

Correlação da eficiência analgésica com a estrutura eletrônica de compostos Imidazólicos

Nélio Henrique Nicoletti¹ e Francisco Carlos Lavarda¹

¹POSMA/ Faculdade de Ciências/ Universidade Estadual Paulista - Caixa Postal 473, CEP 17015-970, Bauru, SP, Brasil
nelionic@fc.unesp.br

Resumo

Os derivados imidazólicos, amplamente empregados pela indústria farmacêutica, são substâncias sintéticas dotadas de vasto espectro de atividade analgésica. Neste trabalho investigamos descritores puramente eletrônicos para modelar a atividade analgésica de um subgrupo destas moléculas, obtidos utilizando cálculos semi-empíricos de orbitais moleculares. Para este subgrupo, os resultados indicam que o momento de dipolo elétrico pode ser utilizado como descritor para distinguir substâncias ativas das não ativas.

Abstract

The imidazolic compounds, extensively employed by the pharmaceutical industry, are synthetic substances with a wide variety of analgesic activity. In this work we investigate purely electronic descriptors in order to model the analgesic activity of a subgroup of these molecules, obtained through semi empirical molecular orbital calculations. To this set of molecules, the results show that the electric dipole moment can be used as a descriptor to distinguish between active and non-active substances.

1 Introdução

Analgésicos são medicamentos que possuem efeito sedativo, ou seja, modificam a percepção da dor no organismo. Geralmente levam à sedação, mas não à perda da consciência, atenuando ou suprimindo a dor, sem alterar a percepção de outras sensações. Esses medicamentos possuem uma grande quantidade de princípios ativos diferentes, pois os tipos específicos de dor e suas causas respondem melhores a um determinado tipo de analgésico do que a outro. Entre as classes terapêuticas mais consumidas, os analgésicos ocupam um lugar de destaque no mercado mundial. São muito utilizados no combate às cefaléias e enxaquecas. Estes são problemas que só no Brasil atingem cerca de 34 milhões de pessoas, com maior incidência nas idades de 35 a 45 anos. Quando consumidos em excesso, podem causar graves danos à saúde. Podemos então estimar a dimensão do impacto sócio-econômico negativo que a má utilização e os medicamentos de baixa eficácia podem gerar. Isto torna evidente a necessidade da obtenção de analgésicos eficazes [1].

Dentre os fármacos com propriedades analgésicas, a família de compostos imidazólicos vem sendo largamente utilizada pela indústria, devido à sua fácil absorção pelo organismo e pelo grande potencial analgésico de alguns de

seus derivados. Estas características implicam no uso de menores doses do fármaco para obtenção da resposta biológica durante o tratamento e conseqüentemente diminuem os riscos para os pacientes. Em trabalhos recentes, foram relatadas evidências que esses compostos, quando administrados com outras drogas, atenuam o desenvolvimento de tolerância e dependência aos efeitos analgésicos de substâncias como a morfina, caracterizando a relevância da continuidade das pesquisas com esses compostos [2].

A ação terapêutica de um determinado composto é resultante da sua interação com os sistemas biológicos, sendo portanto altamente dependente de sua estrutura química e conseqüentemente da distribuição eletrônica e de cargas. Esses fatos tornam evidente que dois fármacos podem possuir estruturas semelhantes, mas apenas um átomo diferente ou em outra posição na molécula pode fornecer propriedades físico-químicas e atividade biológica diferente da esperada. Assim um estudo quantitativo da estrutura eletrônica da molécula pode nos fornecer detalhes de sua bioatividade. Com o emprego desses conceitos, surge no século passado uma nova área de pesquisa (*Quantitative Structure-Activity Relationship*, QSAR) que tenta prever propriedades utilizando modelos

matemáticos que relacionam propriedades estruturais com a atividade biológica [3].

Nas últimas décadas, os avanços na química computacional levaram a pesquisa de fármacos a tomar novos rumos com a utilização de técnicas de modelagem molecular. Esta consiste na investigação das estruturas e das propriedades moleculares empregando conceitos da química teórica e cálculos quânticos. Com esses métodos teóricos podemos planejar fármacos auxiliados por computadores, avaliando e prevendo certas características moleculares que são de fundamental importância no entendimento das correlações estrutura-atividade, permitindo o desenvolvimento racional de novas drogas que possuam um perfil mais adequado para as necessidades atuais.

Este trabalho tem como objetivo principal investigar a dependência da atividade biológica de um grupo de compostos imidazólicos, determinada empiricamente, com relação a seus índices eletrônicos obtidos através de cálculos mecânico-quânticos, procurando por relações quantitativas entre a estrutura química e a atividade dos compostos bem como fornecer possíveis indicações para o desenvolvimento de novos fármacos. Também pretendemos com esse estudo melhorar o modelo proposto por Neely, White e Rudzik [4] do qual obtivemos os dados experimentais. Procuramos um modelo mais simples, empregando um nível de teoria mais elevado, para descrever a relação estrutura-atividade, pois naquele trabalho há um excesso de parâmetros empregados em relação à quantidade de moléculas analisadas. Isto se torna importante em vista do fato que o modelo original ainda é citado em artigos de revisão [5].

2 Metodologia

Neste trabalho analisamos um grupo de seis moléculas, todas resultantes de uma estrutura principal composta por uma molécula de 2-imidazolina ligada a um metoxibenzeno. Esta última estrutura será receptora dos radicais, nos átomos 2, 3 e 6 do anel, formando os diferentes compostos estudados (Figura 1).

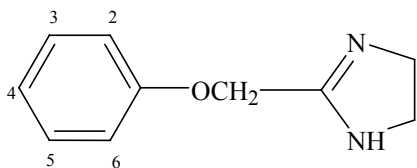


Figura 1: Estrutura principal dos compostos analisados.

A propriedade de interesse que tentamos correlacionar com os índices eletrônicos é uma propriedade farmacológica, dada pela atividade analgésica de cada um dos compostos, definida como ED_{50} . Este é a concentração molar do fármaco capaz de produzir 50% de seu efeito

analgésico máximo, considerando a relação entre a quantidade administrada do fármaco (via oral, em miligramas) por quilograma de massa corpórea da cobaia teste [3]. Quanto menor o valor de ED_{50} , melhor o potencial analgésico.

As geometrias iniciais dos compostos foram obtidas através de mecânica molecular (campo de força MM⁺ [6]). Os demais cálculos, incluindo a otimização de geometria e da estrutura eletrônica foram realizados utilizando o método semi-empírico *Austim Model 1* (AM1), implementado no pacote MOPAC versão 7 [7]. O AM1 é comprovadamente eficaz no cálculo do calor de formação e na otimização de geometrias de moléculas orgânicas [7]. É um método Hartree-Fock de campo autoconsistente baseado na aproximação *Neglect of Diatomic Differential Overlap* na qual, além de desprezar as integrais de sobreposição entre orbitais atômicos em átomos diferentes, todas as demais integrais são calculadas por meios aproximados levando em consideração estudos empíricos. Um estudo comparativo para uma molécula que contém o grupo imidazólico [8] com os métodos *Modified Neglect of Differential Overlap* (MNDO) e *Parametric Method 3* (PM3) [7] indicam que o AM1 fornece o menor erro médio. Como na literatura temos poucos dados experimentais sobre a geometria dessas moléculas, uma busca por conformeros foi realizada para encontrar estruturas que viessem a possuir as menores energias. Para cada um dos compostos estudados, o anel imidazólico teve em relação ao metoxibenzeno os ângulos de ligação e de torção variados a partir de um ponto inicial de 10 em 10 graus até cobrir todas as possibilidades. O posicionamento dos radicais também foi estudado de modo similar. Os conformeros então gerados foram otimizados, sendo escolhidos os que apresentaram menor energia total. A otimização da geometria foi considerada completa quando a norma do gradiente atingiu valores inferiores a 0,01 e não se constatavam frequências vibracionais negativas. Todos os cálculos foram realizados *in vacuo* empregando o método *Restricted Hartree-Fock*.

Pretendemos propor um modelo matemático que consiga não apenas descrever, mas também prever relações estrutura-atividade com boa qualidade. De maneira a explicar a atividade biológica desses compostos, seguimos as cinco regras estabelecidas por Unger e Hansch para estudos de QSAR [9, 10, 11], que são enunciadas a seguir: (1) seleção de variáveis independentes: deve-se testar grande número de variáveis e as selecionadas na melhor equação devem ser essencialmente independentes; (2) validação estatística das variáveis selecionadas: cada variável incluída na melhor equação precisa ser validada por testes estatísticos apropriados, tais como o teste F; (3) princípio da parcimônia (Navalha de Occam): quando houver dúvida na escolha de um entre muitos modelos (aproximadamente) equivalentes, deve-se escolher o mais simples; (4) número de variáveis em cada modelo de regressão: para minimizar a ocorrência de correlação por

coincidência, deve haver, no mínimo, cerca de cinco ou seis compostos para cada variável incluída no modelo; (5) modelo qualitativo para o mecanismo de ação dos compostos: é essencial que o modelo quantitativo de relação entre estrutura e atividade seja consistente com o mecanismo de ação, em nível molecular, dos compostos testados. Apesar da idéia de que essas regras fossem utilizadas para estabelecer uma metodologia na elaboração de modelos clássicos de QSAR, o que não é nosso caso, a utilização delas neste trabalho tem como finalidade melhorar a consistência do modelo matemático proposto, validando nossos resultados.

As variáveis testadas se constituem do mesmo conjunto de índices eletrônicos, calculados para todos os diferentes compostos. Estes índices tendem a serem diferentes para cada composto, pois eles são dependentes dos diferentes substituintes ligados nas posições orto e meta da estrutura principal. Os elementos substituídos são descritos na Tabela 1. Os índices eletrônicos constituem-se do calor de formação, momento de dipolo elétrico, energias dos orbitais moleculares de fronteira (do último ocupado (E_U), do penúltimo ocupado, do primeiro desocupado (E_P) e do segundo desocupado), grandezas calculadas a partir deles (como a eletronegatividade de Mülliken, $(E_U + E_P)/2$) e populações eletrônicas parciais e totais.

Por se tratar de um número pequeno de compostos, buscou-se encontrar uma única variável na tentativa de minimizar a ocorrência de correlações por coincidência. Para a variável escolhida, o modelo teve o grau de ajuste avaliado, através do cálculo do coeficiente de correlação (r) e do desvio-padrão (s) e a seguir avaliamos o grau de significância estatística medida através da execução do teste-F [12]. O parâmetro r indica o quão próximo de uma relação absolutamente linear se encontram as variáveis dependente e independente. Já s indica o erro de predição do modelo. O que se espera de um bom modelo de regressão linear é que apresente o módulo de r o mais próximo possível de 1 e que o valor de s seja o mais próximo possível de zero. Além disto, r^2 corresponde à fração da variabilidade total dos dados explicada pelo modelo. O teste-F constitui no cálculo de um valor (F), a partir dos valores das variáveis dependente e independente, que é usado para determinar o valor de p . Este por sua vez, é a probabilidade de que se possa rejeitar a hipótese de que não exista uma relação linear entre a variável dependente e a independente. Usualmente, valores de p abaixo de 0,05 são considerados aceitáveis, sendo que valores abaixo de 0,01 são considerados ótimos [12]. E a significância estatística, calculada como $(1-p) \times 100$, é simplesmente a porcentagem de chances de que o modelo linear realmente seja válido. O teste-F pode ser aplicado em várias outras situações além da que temos aqui e tem 2 parâmetros. O "número de graus de liberdade do numerador", calculado como $N-1$, sendo que N é o número de variáveis envolvidas no problema (N é igual a 2 no nosso caso). E o "número de graus de liberdades do denominador", calculado como $M-2$,

sendo que M é o número de amostras envolvidas no problema (M é igual a 6 no nosso caso). Temos assim um número $F_{1,4}$ [12].

Tabela 1: Substituintes do grupo de imidazolinas, potencial analgésico e momento de dipolo teórico.

Molécula	Substituintes	LogED ₅₀	μ_{TOTAL} (Debye)
1	2,6-CH ₃	0,2218	1,388
2	2-Br, 6-Cl	0,3010	1,869
3	2,6-Br	0,5052	1,933
4	2,6-Cl	0,5185	1,951
5	2,6-Cl, 3-CH ₃	0,7324	2,279
6	2,6-OCH ₃	1,3980	3,376

3 Resultados e discussões

Utilizando os resultados dos cálculos da estrutura eletrônica observamos que o momento de dipolo elétrico total (μ_{TOTAL}), resultante da interação entre as diferentes cargas encontradas para cada molécula estudada, pode ser correlacionado como possível descritor da atividade biológica.

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise da regressão linear entre as variáveis dependente (LogED₅₀) e independente (μ_{TOTAL}), que resultou no modelo expresso pela seguinte equação:

$$\log ED_{50} = -0,7114 + 0,6208 \mu_{TOTAL} \quad (1)$$

Tabela 2: Resultados da análise da regressão linear referente à equação (1).

Relação	r	s	$F_{1,4}$	p
LogED ₅₀ VS μ_{TOTAL}	0,9840	0,0845	121,99	0,0004

Analisando estes parâmetros é possível observar uma alta correlação linear (0,9840) e uma alta significância estatística (maior que 99%) entre a atividade do composto administrado em relação ao μ_{TOTAL} , como é mostrado na Figura 2.

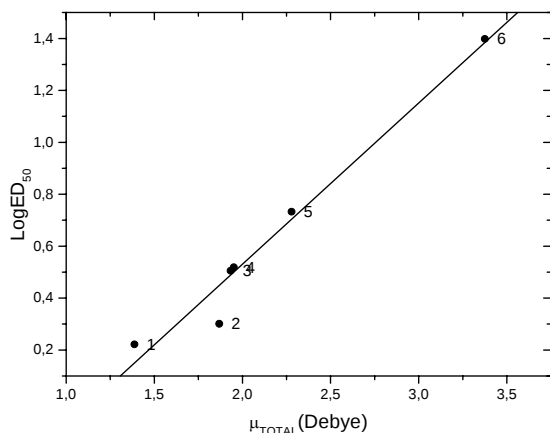


Figura 2: Atividade analgésica (Log ED_{50}) versus o momento de dipolo elétrico total (μ_{TOTAL}).

O momento de dipolo elétrico é um índice eletrônico importante na explicação da ação de outros grupos de moléculas com atividades biológicas, como na atividade anticancerígena das elipticinas [13]. Sabe-se também que o momento de dipolo em geral desempenha um papel importante em interações intermoleculares [14]. Por exemplo, a geometria da molécula de água e a sua natureza polar são os fatores que determinam em grande parte suas propriedades como solvente [15]. Assim, compostos iônicos e polares tendem a reagir em água, pois o princípio físico envolvido é a atração eletrostática entre as cargas opostas. Até mesmo a perda de átomos de uma molécula podem ser imputados às interações do tipo íon-dipolo e dipolo-dipolo. Isto explica porque biomoléculas apolares tendem a se isolarem, não reagindo com o ambiente aquoso e por isto são ditas “hidrofóbicas”.

Os dados experimentais que utilizamos foram obtidos com as moléculas em meio aquoso. Neste ambiente, com certeza, o momento de dipolo da molécula desempenha um papel importante. Como essas moléculas apresentam uma variação expressiva do momento de dipolo (Tabela 1), acabam por sofrer interações eletrostáticas também de diferentes intensidades do tipo dipolo-dipolo com o solvente. Observamos que a alteração do valor do momento de dipolo elétrico total com a mudança do radical ligante ocorre devido à substituição dos átomos de elevada eletronegatividade presentes em um ligante por átomos menos eletronegativos.

As moléculas que apresentam menores valores para o momento de dipolo elétrico têm sua estrutura molecular provavelmente menos alterada, já que sofrem menos interações com o meio. Deste fato pode-se especular algumas possibilidades para o mecanismo de ação destes fármacos. Primeiramente, por interagir menos com o meio, as moléculas apolares poderiam chegar intactas ou em maior número aos receptores (daí sendo necessária uma dose menor para o mesmo efeito). Em segundo lugar, a própria interação com o receptor pode ser fortemente

modulada pelo momento de dipolo elétrico e distribuição de cargas do fármaco. Este fato é fundamental na modelagem de interações entre proteínas e fármacos pela técnica de *docking* [16].

4 Conclusões

O estudo realizado via o método semiempírico AM1 sobre a estrutura eletrônica forneceu possíveis preceitos na obtenção de novos derivados para este grupo de moléculas, buscando maior eficiência analgésica. Após a análise dos índices eletrônicos, notamos que o potencial farmacológico dos compostos estudados cresce com a diminuição do momento de dipolo elétrico total. Isto evidencia a importância da estrutura molecular no mecanismo de ação destes fármacos.

5 Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer a Profª. Dra. Ignez Caracelli por toda atenção dada e pelas informações de grande valor fornecidas ao grupo.

6 Referências

- [1] F. Ortiz, E. Raffaelli Jr e col., Cefaléias Primárias: Aspectos Clínicos e Terapêuticos, 2ª Edição, São Paulo, Editora Zeppelini, 2002.
- [2] E. R. Duránte, M. Torrecilla, J. Pineda & L. Ugedo, Br. J. Pharmacol., **138**, 494 (2003).
- [3] A. C. Gáudio & E. Zandonate, Quim. Nova, **24**, 658 (2001).
- [4] W. B. Neely, H. C. Write & A. Rudzik, J. Pharmacol. Sci., **57**, 1176 (1968).
- [5] S. P. Gupta, Chem. Rev., **89**, 1765 (1989).
- [6] L. L. E. Santo, Aplicações de métodos semiempíricos ao estudo de estrutura eletrônica de compostos bioativos. Campinas: UNICAMP, IFGW, 2001. (Tese de Doutorado)
- [7] J. J. P. Stewart, J. Comp. Aid. Mol. Des., **4**, 1 (1990).
- [8] R. B. Xiu, D. Vanderveer, J. Santos, F. L. Hsu, J. Wang, K. Bota, Analytical Sciences, **19**, 469 (2003).
- [9] L. C. Tavares, Quim. Nova, **27**, 631 (2004).
- [10] M. L. C. Montanari, C. A. Montanari & A. C. Gáudio, Quim. Nova, **25**, 231 (2002).
- [11] A. C. Gáudio, Quim. Nova, **19**, 278 (1996).

- [12] J. Levin, Estatística aplicada a ciências humanas, 2^a ed., Editora Harbra, São Paulo, 1987.
- [13] S.O. Dantas, F.C. Lavarda, D.S. Galvão & B. Laks, J. Mol. Struct. (THEOCHEM), **253**, 319 (1992).
- [14] F. A. Carey, Organic Chemistry, Editora McGraw-Hill, New York, 1987, p. 53.
- [15] M. K. Campbell, Água: o solvente das reações bioquímicas. In: M. K. Campbell, Bioquímica, 3^a ed., Artmed Editora, Porto Alegre, 2000, cap. 2.
- [16] I. D. Kuntz et al., J. Mol. Biol., **161**, 269 (1982).

