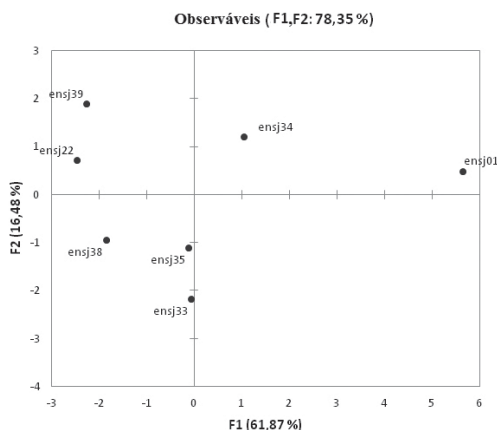


Figura 6. PCA das moléculas caracterizadas como desativantes.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao IQ-UnB, ao CNPq e ao INCTNM.

Bibliografia

- da Silva, M. N.; Souza, M. C. B. V. d.; Ferreira, V. F.; Pinto, A. V.; Pinto, M. d. C. R. F.; Wardell, S. M. S. V.; Wardell, J. L. *Arquivos* **2003**, 1, 156 - 168.
- Bonifazi, E. L.; Ríos-Luci, C.; León, L. G.; Burton, G.; Padrón, J. M.; Misico, R. I. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 2621.
- da Silva, E. N.; Cavalcanti, B. C.; Guimaraes, T. T.; Pinto, M. d. C. F. R.; Cabral, I. O.; Pessoa, C.; Costa-Lotufo, L. V.; Moraes, M. O. d.; Andrade, C. K. Z. d.; Santos, M. R. d.; Simone, C. A. d.; Goulart, M. O. F.; Pinto, A. V. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 43, 399.
- Júnior, E. N. da S.; Menna-Barreto, R. F. S.; Pinto, M. C. F. R.; Silva, R. S. F.; Teixeira, D. V.; Souza, M. C. B. V. d.; Simone, C. A. d.; Castro, S. L. d.; Ferreira, V. F.; Pinto, A. V. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, 43, 1774.
- Gaussian 09, Revision C.02, M. J. Frisch. Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**.
- Nemukhin, A. V.; Lushchekina, S. V.; Bochenkova, A. V.; Golubeva, A. A.; Varfolomeev, S. D.; *J. Mol. Model.* **2008**, 14, 408.
- Magalhães, C. S.; Barbosa, H. J. C.; Dardene, L. E. in *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*, Morgon, N. H.; Coutinho K.; 1st ed., Editora Livraria da Física: São Paulo, **2007**, cap. 14.
- Moliner, V.; Martí, S.; *J. Chem. Theory Comput.* **2005**, 1, 1008.
- Brooijmans, N.; Kuntz, I. D.; *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2003**, 32, 335.
- Kuntz, I. D.; Blaney, J. M.; Oatley, S. J.; Langridge, R.; Ferrin, T. E.; *J. Mol. Biol.* **1982**, 161, 269.

Leandro S. Bergmann* & João B. L. Martins

Laboratório de Química Computacional, Instituto de Química, Universidade de Brasília - CP 4478, Brasília, DF, Brasil, 70904970.

*e-mail: leandro.bergmann@gmail.com