

Universidade de Brasília
Instituto de Química

**AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE INSERÇÕES COM BORO EM MOLÉCULAS
COM ATIVIDADE FARMACOLÓGICA**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação do Instituto de Química da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Adão Lincon Bezerra Montel

Orientador: Kleber Carlos Mundim

Brasília, 2006

Dedico este trabalho à minha família,
pelo amor e pela solidariedade
inabaláveis e ao amigo Sergio Britto
(*in memoriam*) vitimado por um câncer
aos 34 anos de idade. Muito obrigado,
querido amigo, pela amizade e pela
lição de vida.

Folha de Aprovação

Meus agradecimentos a todos aqueles que contribuíram de diversas formas para a conclusão deste trabalho

Aos meus pais e à minha irmã, por me apoiar mesmo estando tão distante;

Aos colegas de trabalho Adriana, Alexandre, Afrânio, Aretha, Breno, Carlos Cezar, Cristiano, Daniel, Edimar, Fernando Rangel, Geraldino, Heibbe, Jocilene, Luciano e Tarcisio que contribuíram tanto discutindo tópicos importantes durante a elaboração do trabalho como auxiliando na execução de tarefas importantes;

Aos colegas da Colina, André, Andréia, Arthur, Cláudio, Gustavo, Meire, Meyr, Odilon e Tiago pelo companheirismo e pela ajuda nos momentos difíceis;

Aos amigos distantes Ariane, Carlos Renato, Edílson, Emanuel, Glauco, Fernanda, Franciny, Héliida, João Carlos, Joelma, Juliana, Jordana, Mary Anne, Odete, Paulo, Sezânia, Suelen pela fé e pelo incentivo tão importantes e necessários à superação de obstáculos;

Aos professores Amarílis Neder, Fernando Coutinho, Maria Lucília, Márcia Murta, Inês Resck, Elaine Maia e Nilo Makiuchi pela preciosa colaboração e pelos esclarecimentos oportunos de temas discutidos;

Ao meu orientador, prof.. Dr. Kleber Carlos Mundim, pela disposição, paciência e por todo o apoio;

Ao CnPq, à CAPES, ao Laboratório Farmanguinhos, e a UnB, pelo auxílio financeiro e estrutural na execução do projeto;

A todos aqueles a quem a minha memória injustamente excluiu. Que a minha dívida de gratidão com todos vocês possa ser saudada pela nossa amizade;

RESUMO

O aumento na incidência de leucemia, problemas cardíacos e da epidemia global de SIDA, com o surgimento de formas resistentes do VIH, tornaram a busca por novos medicamentos para o combate a patologias um problema de primeira importância. Neste trabalho, nos propusemos a investigar possíveis fármacos baseados em compostos de boro, incluindo medicamentos anti-VIH. O interesse na pesquisa por compostos de boro farmacologicamente ativos aumentou bastante nos últimos anos com a aprovação, nos EUA, do primeiro medicamento contendo boro em sua estrutura tratamento de uma forma de neoplasia. De fato, a forte atividade inibitória destes compostos sobre enzimas os torna muito promissores na pesquisa farmacológica. Investigamos dois análogos borilados de um inibidor anti-retroviral conhecido como nevirapina, que inibe uma enzima fundamental na replicação do VIH-1, formas modificadas com boro de bases nucleicas e análogos borilados do ácido valpróico e do ácido salicílico. A metodologia utilizada neste estudo foi o cálculo mecânico-quântico de propriedades das moléculas propostas e da interação destas moléculas com aminoácidos conservados da estrutura da enzima replicante do VIH. Os resultados mostraram o favorecimento desta interação com a adição dos grupos borilados na molécula da nevirapina nos dois casos investigados. Os resultados sugerem que um dos compostos propostos pode formar um complexo irreversível enzima-inibidor. Nos estudos com as moléculas do ADN e do ARN, observamos a formação de um par covalente entre os pares Watson-Crick acompanhada por mudanças nos padrões de distribuição do orbital molecular LUMO. As moléculas do ácido valpróico e do ácido salicílico demonstraram uma alteração na distribuição de orbitais moleculares de fronteira e no mapa eletrostático (especialmente no caso do ácido valpróico). Nestas moléculas, a substituição do grupo carboxilado pelo grupo di-hidroxi-borano indica uma possível atividade farmacológica maior do que dos compostos não modificados. Em todos os casos, observamos que importantes alterações são introduzidas com a inserção do boro nestas moléculas evidenciando uma possível atividade farmacológica.

Abstract

The growth of leukemia incidence, cardiac problems and global AIDS epidemic, with appearing of resistant forms of HIV, stimulated the search of new medications. In this work, we investigated new active pharmacologic compounds based on boron including the anti-HIV drugs. The interest in boron compounds with pharmacologic activity has increased in recent years with the first drug approved by FDA. This drug is based on boron and used in neoplasm treatment. In fact, the strong inhibitory activity on enzymes of this compounds makes them promising in pharmacological research.

In our project we investigated two analogues of an antiretroviral named nevirapine that inhibits an essential enzyme in HIV replication. The new analogues are boron compounds based on DNA, RNA, valproic acid and salicylic acid. In our calculations we used quantum mechanical approach to evaluate interactions of these molecules with the conserved amino acids of replication's enzyme of HIV as well as some electronic molecular properties. The results show an increased interaction between nevirapine modified molecule and amino acid one. The results suggest also that one of the compounds can form an irreversible complex with HIV's enzyme.

In the studies with DNA and RNA molecules, we observed a covalent complex formation between the Watson-Crick pairs accompanied by changes in LUMO orbital distribution. In the Valproic and salicylic acid molecules we observed changes in the molecular orbital distribution as well as in the potential map (especially in valproic acid). The substitution of carboxylic acid by boronic acid indicates an increasing pharmacological activity. In all analyzed cases, we have seen important modifications induced by boron introduction that evince a pharmacological potential for these molecules.

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE SÍMBOLOS E ACRÔNIMOS..... | IX |
| LISTA DE TABELAS..... | X |
| LISTA DE ILUSTRAÇÕES..... | XI |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.2 Objetivos Gerais..... | 3 |
| 1.3 Fundamentos Teóricos. | 4 |
| 1.4 Metodologia Geral..... | 7 |
| 2 Aspectos Gerais Sobre a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA).... | 8 |
| 2.1. Definição, Aspectos Viroológicos e Epidemiológicos..... | 8 |
| 2.2. O Vírus..... | 9 |
| 2.3. A Terapia Antirretroviral Altamente Ativa..... | 10 |
| 2.4. A Transcriptase Reversa e os Inibidores Não-Nucleosídicos..... | 11 |
| 2.5. A Nevirapina e o Ácido Fenil-Borônico..... | 12 |
| 2.6. Metodologia..... | 15 |
| 2.7. Resultados e Discussão..... | 16 |
| 2.7.1 Avaliação dos INNTRs..... | 16 |
| 2.7.2 Avaliação da Cavidade Ligante dos INNTRs..... | 19 |
| 2.8 Avaliação de Compostos de Boro..... | 23 |
| 2.8.1 Cálculos <i>ab-initio</i>..... | 25 |
| 2.8.3 Análogos Propostos..... | 32 |
| 2.8.4 O Aminoácido Triptofano 229..... | 32 |
| 2.8.4.1 Resultados | 32 |
| 2.8.5 O Análogo dihaleto de Boro..... | 40 |
| 2.8.6 O Aminoácido Tirosina 318..... | 44 |
| 2.8.6.1 Resultados | 44 |
| 3. ADN e ARN quimicamente modificados..... | 49 |
| 3.1 Metodologia..... | 49 |
| 3.2 Resultados e Discussão..... | 50 |
| 3.3.1 Adenina Timina-Modificada..... | 50 |
| 3.3.2 Adenina Uracila-Modificada..... | 55 |
| 3.3.3 Citosina Guanina Modificada..... | 59 |
| 4. Ácido Valpróico e Ácido Salicílico | 64 |

| | |
|------------------------------------|-----------|
| 4.1 Metodologia..... | 64 |
| 4.2. Ácido Valpróico..... | 64 |
| 4.3.Resultados..... | 65 |
| 4.4 Ácido Salicílico..... | 72 |
| 4.5 Resultados..... | 72 |
| 5.Conclusões..... | 80 |
| 6.Perspectivas Futuras..... | 82 |
| 7.Bibliografia..... | 85 |
| ANEXO.1..... | 90 |

Lista de Símbolos e Acrônimos

A - Alanina
ADN - Ácido Desoxirribonucléico
AMBER - Assisted Model Building and Energy Refinement
ARN - Ácido Ribonucléico
Asn - Asparagina
B(OH)₃ - ácido bórico
C - Cisteína
Cis - Cisteína
ChelpG - Charges from Electrostatic Potential Grid
HF - Hartree-Fock
HOMO - Highest Occupied Molecular Orbital
I - Isoleucina
IND - Indol
INNTR - Inibidor Não-Nucleosídico da Transcriptase Reversa
INTR - Inibidor Nucleosídico da Transcriptase Reversa
K - Lisina
L - Leucina
Leu - Leucina
LTR - Long Terminal Repeat
Lys - Lisina
LUMO - Lowest Unoccupied Molecular Orbital
Metil-Indo - Anel Indólico Metilado
N - Asparagina
NVP - Nevirapina
NVPBF₂ - Análogo Difluoreto de Boro da Nevirapina
NVPNH₃⁺ - Análogo aminado da Nevirapina
NVPB(OH)₂ - Análogo Borilado da Nevirapina
PDB - Protein Data Bank- Banco de Dados de Proteína
PhB(OH)₂ - Ácido Fenil Borônico
Phe - Fenil alanina
Pro - Prolina
PyB(OH)₂ - Ácido Piridil Borônico
PM3 Parametric Method III
RHF - Restricted Hartree-Fock - (Hartree-Fock Restrito)
SCF - Self - Consistent Field - (campo auto consistente)
SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
STO - Slater Type Orbitals - Orbitais Tipo Slater
Trp - Triptofano
Tyr - Tirosina
TR - Transcriptase Reversa
UHF - Unrestricted Hartree-Fock
V - Valina
Val - Valina
VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana
Y-Tirosina

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 Energia das estruturas das INNTR estudadas na conformação ativa e na conformação otimizada..... | 19 |
| Tabela 2 Valores de energia dos pares moleculares calculados por método Hartree-Fock com diferentes bases..... | 25 |
| Tabela 3 Valores de momento de dipolo dos pares moleculares calculados pelo método Hartree-Fock com diferentes bases..... | 26 |
| Tabela 4 Valores de cargas atômicas da piridina e do ácido 3-piridil-borônico..... | 31 |
| Tabela 5 Valores de cargas atômicas da nevirapina..... | 33 |
| Tabela 6 Valores cargas atômicas da molécula de nevirapina modificada..... | 34 |
| Tabela 7 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira HOMO e LUMO e da diferença de energia entre estes orbitais para a nevirapina modificada e a convencional..... | 36 |
| Tabela 8 Valores de energia de interação da ligação de hidrogênio não convencional..... | 38 |
| Tabela 9 Cálculo das cargas atômicas da molécula de nevirapina modificada obtido pelo método ChelpG..... | 41 |
| Tabela 10 Valores de Carga Atômica para o análogo.1 calculados pelo método ChelpG..... | 44 |
| Tabela 11 Valores de Energia de formação calculados pelos métodos semi-empíricos AM1 e PM3..... | 47 |
| Tabela 12 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira..... | 47 |
| Tabela 13 Valores de carga atômica do aduto covalente da nevirapina modificada com o fenol..... | 48 |
| Tabela 14 Valores de Comprimentos de Ligação na Geometria de Partida e Geometria Otimizada do Aduto..... | 51 |
| Tabela 15 Valores de Entalpia de Formação do aduto adenina timina-modificada calculados pelo método AM1 e PM3..... | 52 |
| Tabela 16 Valores de cargas atômicas do par Adenina-Timina calculados pelo método ChelpG antes e depois da modificação..... | 53 |
| Tabela 17 Valores de Energia do Orbital de Fronteira HOMO e LUMO e a diferença de energia entre eles..... | 55 |
| Tabela 18 Valores de Comprimento de Ligação para o aduto Adenina Timina-Modificada..... | 56 |
| Tabela 19 Valores de Energia do Orbital HOMO e LUMO e valores de diferença de energia..... | 58 |
| Tabela 20 Valores de carga atômica calculada pelo método ChelpG do par adenina uracila antes e depois da modificação..... | 58 |

| | |
|--|----|
| Tabela 21 Valores de carga sobre os átomos calculados pelo método ChelpG antes e depois da modificação..... | 60 |
| Tabela 22 Valores de Entalpia para o aduto citosina-guanina..... | 61 |
| Tabela 23 Valores de energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO e valor da diferença de energia entre eles..... | 62 |
| Tabela 24 Valores de carga sobre os átomos calculados pelo método ChelpG antes e depois da modificação..... | 63 |
| Tabela 25 Valores de cargas atômicas para o ácido valpróico e o análogo borilado... | 66 |
| Tabela 26 Valores de cargas atômicas para o valproato e para o boronato..... | 69 |
| Tabela 27 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira e de Energia de Formação das estruturas estudadas..... | 71 |
| Tabela 28 Valores de energia e momento de dipolo obtido a partir das otimizações HF/6-31G* das espécies químicas estudadas..... | 72 |
| Tabela 29 Valores de cargas atômicas calculadas para o ácido salicílico e para o análogo borilado..... | 73 |
| Tabela 30 Valores das cargas atômicas calculados para o salicilato e o boronato correspondente..... | 76 |
| Tabela 31 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira e de Energia de Formação..... | 78 |
| Tabela 32 Valores de energia e momento de dipolo do salicilato e do análogo borilado..... | 79 |

Lista de Ilustrações

| | |
|---|----|
| Ilustração 1. Fluxograma demonstrando a ordem dos temas abordados..... | 4 |
| Ilustração 2 Estruturas do AZT e do 3TC..... | 10 |
| Ilustração 3 Comparação entre o fluxo da informação genética na seqüência convencional dos seres vivos e nos retrovírus, como o VIH. O material genético é transcrito em ADN para depois ser transcrito em ARN e traduzido em proteínas..... | 11 |
| Ilustração 4 Imagem do complexo nevirapina+transcriptase reversa..... | 12 |
| Ilustração 5 Estrutura da nevirapina..... | 13 |
| Ilustração 6 Posições relativas da nevirapina e dos resíduos Tyr318 3 Trp 229 no mutante Y181C..... | 17 |
| Ilustração 7 Fórmulas estruturais de alguns INNTRs..... | 18 |
| Ilustração 8 À esquerda, superfície potencial do complexo TR-nevirapina demonstrando o contato da molécula do fármaco com o solvente (água) externo e, à direita, aproximação demonstrando as variações de carga na cavidade ligante..... | 20 |
| Ilustração 9 Comparação entre os complexos Nevirapina-RT de diferentes formas mutantes e da forma selvagem..... | 21 |
| Ilustração 10 Comparação entre as regiões de interação do anel aromático metilado da Nevirapina com o resíduo Trp229..... | 22 |
| Ilustração 11 Superposição do hipotético análogo borilado e da trimetilamina sobre a nevirapina e o resíduo Trp229 na geometria encontrada no mutante Y181C..... | 23 |
| Ilustração 12 Procedimento para a escolha da geometria de partida. À direita, superposição do BF ₃ e da trimetilamina sobre a geometria de partida..... | 24 |
| Ilustração 13 Geometria otimizada do par BF ₃ / Anel triptofano visto por duas perspectivas diferentes demonstrando a tendência à orientação “face à face”..... | 24 |
| Ilustração 14 Geometria otimizada do par ácido borônico-trimetilamina (à esquerda) e ácido borônico-anel indol (à direita)..... | 24 |
| Ilustração 15 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e trimetilamina observado por duas perspectivas diferentes..... | 26 |
| Ilustração 16 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e amônia observado por duas perspectivas diferentes..... | 26 |
| Ilustração 17 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e piridina observado por duas perspectivas diferentes | 27 |
| Ilustração 18 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e pirrol observado por duas perspectivas diferentes..... | 27 |
| Ilustração 19 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e indol observado por duas perspectivas diferentes..... | 27 |

| | |
|--|----|
| Ilustração 20 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e 32-metil-indol observado por duas perspectivas diferentes..... | 27 |
| Ilustração 21 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenilborônico e trimetilamina observado por duas perspectivas diferentes..... | 28 |
| Ilustração 22 . Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenilborônico e amônia observado por duas perspectivas diferentes..... | 28 |
| Ilustração 23 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenilborônico e pirinina observado por duas perspectivas diferentes..... | 28 |
| Ilustração 24 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenilborônico e pirrol observado por duas perspectivas diferentes..... | 28 |
| Ilustração 25 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenilborônico e indol observado por duas perspectivas diferentes..... | 29 |
| Ilustração 26 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenilborônico e 2-metil-indol observado por duas perspectivas diferentes..... | 29 |
| Ilustração 27 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridilborônico e trimetilamina observado por duas perspectivas diferentes..... | 29 |
| Ilustração 28 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridilborônico e amônia observado por duas perspectivas diferentes..... | 29 |
| Ilustração 29 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridilborônico e piridina observado por duas perspectivas diferentes..... | 29 |
| Ilustração 30 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridilborônico e pirrol observado por duas perspectivas diferentes..... | 30 |
| Ilustração 31 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridilborônico e indol observado por duas perspectivas diferentes..... | 30 |
| Ilustração 32 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridilborônico e 2-metil-indol observado por duas perspectivas diferentes..... | 30 |
| Ilustração 33 Fórmula estrutural da piridina e do ácido piridil borônico..... | 31 |
| Ilustração 34 Fórmulas estruturais dos análogos propostos..... | 32 |
| Ilustração 35 Numeração dos átomos da nevirapina..... | 33 |
| Ilustração 36 Numeração dos átomos do análogo borilado da nevirapina..... | 34 |
| Ilustração 37 Comparação entre os mapas potenciais dos potenciais eletrostáticos do análogo.2 (à esquerda) e da nevirapina (à direita)..... | 35 |
| Ilustração 38 Comparação entre os orbitais HOMO do análogo.2 (à esquerda) e da nevirapina (à direita)..... | 35 |
| Ilustração 39 Comparação entre os orbitais LUMO do análogo.2 (à esquerda) e da nevirapina (à direita)..... | 36 |
| Ilustração 40 Resultado da otimização em nível HF/6-31G* do análogo borilado e do indol..... | 36 |

| | |
|--|----|
| Ilustração 41 Comparação entre as formas de ionização de ácidos carboxílicos e ácidos borônicos em meio aquoso..... | 37 |
| Ilustração 42 Mapa do potencial eletrostático da geometria otimizada do análogo e da cadeia lateral do triptofano 229..... | 38 |
| Ilustração 43. Geometria otimizada do ânion boronato do análogo da nevirapina e do indol..... | 39 |
| Ilustração 44 Superfície potencial da geometria otimizada da forma aniônica do análogo borilado e do Trp229..... | 39 |
| Ilustração 45 Comparação entre o mapa do potencial eletrostático da nevirapina convencional e da modificada com BF ₂ | 40 |
| Ilustração 46 Comparação entre os orbitais HOMO da nevirapina convencional e da modificada com BF ₂ | 40 |
| Ilustração 47 Comparação entre os orbitais LUMO da nevirapina convencional e da modificada com BF ₂ | 40 |
| Ilustração 48 Numeração dos átomos do análogo difluorborado da nevirapina..... | 41 |
| Ilustração 49 Geometria otimizada do análogo modificado da nevirapina e o resíduo triptofano 229..... | 42 |
| Ilustração 50 Mapa potencial do análogo difluoreto de boro e do indol..... | 43 |
| Ilustração 51 Geometria inicial e final da otimização do par fenol/análogo ácido borônico realizado com cálculo ab-initio pelo método Hartree-Fock em nível 6-31G*...45 | 45 |
| Ilustração 52 Geometria otimizada do aduto covalente proposto..... | 45 |
| Ilustração 53 Aduto resultante do ácido fenilborônico com a serina..... | 46 |
| Ilustração 54 Aduto resultante do ácido fenil-borônico com uma molécula de fenol....46 | 46 |
| Ilustração 55 Aduto resultante do ácido piridil borônico com uma molécula de fenol..46 | 46 |
| Ilustração 56 Superfície potencial do aduto covalente resultante da tirosina com a nevirapina modificada demonstrando a densidade de carga negativa sobre os átomos de boro e oxigênio..... | 47 |
| Ilustração 57 À esquerda, orbital HOMO do aduto covalente e, à direita, orbital LUMO..... | 47 |
| Ilustração 58 Numeração dos átomos do aduto formado pelo resíduo tirosina com o análogo borilado da nevirapina..... | 48 |
| Ilustração 59 Geometria de partida e geometria otimizada do par timina-modificada e adenina..... | 50 |
| Ilustração 60 Par covalente com os volumes de van der Waals dos átomos considerados. | 52 |
| Ilustração 61 Numeração dos átomos do aduto Timina-Modificada Adenina..... | 53 |
| Ilustração 62. Fórmula estrutural do par Watson-Crick Timina Adenina e do par Modificado..... | 54 |

| | |
|---|-----|
| Ilustração 63. Mapa potencial do par Watson-crick e do par modificado..... | 54. |
| Ilustração 64 Orbital HOMO do par Watson-Crick e do par modificado..... | 54 |
| Ilustração 65 Orbital LUMO do par Watson-Crick e do par modificado..... | 55 |
| Ilustração 66 Volume de van der Waals do aduto..... | 55 |
| Ilustração 67 Fórmulas estruturais do par Watson-Crick Uracila Adenina e do par modificado..... | 55 |
| Ilustração 68 Comparação entre as superfícies potenciais do par Watson-Crick UA e do par modificado..... | 57 |
| Ilustração 69 Comparação entre os orbitais HOMO do par Watson-Crick e do par modificado..... | 57 |
| Ilustração 70 Comparação entre os orbitais LUMO do par Watson-Crick e do par modificado..... | 57 |
| Ilustração 71 Numeração dos átomos do par uracila-modificada adenina..... | 58 |
| Ilustração 72 Fórmulas estruturais do par Watson Crick citosina guanina e do par modificado..... | 59 |
| Ilustração 73 Volume de van der Waals do par covalente..... | 61 |
| Ilustração 74 Comparação entre as superfícies potenciais do par Watson-Crick C-G convencional e do modificado..... | 61 |
| Ilustração 75 Comparação entre os orbitais HOMO do par Watson-Crick Citosina-Guanina convencional e do modificado..... | 62 |
| Ilustração 76 Comparação entre os orbitais LUMO do par Watson-Crick Citosina-Guanina convencional e do modificado..... | 62 |
| Ilustração 77 Numeração dos átomos do par Citosina e Guanina Modificada..... | 63 |
| Ilustração 78 Fórmulas estruturais das moléculas do ácido valpróico e do análogo borilado com seus respectivos íons..... | 65 |
| Ilustração 79 Numeração dos átomos do ácido valpróico e do ácido análogo borilado..... | 65 |
| Ilustração 80 Fórmulas estruturais do ácido valpróico e do análogo borilado (ácido 4-heptil-borônico)..... | 67 |
| Ilustração 81 Mapa potencial do ácido valpróico (à esquerda) e do análogo borilado (à direita)..... | 67 |
| Ilustração 82 Distribuição do orbital HOMO do ácido valpróico e do análogo borilado..... | 68 |
| Ilustração 83 Distribuição de orbitais LUMO do ácido valpróico e do análogo borilado..... | 68 |
| Ilustração 84 Numeração dos átomos do valproato e do análogo borilado..... | 69 |

| | |
|---|----|
| Ilustração 85 Fórmulas estruturais do valproato (à esquerda) e do análogo borilado (à direita)..... | 70 |
| Ilustração 86 Comparação entre o mapa potencial do valproato (à esquerda) e do boronato (à direita)..... | 70 |
| Ilustração 87 Comparação entre os orbitais HOMO do valproato e do boronato..... | 70 |
| Ilustração 88 Comparação entre os orbitais LUMO do valproato e do boronato..... | 71 |
| Ilustração 89 Numeração dos átomos do ácido salicílico e do análogo borilado..... | 72 |
| Ilustração 90 Fórmulas estruturais do ácido salicílico (à esquerda) e do análogo borilado (ácido 2-hidroxi-fenil-borônico, à direita)..... | 74 |
| Ilustração 91 Comparação entre os mapas dos potenciais eletrostáticos do ácido salicílico e do análogo borilado..... | 74 |
| Ilustração 92 Comparação entre os orbitais HOMO do ácido salicílico e do análogo borilado..... | 74 |
| Ilustração 93 Comparação entre os orbitais LUMO do ácido salicílico e do análogo borilado..... | 75 |
| Ilustração 94 Numeração dos átomos do salicilato e do análogo borônico (2-hidroxi-boronato)..... | 75 |
| Ilustração 95 Fórmulas estruturais do salicilato (à direita) e do análogo borilado (à esquerda)..... | 77 |
| Ilustração 96 Comparação entre os mapas dos potenciais eletrostáticos do salicilato e do análogo boronato..... | 77 |
| Ilustração 97 Comparação entre o orbital HOMO do salicilato e do boronato..... | 78 |
| Ilustração 98 Comparação entre o orbital LUMO do salicilato e do boronato..... | 78 |

1.Introdução

A descoberta de novos fármacos e terapias aumentou significativamente a expectativa e qualidade de vida nas últimas décadas. A pesquisa por novos fármacos, entretanto, tornou-se muito onerosa. Segundo alguns autores, o custo médio de desenvolvimento de um novo fármaco em 1987 era de 231 milhões de dólares. Em 2000, este custo já era avaliado em 802 milhões de dólares.¹ Embora não haja um consenso sobre a causa desse aumento, assume-se que contribuem para essa elevação as exigências legais para o licenciamento de um novo fármaco, o aumento no interesse em pesquisa de terapias para doenças crônicas e degenerativas, as quais exigem uma maior e mais rigorosa etapa clínica na sua avaliação, e mesmo a necessidade de um número maior de testes relacionando custo-eficiência dos fármacos em relação aos já disponíveis no mercado.

Diante disto, alternativas para redução de custos na produção de novos medicamentos têm sido amplamente investigadas. Entre estas alternativas, a avaliação *In Silico* de novos medicamentos tem se mostrado promissora. Alguns autores supõem a possibilidade de redução em até 50% dos custos de desenvolvimento de fármacos com o uso de estudos *In Silico*, incluindo a possibilidade de uso de programas *de acesso livre*.² Os procedimentos de avaliação *In Silico* de fármacos envolvem *docking*, QSAR, avaliação por cálculo mecânico quântico, semi-empírico, *ab-initio*, etc.²

Uma das maneiras utilizadas para descoberta de novos fármacos envolve a modificação de molécula com atividade conhecida pela introdução de novos grupos químicos. Esses grupos, conhecidos como bioisósteros, são capazes de melhorar propriedades físico-químicas do medicamento avaliado, como solubilidade, lipofilicidade, etc.³ Entre os bioisósteros clássicos encontramos grupos monovalentes como amina, hidroxila, metila, etc. Também encontramos grupos bivalentes como “metileno”(CH₂), átomos de oxigênio e enxofre; trivalentes, como grupos contendo o átomo de fósforo (–P=); tetravalentes, etc. Entre os bioisósteros não-clássicos temos os halogênios, piridinas, etc.³ Neste trabalho, propusemos a investigação de novos bioisósteros não-clássicos contendo o átomo de boro. O átomo de boro apresenta uma série de propriedades químicas de possível interesse farmacológico, incluindo sua capacidade de atuar como ácido de Lewis, capacidade de formar ligações covalentes com hidroxilas de

aminoácidos, ^{4,5,6} além da possibilidade de formar ligações de hidrogênio não-convencionais.

Compostos capazes de se ligar covalentemente a biomoléculas (como proteínas e ácidos nucleicos) apresentam, em geral, elevada toxicidade. Para se viabilizar a utilização destes compostos é necessário garantir a especificidade dos mesmos. ³ O ácido salicílico, por exemplo, (comercialmente conhecido como “aspirina”) inibe a prostaglandina sintetase ligando-se covalentemente a esta enzima. A afinidade preferencial por seus alvos farmacológicos torna este fármaco viável. Devido à inibição irreversível do alvo farmacológico (enzima, ADN), as doses necessárias para a utilização desta classe de fármacos são menores. Há aproximadamente 25 drogas aprovadas recentemente pelo FDA (*Food and Drugs Administration*) que são inibidores irreversíveis de enzimas. ⁷ Os compostos de boro são candidatos a novos fármacos desta classe já que são capazes de formar ligações covalentes com certas proteínas⁵⁷. Já há um composto derivado do ácido borônico aprovado pelo FDA para tratamento de mieloma múltiplo.⁸ Sua capacidade de formação de ligações covalentes com biomoléculas pode ser explorada pelo favorecimento de sua especificidade para determinado alvo. Avaliamos, neste estudo, algumas possibilidades de aplicação destas propriedades dos compostos de boro. Devido à inexistência de parâmetros para o átomo de boro na maioria dos campos de força de programas de simulação disponíveis (GROMACS, PYMOL, etc.) avaliamos o comportamento dos compostos estudados por cálculo mecânico-quântico *ab-initio*.

Nas seções seguintes, apresentaremos uma descrição dos objetivos gerais e da metodologia geral utilizada. Inicialmente, faremos uma revisão da epidemia atual da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), bem como os avanços na terapia anti-retroviral. Logo após, apresentaremos os resultados da introdução de um grupo contendo boro na molécula de nevirapina em relação à interação destas moléculas modificadas com dois importantes aminoácidos da transcriptase reversa, o triptofano 229 e a tirosina 318, discutindo as possíveis conseqüências destas alterações para as propriedades farmacológicas destes candidatos a inibidores em potencial. A seguir, vamos demonstrar as modificações introduzidas pela substituição de átomos de hidrogênio pelo grupo difluoreto de boro em moléculas de ADN e ARN, relacionando a formação de ligações químicas com a distribuição de cargas, mapas potenciais e a distribuição de orbitais moleculares nas estruturas obtidas. Por último, faremos um pequeno estudo sobre

análogos borilados do ácido valpróico (e as possibilidades de sua aplicação no combate à SIDA e a leucemia) e do ácido salicílico (“aspirina”), com suas possíveis atividades anti-trombose.

Evidentemente, toda avaliação *In Silico* de um candidato a novo fármaco é uma proposição baseada em inferências, isto é, na analogia com medicamentos já existentes nos quais se possam inferir similaridades. O presente estudo, da mesma maneira, pretende dar suporte a uma investigação experimental futura de uma linha de pesquisa com análogos borilados. Entendemos que a cooperação entre a predição teórica e a execução experimental contribui para a otimização das pesquisas na área de química pela inserção de novos *insights* sobre os mecanismos de ação de processos químicos. Este é um importante avanço na metodologia de pesquisa na química moderna que tem acrescentado aos pesquisadores mais ferramentas nas investigações e avaliações de resultados nesta ciência.

1.1 Objetivos Gerais

O átomo de boro apresenta características peculiares com potencial de uso farmacológico. Neste trabalho, investigamos algumas modificações nas moléculas de ácidos nucleicos, de um fármaco anti-VIH, ácido valpróico e da molécula do ácido salicílico. A proposta inicial era a realização de um estudo para a avaliação de um análogo de um fármaco anti-VIH conhecido como nevirapina. A capacidade do átomo de boro de “aumentar a densidade de carga positiva” sobre moléculas, poderia compensar a perda de interação da nevirapina com formas mutantes do vírus da imunodeficiência adquirida. Os resultados iniciais, entretanto, revelaram um conjunto de características inesperadas dos compostos modificados que nos motivaram a conduzir, paralelamente, um estudo de modificações nas bases nucleotídicas do ADN e do ARN. Posteriormente, investigamos uma modificação na molécula do ácido salicílico e do ácido valpróico, molécula que vem sendo bastante pesquisada devido a recentes descobertas sobre sua capacidade de ação contra a infecção latente na SIDA e contra a leucemia. O fluxograma a seguir representa um esquema dos estudos abordados neste trabalho.

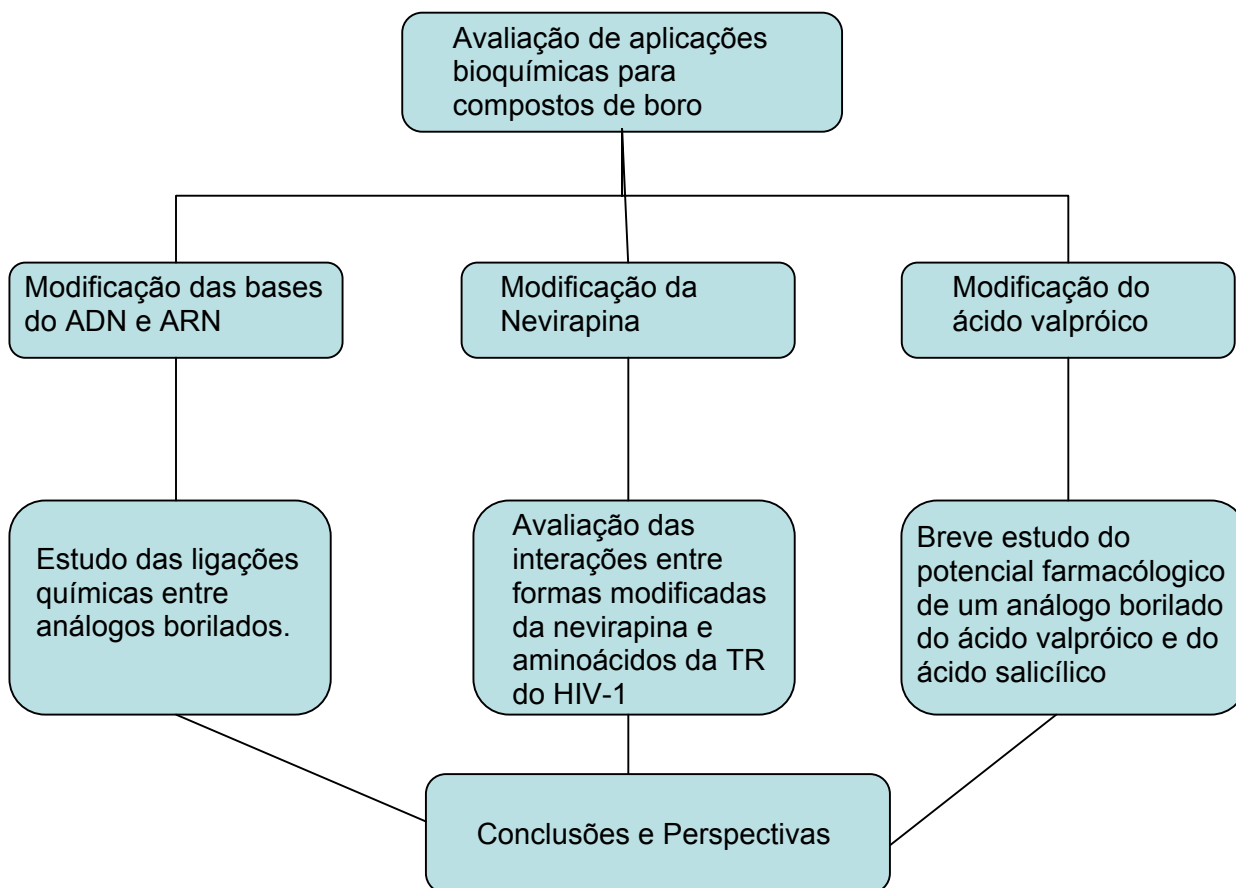


Ilustração 99. Fluxograma demonstrando a ordem dos temas abordados

1.2 Fundamentos Teóricos

No início do séc. XX, a introdução por Bohr do modelo quantizado do átomo permitiu a aplicação do conceito de estados estacionários a átomos e moléculas. A descrição das propriedades ondulatórias das partículas por de Broglie e o modelo de Bohr levantaram a possibilidade de estudo de partículas por meio da mecânica ondulatória. Em 1922, Schrödinger postulou uma equação de autovalores para a qual seria possível obter-se o valor de energia e outras informações do estado estacionário de átomos e moléculas. A equação de onda de Schrödinger pode ser escrita como:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi$$

Onde \hat{H} é o operador que fornece o valor da energia molecular total, chamado Hamiltoniano, Ψ é a função de onda dos estados eletrônicos e E representa os valores

de energia permitidos dos respectivos estados, ou seja, os estados estacionários, para o sistema.⁹ Uma vez que a distribuição de cargas de qualquer elétron depende da distribuição de cargas de sua vizinhança, a solução exata desta equação só pode ser obtida para átomos hidrogenóides, isto é, sistemas com um único elétron. Em 1928, Hartree propôs um modelo para solucionar problemas de sistemas multi-eletrônicos. O modelo de Hartree consiste, basicamente, em considerar o movimento do elétron como resultante de um campo gerado pelos núcleos e pelos outros elétrons. Utiliza-se o operador de Fock em substituição ao Hamiltoniano. A principal diferença entre os dois operadores é que no operador de Fock a função de onda Ψ não pode ser determinada diretamente. Um “palpite” inicial para as funções de onda é obtido utilizando-se outros métodos (como métodos semi-empíricos). Esses orbitais são utilizados para construir o operador de Fock que gera um novo grupo de orbitais moleculares. O cálculo é repetido até se chegar a um conjunto auto-consistente de orbitais e a um valor de energia mínimo. Este método é chamado de método auto-consistente (*self-consistent field* - SCF) restrito Hartree-Fock, para sistemas de camada fechada (RHF).¹⁰ Utilizando este método, Slater produziu um conjunto de funções (orbitais atômicos) conhecidas como STO (*Slater-Type Orbitals*). Em 1950, Boys propôs uma simplificação do método pela substituição dos orbitais de Slater por funções tipo Gaussianas de solução mais fácil. Há algumas desvantagens associadas a essa substituição. O número de funções tipo gaussianas necessárias para produzir resultados com a mesma precisão do modelo que utiliza as funções de Slater é maior (cerca de duas a cinco vezes maior).¹¹ A base STO-3G, por exemplo, aproxima o método STO pela combinação linear otimizada de três funções Gaussianas.¹⁰ Quando participa de uma molécula, os orbitais atômicos podem sofrer distorções da configuração livre. Para compensar essas mudanças, introduz-se funções de orbitais para átomos pesados (orbitais *d*) e para átomos de hidrogênio (orbitais *p*) que são conhecidas como funções de polarização, denotadas por um asterisco (*) (ex. STO-3G* denota orbitais *d* adicionados a átomos pesados). Quando se trabalha com ânions, outro problema encontrado é que ânions têm densidade eletrônica estendida quando comparados com espécies químicas neutras. Para se descrever melhor esta região, acrescenta-se funções que possuem o valor de máximo distante do núcleo associado conhecidas como funções difusas e denotadas por um sinal de soma (+). Logo, uma base

6-31++G** representa o uso de duas funções difusas e das funções de polarização (orbitais *d* e *p*).¹²

As funções de onda Hartree-Fock não permitem obter os valores de carga atômica diretamente de sua resolução. Para se estimar estes valores, utiliza-se meio indiretos, a partir da mensuração de outras propriedades físicas. O método mais simples de se utilizar é a Análise de População de Mulliken. Entretanto, este método é bastante sensível à base utilizada. O método de ChelpG¹³ (*Charges from Electrostatic Potential Grid*) é considerado mais apropriado por ser mais independente da base. Esse método baseia-se nos valores do potencial eletrostático, propriedade obtida diretamente do cálculo SCF pela equação:

$$V(\mathbf{r}) = \frac{Z_A}{|\mathbf{r} - \mathbf{R}_A|} - \sum P_{\mu\nu} \int \frac{\Phi_\mu \Phi_\nu}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}'$$

Onde Z_A é a carga nuclear sobre o átomo A, centrado em \mathbf{R}_A , $P_{\mu\nu}$ é o elemento da matriz densidade determinado a partir do procedimento Hartree-Fock, e Φ_μ , Φ_ν são as funções de bases utilizadas¹³. No método ChelpG, basicamente, se atribui a cada átomo uma carga pontual derivada de uma “grade” construída com base no potencial eletrostático. Nos cálculos realizados neste trabalho, utilizamos a carga ChelpG e optamos, na maioria dos resultados, pela base 6-31G*. Esta base, normalmente, produz valores razoáveis de energia em moléculas orgânicas e possui um custo computacional mediano¹⁴. Em alguns casos utilizamos outras bases (como STO-3G*) para fazermos uma análise comparativa. Na avaliação da cavidade ligante da nevirapina, as cargas foram determinadas a partir do campo de força AMBER¹² (*Assisted Model Building and Energy Refinement*) do programa PyMol. Este campo de força foi parametrizado com cargas atômicas obtidas através do método de potencial eletrostático.¹² Os Cálculos de de entalpia de formação foram realizados com os métodos semiempíricos AM1 (Austin Model 1) e PM3 (Parametric Model 3). Esses métodos estimam com razoável exatidão os valores de entalpia de formação para moléculas pequenas. Os cálculos foram realizados com ambos para uma análise comparativa dos resultados.^{15,16}

Em alguns casos realizamos uma correção com solvente. Para isto, utilizamos o modelo de Tomasi (IPCM Isodensity Polarized Continuum Model). Neste modelo, basicamente, a molécula do soluto é tratada como se estivesse em uma cavidade esférica “mergulhada” no solvente contínuo (na verdade, um “potencial” com propriedades que simulam o solvente) ¹². O dipolo molecular induz uma mudança na polarização do solvente que, por sua vez, leva a uma mudança no dipolo molecular até que haja a estabilização. No IPCM, a cavidade é definida como uma superfície de isodensidade obtida iterativamente. Escolhemos este modelo para os cálculos deste trabalho devido a uma melhor convergência para os problemas estudados.¹²

1.3 Metodologia Geral

As otimizações de geometria foram realizadas com o programa GAUSSIAN 98, licença G98RevA.9., utilizando-se o método Hartree-Fock, em diferentes níveis de cálculo. Os valores de energia total são apresentados em Hartree (em alguns casos) e em Kcal/mol sendo que consideramos 1 hartree= 627,509 kcal/mol. Os valores de entalpia de formação foram calculados pelos métodos semi-empíricos AM1 e PM3 e são apresentados em unidades de kcal/mol. Os valores de cargas sobre os átomos e momentos de dipolo foram calculados pelo método ChelpG. O volume de van der Waals (quando demonstrado) das moléculas foi calculado com o programa RASMOL (acesso livre). As superfícies do potencial eletrostático de proteínas foram construídas com o programa PyMol (acesso livre) utilizando-se o campo AMBER e as superfícies de moléculas orgânicas pequenas foram construídas com o programa GaussView. Os mapas dos potenciais eletrostáticos de moléculas pequenas foram construídos pelo método Merz-Kollman (MK) ¹⁴. Este método difere do método ChelpG basicamente pela maneira como os pontos da “grade” são obtidos. No MK os pontos são obtidos a partir de uma superfície de Conolly com uma densidade de 1 ponto por angstrom enquanto que no método ChelpG os pontos são obtidos de um uma “grade” cúbica regularmente espaçada com uma densidade de pontos cerca de 10 vezes maior do que no método MK ¹⁷. Os orbitais de fronteira também são apresentados com a distribuição de cargas MK, para facilitar a visualização das mudanças ocorridas. Em todos os casos, a escala de cores

indica a cor azul para regiões de densidade de carga positivas e a cor vermelha para regiões com densidade de carga negativa. Em cada seção, as características específicas de cada cálculo são detalhadas.

2. Aspectos Gerais Sobre a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)

2.1 Definição, Aspectos Viroológicos e Epidemiológicos

A definição da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) varia bastante na literatura. Uma boa definição é dada por Hutchinson: *"A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, SIDA (mais conhecida no Brasil pela sigla em inglês, AIDS – Acquired Immune Deficiency Syndrome), é caracterizada pela progressiva perda de CD4+ auxiliares (helper)/indutoras(inducer) do subgrupo dos linfócitos T. A perda de células T leva a uma severa avaria da função imunológica, doenças constitucionais, infecções oportunistas, complicações neurológicas, (complexo SIDA demência) e neoplasma que raramente ocorrem em pessoas com a função imune intacta"*.¹⁸ O mecanismo de avaria do sistema imunológico ainda é um tema controverso. Alguns trabalhos sugerem que os mecanismos de danos ao sistema imunológico, ativação do genoma proviral e de "escape" à resposta imunológica do hospedeiro pelo vírus são bastante complexos envolvendo inclusive interações com o sistema complemento.¹⁹ É provável a existência de um co-fator infeccioso. O próprio descobridor do vírus causador da síndrome, Luc Montagnier, acredita na possibilidade de que este co-fator seja um micoplasma (*"uma bactéria pequena – de 200-300 nm - que evoluiu para um parasitismo perdendo a capacidade de síntese de sua parede celular"*).²⁰

O número de pessoas vivendo com o vírus da imunodeficiência humana em 2005 era estimado em 40,7 milhões de pessoas. Neste mesmo ano, cinco milhões de pessoas morreram em decorrência de problemas relacionados à SIDA. Embora tenha havido diminuição na taxa de infecção de adultos jovens em alguns países do Caribe e África, a tendência global ainda era de aumento. De fato, houve crescimento no número de

infecções no leste europeu, sudeste asiático sendo que a África sub-saariana continua a ser a região mais afetada. ²¹ No Brasil, estima-se que existam cerca 620.000 pessoas vivendo com o VIH ²². Autoridades sustentam que o acesso universal à terapia anti-retroviral pode se tornar inviável dentro dos próximos anos. O custo médio de cada paciente soropositivo para o governo em 2005 foi de R\$ 6.000,00. Com o crescimento da procura pelo tratamento, o custo total para o Ministério da Saúde pode se tornar proibitivo dentro dos próximos anos. ²³

2.2 O VÍRUS

O Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) foi inicialmente isolado em 1983 de pacientes com SIDA. Estruturalmente, assemelha-se ao vírus linfotrópico humano tipo II e tipo III. Pesquisas conduzidas por diversos grupos demonstraram que o VIH é um membro da subfamília dos lentivírus pertencentes aos retrovírus humanos. Todos estes vírus codificam uma enzima ADN polimerase ARN dependente – a transcriptase reversa – que permite a transcrição do ARN viral numa cópia de ADN. Nesta forma, ele pode ser integrado ao genoma da célula hospedeira e se replicar através do ADN proviral. O genoma do VIH é composto de nove genes: o gene *gag*, que codifica proteínas do capsídeo do “core” viral, o gene *pol*, que codifica a transcriptase reversa, o gene *env*, que codifica proteínas do envelope viral, os genes *tat*, *ver*, *nef*, *vif*, *vpr* e *vpx*, que regulam a o ciclo de vida viral. O genoma do VIH também possui a *Long Terminal Repeat (LTR)* uma seqüência de ARN/ADN com função estrutural e regulatória ²⁴. Em 1987, Guyader e co-autores identificaram pacientes de Guiné-Bissau e de outros países do Oeste da África que demonstravam sintomas da SIDA, mas não apresentavam anticorpos contra o VIH. Os pesquisadores convencionaram chamar o vírus identificado nestes pacientes de VIH-2. ‘*O alinhamento das seqüências de nucleotídeos do VIH-1 e VIH-2 demonstram que suas distâncias homológicas variam de ~60% para os genes mais conservados gag e pol, para 30-40% para outros genes virais e LTR*’. ²⁵

O VIH apresenta uma ampla variabilidade genética. A análise da distância genética entre alguns lentivírus primatas sugere que o VIH-1 e o VIH-2 originaram-se dos Vírus da Imunodeficiência Símia presente em chimpanzés (o VIH-1 parece descender de um lentivírus primata presente na sub-espécie *Pan troglodytes troglodytes*) e em macacos

Mangabei (*Cercocebus atys*) (no qual está presente o provável ancestral lentivírus do VIH-2).²⁶

2.3 A Terapia Anti-retroviral Altamente Ativa

A replicação do VIH-1 compreende uma série de etapas, desde a adsorção do vírus à membrana celular até a maturação das partículas virais, passíveis de intervenção quimioterapêutica.²⁷ Entre os medicamentos mais utilizados, os inibidores nucleosídicos (que inibem de maneira competitiva a síntese de ADN pela TR) e não nucleosídicos (que inibem de maneira não competitiva) da transcriptase reversa e os inibidores de protease se tornaram de singular importância na quimioterapia da SIDA. Os inibidores de protease, como o Indinavir, bloqueiam a atividade das proteases, enzimas que auxiliam na maturação e reprodução viral bem como ajudam a tornar o vírus infeccioso. Os inibidores da transcriptase reversa (TR) bloqueiam a enzima necessária ao VIH-1 na conversão do ARN viral em ADN.²⁸

Dada a elevada taxa de mutação do VIH-1, que confere a este vírus uma enorme capacidade de desenvolver resistência durante um tratamento com um inibidor, utiliza-se um coquetel de inibidores anti-retrovirais, isto é, uma combinação de remédios visando inviabilizar o desenvolvimento de resistência pelo VIH-1 uma vez que cada fármaco age em diferentes sítios de uma proteína viral e/ou diferentes proteínas virais. Esta terapia é conhecida como Terapia Anti-retroviral Altamente Ativa.²⁹ Um típico “coquetel” é uma combinação tripla de inibidores de protease com os dois análogos nucleosídicos inibidores da transcriptase reversa (INTR), o AZT (zidovudina) e o 3TC (lamivudina).²⁸

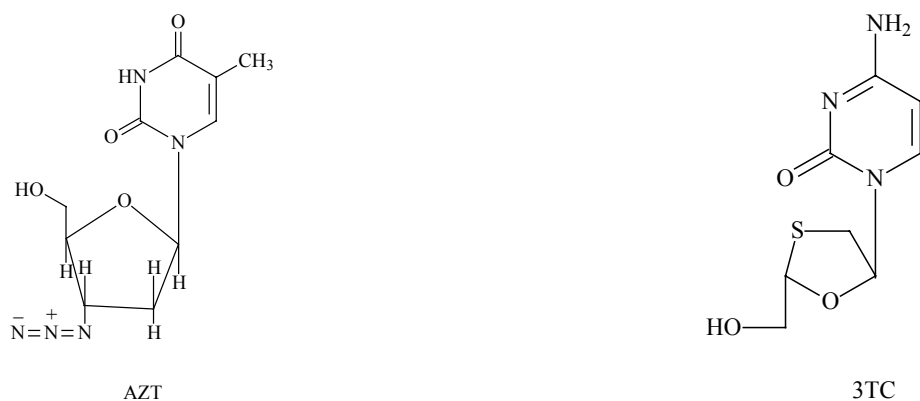


Ilustração 100. Estruturas do AZT e do 3TC

Embora seja capaz de suprimir o vírus, a suspensão da medicação causa um retorno na replicação das partículas virais. Além disso, há efeitos colaterais graves associados à administração da terapia por longos períodos de tempo, como os efeitos causados pelos INTR que vão desde esteatose hepática (“fígado gorduroso”) a acidemia láctica (potencialmente fatal), que parecem estar associados a danos nas mitocôndrias os resultados das pesquisas neste campo sugerem que os inibidores nucleosídicos inibem a replicação do genoma mitocondrial, afetando a produção das enzimas fundamentais para fosforilação oxidativa causando alterações na produção de ácido láctico.³⁰ Alguns resultados recentes demonstram que algumas drogas (como o ácido valpróico) podem induzir seletivamente a expressão do genoma proviral latente (isto é, da carga viral “adormecida” no organismo do paciente) e potencialmente eliminá-la.³¹ Esses resultados levantaram, na comunidade acadêmica, a discussão sobre a possibilidade de se chegar a uma cura para a SIDA, mas ainda há importantes dúvidas a serem sanadas antes do desenvolvimento de uma intervenção terapêutica capaz de eliminar o vírus do organismo.^{32,33} Estas e outras atividades farmacológicas do ácido valpróico recém-descobertas nos motivaram a investigar um análogo borilados deste fármaco também.

2.4 A Transcriptase Reversa e os Inibidores Não-Nucleosídicos

O VIH é um retrovírus, o que significa que seu material genético é replicado numa seqüência inversa à da maioria dos seres vivos. A enzima responsável por esta capacidade é a transcriptase reversa (TR) que é uma enzima heterodimerica com dois pontos “isoelétricos” (pH=5,75 e pH=6,25)³⁴ capaz de replicar o ARN viral convertendo-o em uma fita dupla de ADN.

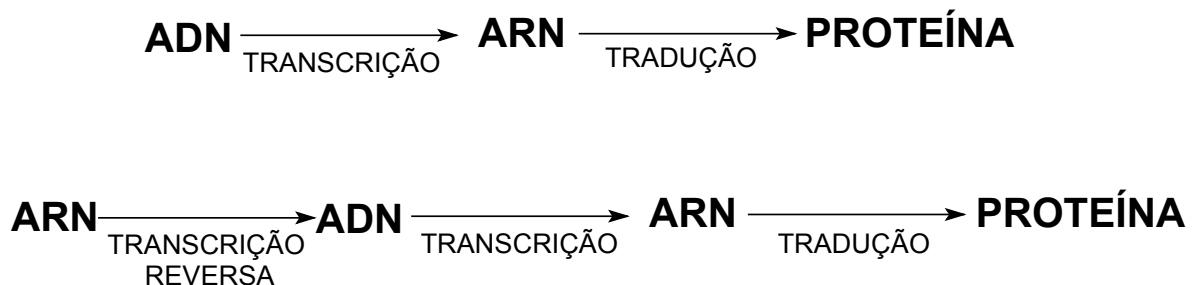


Ilustração 101 Comparação entre o fluxo da informação genética na seqüência convencional dos seres vivos e nos retrovírus, como o VIH. O material genético é transcrito em ADN para depois ser transcrito em ARN e traduzido em proteínas.

Os Inibidores Não-Nucleosídicos da Transcriptase Reversa (INNTRs) são um grupo estruturalmente diverso que, ao contrário dos INTRs, inibem de maneira alostérica a TR, ligando-se a uma cavidade hidrofóbica que dista cerca de 10 Å do sítio ativo da enzima, na subunidade p66 da TR VIH-1. O mecanismo de inibição parece estar associado a um reposicionamento de resíduos da cavidade ligante dos INNTRs que causa uma distorção nos resíduos do sítio ativo da TR.³⁵ Estudos recentes demonstram que alteração na dimerização da TR causadas pelos INNTRs também participam do mecanismo de inibição destes.^{36,37}

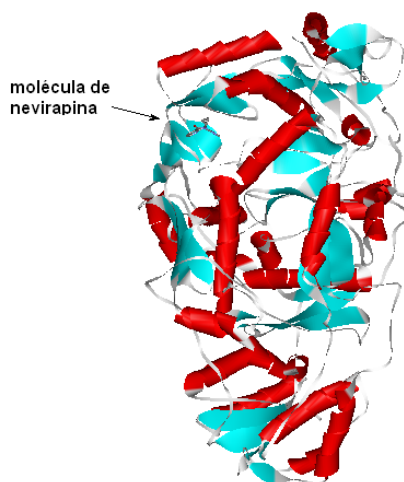


Ilustração 102 Imagem do complexo nevirapina+transcriptase reversa

A elevada especificidade dos INNTRs à TR os torna relativamente pouco tóxicos aos pacientes³⁸ (alguns inibidores de protease também possuem elevada especificidade devido à explorarem algumas diferenças entre as estruturas das proteases do VIH-1 e as proteases humanas, como sua simetria).³⁹ A TR apresenta uma flexibilidade muito elevada o que permite às regiões ligantes sofrerem significativas variações de volume e dificulta a previsão de atividade de novos INNTRs.⁴⁰

2.5 A Nevirapina e o Ácido Fenil-Borônico

Merluzzi e colaboradores⁴¹ investigando a atividade de dipiridodiazepinonas como antagonistas dos receptores muscarínicos, identificaram um potente inibidor da transcriptase reversa do VIH-1, a 11-ciclopropil-5,11-11-diidro-4-metil-6H-dipirido[3,2-

b:2',3'-e][1,4]diazepin-6-ona, mais tarde chamada de nevirapina. A nevirapina é amplamente utilizada na profilaxia da transmissão materno-infantil do VIH-1. ⁴² Os testes com uma nova terapia, utilizando a nevirapina em uma dose simples no combate à transmissão vertical, demonstraram bons resultados, com um regime de posologia e um gasto menores. ⁴³

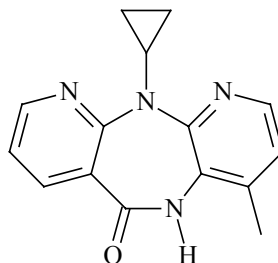


Ilustração 103 Estrutura da nevirapina

Alguns pesquisadores têm proposto seu uso na terapia anti-retroviral altamente ativa em adultos. ⁴⁴ Costumeiramente, a nevirapina é ministrada em uma única dose diária de 200mg nos primeiros 14 dias, aumentando-se então para 400mg por dia. ⁴⁵ Embora tenha uma toxicidade não desprezível (hepatotoxicidade já bem descrita com possíveis casos fatais), ⁴⁶ é considerada menos tóxica do que inibidores nucleosídicos da Transcriptase Reversa como o AZT e 3TC. Um dos maiores problemas associados ao uso deste medicamento é o desenvolvimento de resistência pelo vírus, o que limita bastante a aplicação deste fármaco. Há o receio de que o uso de nevirapina na contenção da transmissão materno-infantil possa causar, a longo prazo, o surgimento de linhagens resistentes do vírus que inviabilizem a utilização deste fármaco no futuro. ^{47,48} Há um enorme grupo de mutações relatadas em pacientes que desenvolveram formas do VIH resistentes à nevirapina. ⁴⁰ Essas mutações induzem resistência alterando as taxas de dissociação (como as mutações L100I e V106A), de associação (como a mutação K103N), bem como induzindo alterações simultâneas nas taxas de associação ou dissociação entre a enzima e o inibidor (como as mutações Y181I e Y188L) entre a enzima e o inibidor. ⁵⁰

O mecanismo de ação destas mutações ocorre de três maneiras, basicamente: pela redução da área superficial de contato entre os aminoácidos e o inibidor, pela modificação na distribuição eletrostática da ligação de hidrogênio envolvida na interação

com o inibidor e pela interferência estérica na cavidade ligante do inibidor.⁵² A mutação K103N é a única mutação (cl clinicamente relevante) capaz de conferir ao vírus resistência aos INNTRs que não se localiza na cavidade ligante dos mesmos. O mecanismo de ação desta mutação aparentemente está associado à alteração na interação entre o resíduo 103 e a tirosina 188 que favorece a estabilidade da estrutura da enzima “livre” em relação à estrutura do complexo enzima-inibidor.⁵⁰ Alguns estudos sugerem que a energia de interação entre a nevirapina e a forma mutante da TR é 3,66 kcal/mol menor do que a energia de interação da nevirapina com a forma selvagem da TR devido a de interações de van der Waals.⁵¹

Diante da enorme variedade de mutações capazes de conferir resistência ao vírus VIH-1, tem-se buscado por regiões conservadas da proteína transcriptase reversa para alvo de novos fármacos. Um conjunto de resíduos na cavidade ligante dos INNTRs (Pro225, Phe227, Trp229, Leu234 e Tyr 318) chamou a atenção dos pesquisadores. Todos estes resíduos são altamente conservados em TR de lentivírus. Os aminoácidos nas posições 227-235 pertencem à região “*primer grip*”, responsável pela manutenção da terminação 3'-primer em uma orientação suscetível ao ataque nucleofílico pela incorporação de deoxinucleotídeos.⁵²

Entre estes resíduos, nos chamou a atenção o triptofano da posição 229 (Trp229) e a tirosina na posição 318 (Tyr 318). Estes aminoácidos possuem uma série de propriedades que os tornam interessantes como alvos farmacológicos. Além de serem altamente conservados e importantes na função enzimática, pertencem à cavidade ligante dos INNTRs (com os quais interagem diretamente) e são aminoácidos aromáticos, ou seja, passíveis de interação com grupos químicos eletrofilicos.⁵³

Alguns estudos sobre efeito inibitório de grupos eletrofilicos sobre enzimas oferecem informações importantes. O ácido fenil-borônico é capaz de inibir colinesterase humana em concentrações tão baixas quanto $4,0 \times 10^{-6}$ M.⁴ Há também estudos mostrando a atividade inibitória de ácidos α -amino-borônicos sobre enzimas,⁵⁴ inibição de acetil-colinesterase e quimiotripsina por ácido borônicos.^{55,56} De fato, este bioisótero apresenta a capacidade de formar complexos ligando-se covalentemente a grupos hidroxilas.^{57,58} Alguns autores sugerem que a inibição ocorra por meio de um aduto covalente com o átomo de boro tetracoordenado na forma aniônica.⁵⁹ A aplicação farmacológica dos ácidos borônicos vem sendo amplamente investigada, com vários

exemplos de possíveis aplicações para tratamento de infecções por fungos,⁶⁰ combate à trombose durante procedimento cirúrgico,⁶¹ anticoagulante,⁶² inibidores de proteases,⁶¹ imunossupressores⁶² descritos na literatura.⁶³ Embora os ácidos borônicos sejam compostos reativos (podem sofrer desboronação oxidativa no organismo pelo citocromo P450),⁶⁴ há trabalhos na literatura recente com a descrição de preparo de formulações farmacológicas de compostos desta classe para aplicações farmacológicas^{65,66}.

O presente trabalho pretende estudar o efeito da substituição de átomos de hidrogênio dos anéis aromáticos da nevirapina que interagem com os resíduos aminoácidos conservados Trp 229 e Tyr318 por um grupo dihidroxiborano.

2.6 Metodologia

A escolha da nevirapina como objeto deste estudo deveu-se à riqueza de dados cristalográficos, químicos e farmacológicos disponíveis. Tendo em vista a meta e a complexidade do trabalho, optamos por um estudo preliminar em sistemas modelos mais simples antes do estudo das moléculas propostas propriamente ditas, isto é, inicialmente, avaliamos, *In Silico*, as características da interação de compostos de boro com moléculas aromáticas para, a seguir, avaliar os alvos farmacológicos (os aminoácidos escolhidos). Os ácidos borônicos possuem particularidades que exigem uma avaliação mais detalhada neste grupo de compostos. Entre estas características particulares encontramos a diferença na relação estrutura/atividade (há casos descritos de ácidos borônicos tendo maior atividade inibitória do que outros ácidos borônicos de pKa menor).⁶⁷ A metodologia é descrita a seguir:

1º. Empregando-se as estruturas cristalográficas de complexos INNTR:TR depositadas no *Protein Data Bank*, inicialmente foi conduzido um estudo sobre as principais características geométricas, eletrônicas e energéticas das interações entre a molécula da nevirapina e os aminoácidos de interesse presentes no sítio ativo da transcriptase reversa. Foram comparadas as características do sítio ativo da TR complexada com INNTRs nas formas selvagem e mutante da enzima.

2°. Cálculos mecânico-quânticos *ab-initio* empregando-se o método Hartree-Fock com funções de base em nível 6-31G* serão executados para obtenção de parâmetros de energia, momento de dipolo, de moléculas pequenas de compostos que reproduzam as características químicas dos fármacos propostos e dos aminoácidos com os quais estes análogos devem interagir preferencialmente.

3°. A partir deste estudo, sugerimos estruturas de análogos borilados da nevirapina com potencial atividade inibitória em formas resistente da TR bem como estabelecemos os sítios importantes de interação entre esses análogos e a proteína TR.

4°. De acordo com o estudo descrito nos itens anteriores para os INNTRs, realizamos cálculos de otimização de geometria molecular e estabelecemos as características principais destes compostos e das possíveis interações destes com os aminoácidos Trp 229 e Tyr 318. Também realizamos alguns estudos com cálculos semi-empíricos destes sistemas.

2.7 Resultados e Discussão

2.7.1 Avaliação dos INNTRs

Os dados do PDB com a estrutura cristalográfica do complexo Nevirapina- Transcriptase reversa demonstram que a variação no posicionamento em relação aos resíduos Trp229 e Tyr318 na cavidade ligante de diferentes formas mutantes da TR é relativamente pequena. De fato, o Trp229 está sempre próximo ao grupo metila ligado a um dos anéis piridínicos da nevirapina e a Tyr318 nas proximidades do anel piridínico. (Esquema abaixo).

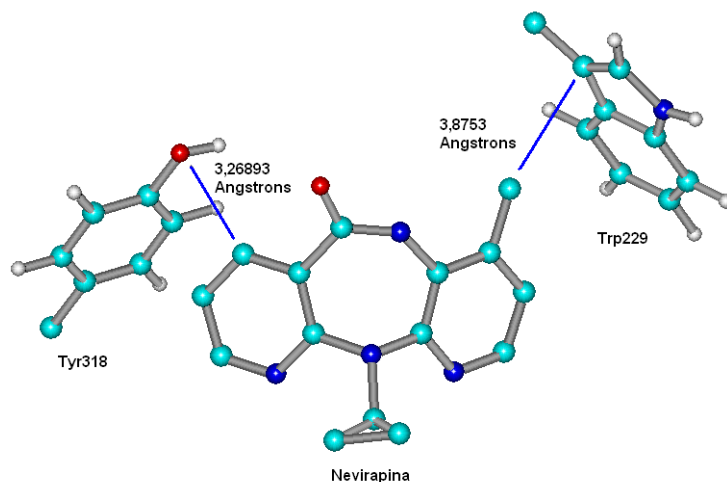
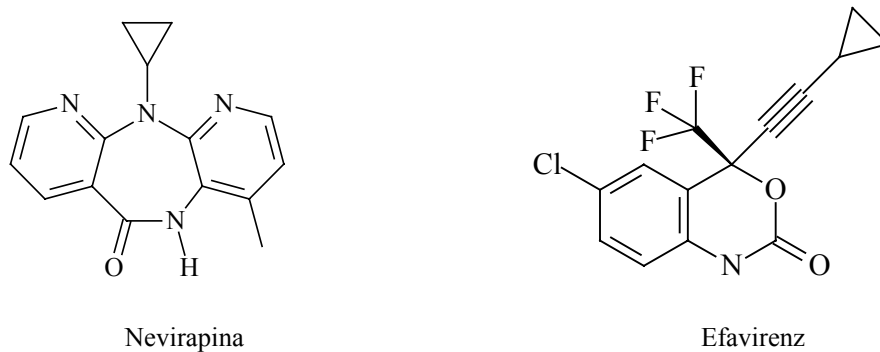
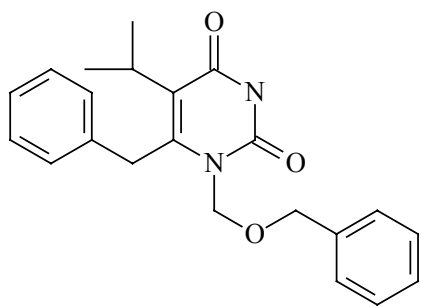


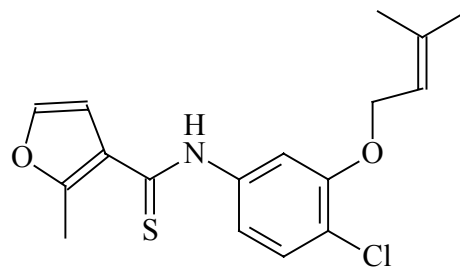
Ilustração 104 Posições relativas da nevirapina e dos resíduos Tyr318 e Trp 229 no mutante Y181C, extraído do arquivo 1JLF do PDB.

Inicialmente, avaliamos a variação de energia e conformação entre as formas “livre” e otimizada dos fármacos. As moléculas mostradas abaixo tiveram suas estruturas otimizadas por cálculo *ab-initio*, empregando-se o método Hartree-Fock com funções de base 6-31G*, utilizando-se o programa GAUSSIAN-98. Os resultados foram comparados aos obtidos pelo cálculo da energia *Single Point* das mesmas estruturas, no mesmo nível de cálculo, isto é HF/6-31G*, na conformação na qual são encontradas quando em complexo com a Transcriptase Reversa (dados do *Protein Data Bank*). O Objetivo desta comparação inicial foi avaliar a diferença de energia causada na de formação do complexo inibidor-enzima. Os resultados são apresentados na Tabela abaixo:

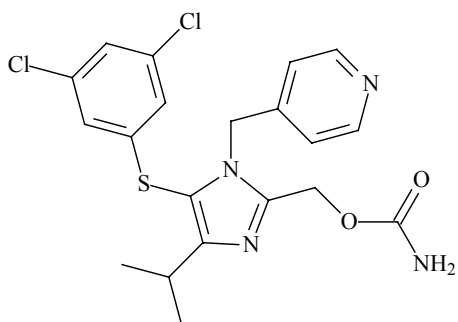




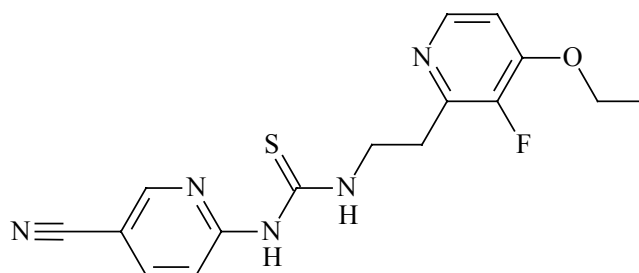
TNK-651



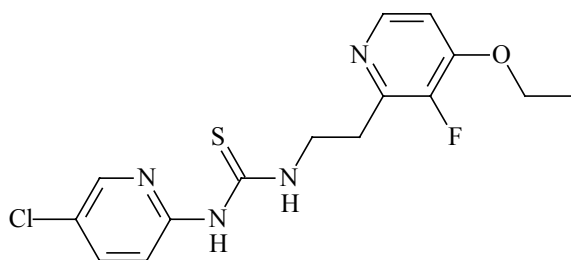
UC-781



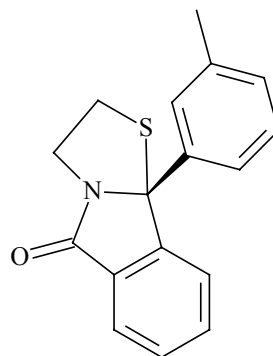
S-1153



PETT-1



PETT-2



BM + 21.1326 (BM-21)

Ilustração 105 Fórmulas estruturais de alguns INNTRs

| INNTR | Código PDB | TR MUTANTE | ENERGIA TOTAL (Hartree) | | ΔE (Hartree) |
|-------------------|------------|---------------|-------------------------------|---------------------|----------------------|
| | | | Geometria <i>Single Point</i> | Geometria Otimizada | |
| BM-21 | 1C0T | Tipo Selvagem | -1179,32437 | -1179,352 | -0,02774 |
| PETT-1 | 1DTQ | Tipo Selvagem | -1459,13936 | -1459,260 | -0,12127 |
| PETT-2 | 1DTT | Tipo Selvagem | -1826,36997 | -1826,436 | -0,06688 |
| S-1153 | 1EP4 | Tipo Selvagem | -2452,98450 | -2453,040 | -0,05568 |
| Efavirenz | 1FKO | K103N | -1497,07765 | -1497,318 | -0,24112 |
| Uc-781 | 1S1T | L100I | -1715,30123 | -1715,355 | -0,05407 |
| Uc-781 | 1S1W | V106A | -1715,30177 | -1716,496 | -1,19433 |
| Neviparina | 1S1X | V108I | -868,74548 | -868,8270 | -0,08247 |
| Neviparina | 1S1U | L100I | -868,78943 | -868,8270 | -0,03852 |
| Nevirapina | 1JLF | Y188C | -868,73860 | -868,8279 | -0,08935 |
| Nevirapina | 1FKP | K103N | -868,74580 | -868,8279 | -0,08215 |
| Nevirapina | 1JLB | Y181C | -868,72062 | -868,8279 | -0,10700 |
| Nevirapina | 1VRT | Tipo Selvagem | -868,75433 | -868,8279 | -0,07300 |

Tabela 33 Energia das estruturas das INNTR estudadas na conformação ativa e na conformação otimizada.

Os valores da tabela1-1 foram calculados pela fórmula $\Delta E = \text{Energia total (Otimizada)} - \text{Energia Total (single point)}$. Embora haja uma variação significativa de algumas estruturas, a nevirapina apresenta uma variação pouco pronunciada de energia devido a sua rigidez molecular.

2.7.2 Avaliação da Cavidade Ligante dos INNTRs

A cavidade ligante dos Inibidores Não-Nucleosídicos da Transcriptase Reversa é bastante flexível podendo sofrer uma significativa variação de volume. Avaliamos a cavidade ligante da enzima com respeito ao seu mapa do potencial eletrostático e volume. A cavidade ligante dos inibidores alostéricos não está presente na enzima livre. Esta cavidade surge com a formação do complexo da Transcriptase Reversa com o INNTR. Desta maneira, a conformação desta cavidade dependente da molécula de INNTR envolvida na formação do complexo. Analisamos, a seguir, alguns exemplos de cavidade ligante para algumas formas mutantes da Transcriptase Reversa. Em todos os casos, o resíduo VAL179 foi retirado na imagem para melhor visualização.

A molécula da nevirapina mantém contato com o meio exterior (a cavidade ligante não se “fecha” após a formação do complexo) e com o solvente mesmo após a formação do complexo. A região onde se localiza o resíduo tirosina 318, na forma “selvagem” da enzima, possui uma densidade de carga negativa associada. Esta densidade de carga varia nos mutantes (como no Tyr181Cis). A região interage com a nevirapina principalmente com o anel piridínico não metilado da molécula. A região do resíduo Trp 229, que interage com o anel piridínico metilado da nevirapina, mantém sempre uma densidade de carga negativa (mesmo nos mutantes K103N, L100I, V108I, Y188C e Y181C). A cavidade revela-se bastante flexível, tendo seu volume alterado inclusive por moléculas de água, quando presentes no complexo.

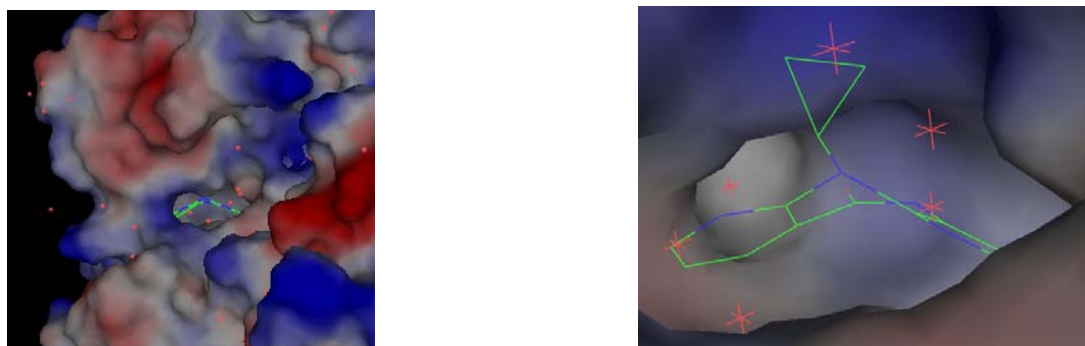


Ilustração 106 À esquerda, superfície potencial do complexo TR-nevirapina demonstrando o contato da molécula do fármaco com o solvente (água) externo e, à direita, aproximação demonstrando as variações de carga na cavidade ligante. Os átomos destacados com a cor vermelha são átomos de oxigênio de moléculas de água presentes na estrutura.

Na ilustração.6, a molécula de água que aparece logo acima do anel piridínico não metilado da nevirapina penetra cerca de 4 Å na direção do resíduo prolina 221. A superfície potencial foi construída com cargas do campo de força AMBER do programa PyMol. A cavidade ligante da enzima mutante Tyr188Cis apresenta-se bastante diferenciada em relação às demais. A região do resíduo Tyr318 também sofre uma modificação na distribuição de cargas neste mutante, tornando-se positiva (nos outros casos essa região possui uma densidade negativa nessa região). Essa distribuição positiva também é observada na enzima mutante Tyr181Cis. A região de contato da molécula com o resíduo Trp229, no entanto, mantém a mesma distribuição em todos os casos.

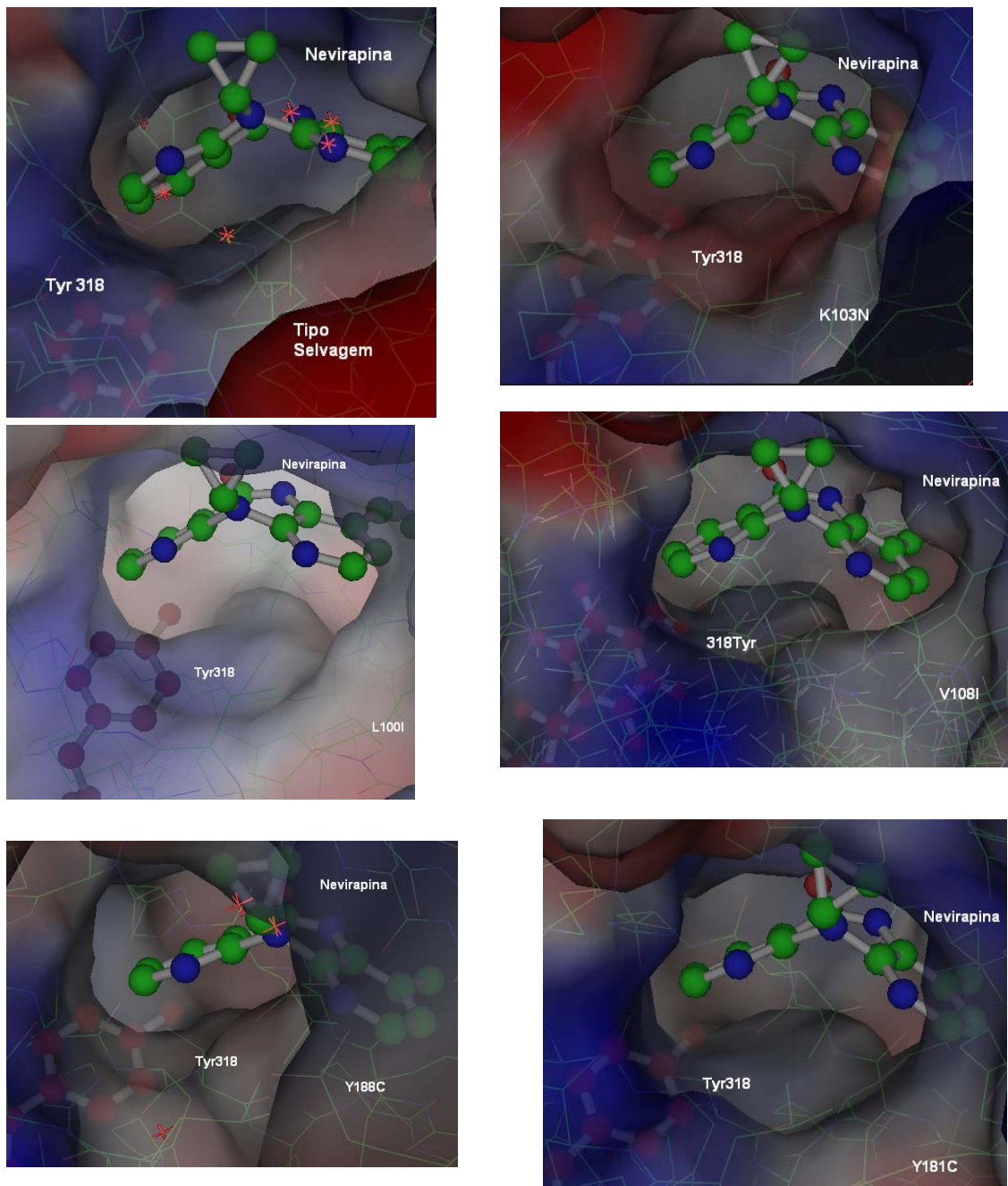


Ilustração 107 Comparação entre os complexos Nevirapina-RT de diferentes formas mutantes e da forma selvagem. A cor azul indica maior densidade de carga positiva e a vermelha indica maior densidade de carga negativa. Para melhor visualização, a imagem do mutante Y188C foi obtida partindo-se da região de interação da molécula do fármaco com a região externa à cavidade. Em todos os casos o resíduo VAL179 foi retirado para melhoria na visualização.

Embora apareça como uma região de predominância de cargas negativas, destacado em vermelho, nos mutantes Y188C e Y181C, a região de interação entre o

anel piridínico não metilado e o resíduo Tyr 318 apresenta-se com carga positiva destacada em cor azul.

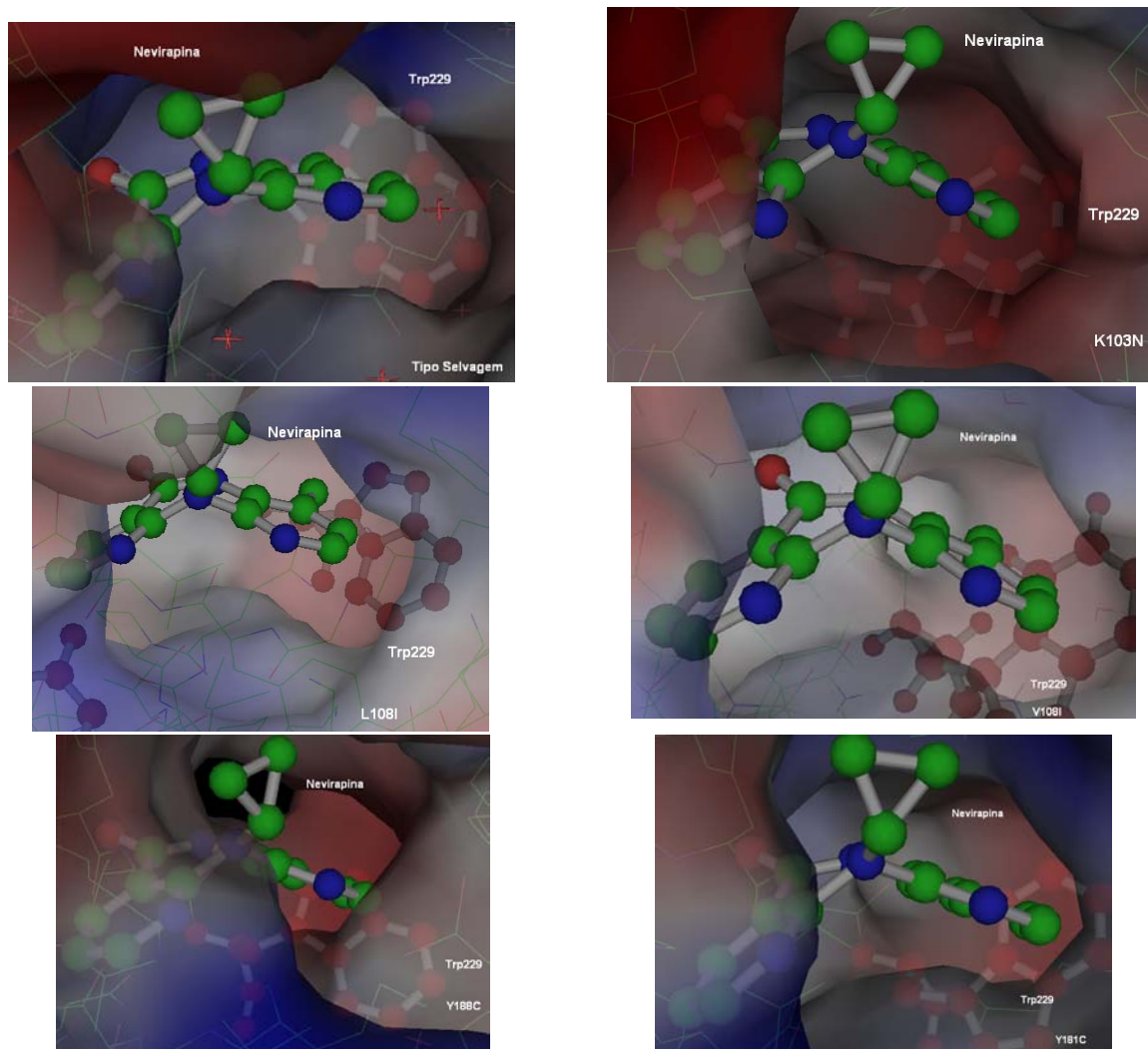


Ilustração 108 Comparação entre as regiões de interação do anel piridínico metilado da Nevirapina com o resíduo Trp229. Em todos os casos o resíduo Val179 foi omitido para melhor visualização.

A partir destes resultados, concluímos que o resíduo Trp229 favorece a interação com espécies químicas que possuem densidade de carga positiva uma vez que, ao contrário do resíduo Tyr318, o resíduo Trp229 mantém sempre uma distribuição negativa em todos os mutantes, embora haja uma variação nos valores das cargas. Como é possível observar nas imagens, há uma significativa variação no volume da cavidade havendo, inclusive, surgimento de “protuberâncias” que criam novas regiões de interação entre a molécula do fármaco e da proteína bem como “lacunas”, isto é, regiões onde há

perda de interação de regiões com a molécula do fármaco. De fato, essas alterações afetam substancialmente a cinética de inibição enzimática. Por exemplo, um dos principais mecanismos de resistência da transcriptase reversa do vírus VIH-1 à nevirapina são as mutações nos Tyr181Cis e Tyr188Cis que causam uma perda de interação de empilhamento (stacking) dos anéis aromáticos da tirosina com os anéis aromáticos da nevirapina.⁶⁸

2.8 Avaliação de Compostos de Boro.

Abaixo, apresentamos alguns testes feitos com a interação entre pequenas moléculas contendo boro e nitrogênio. O átomo de nitrogênio da molécula modelo foi colocado sobre o átomo de nitrogênio do indol da molécula do Trp229 presente no mutante Y188C (arquivo 1JLF do PDB). A molécula modelo contendo boro foi posicionada na mesma distância que o átomo de boro ficaria se fosse inserido na nevirapina um grupo contendo boro no seu anel piridínico. A seguir são dadas as geometrias de partida de alguns dos testes.

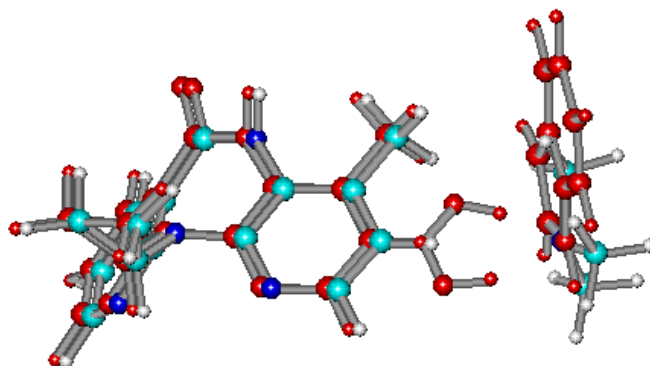


Ilustração 109 Superposição do hipotético análogo borilado e da trimetilamina sobre a nevirapina e o resíduo Trp229 na geometria encontrada no mutante Y181C.

O análogo borilado foi pré-otimizado, antes da superposição, usando um método semi-empírico na aproximação PM3. A distância inter-atômica média boro-nitrogênio foi seguida nos outros testes. A escolha da geometria de partida, portanto, iniciou-se com a superposição das espécies propostas sobre a geometria hipotética do análogo. As otimizações foram realizadas por cálculo mecânico-quântico *ab-initio* empregando-se o método Hartree-Fock com funções de base 6-31G*.

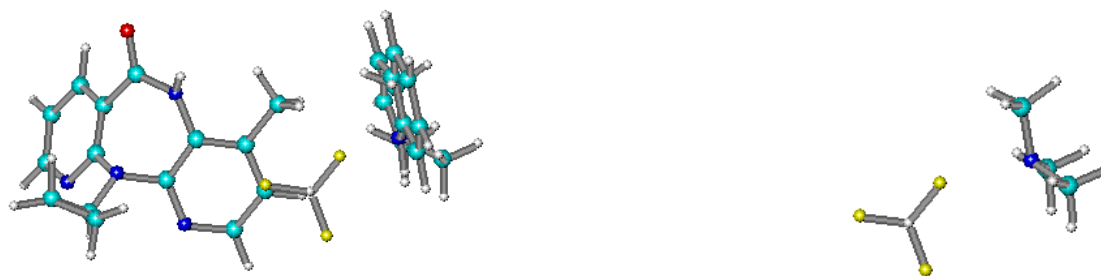


Ilustração 110 Procedimento para a escolha da geometria de partida. À esquerda, superposição do BF_3 e da trimetilamina sobre a geometria de partida. À direita, geometria de partida obtida para a otimização.

Os resultados indicaram uma tendência das moléculas a uma aproximação preferencial “face a face”, no caso dos haletos de boro, e perpendicular ao centro do anel aromático, no caso do ácido borônico.



Ilustração 111 Geometria otimizada do par BF_3 / Indol visto por duas perspectivas diferentes demonstrando a tendência à orientação “face a face”.

Testou-se uma série de moléculas com a geometria de partida definida de acordo com o método descrito acima. Todas as moléculas foram testadas em interação com uma molécula de trimetilamina, amônia, piridina, pirrol, indol e metil-indol.

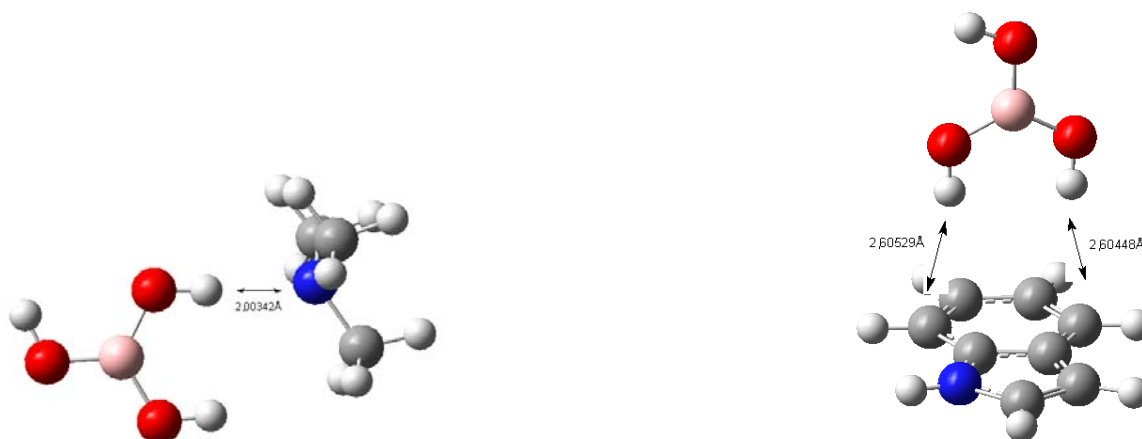


Ilustração 112 Geometria otimizada do par ácido borônico-trimetilamina (à esquerda) e ácido borônico-anel indol (à direita) com as distâncias inter-atômicas mínimas representadas.

2.8.1 Cálculos *ab-initio*

Abaixo são dados os resultados dos testes *ab-initio* calculados em nível e STO-3G* e 6-31G*

| Moléculas Boriladas | Moléculas Nitrogenadas | Energia de Interação (em kcal/mol) | | Distância (em Angstroms) |
|---|------------------------|------------------------------------|------------|--------------------------|
| | | HF/STO-3G* | HF/6-31G* | |
| Ácido Bórico [B(OH) ₃] | Trimetilamina | -7,599522606 | -8,684549 | 2,00342 |
| | Amônia | Não Converge | -10,053780 | 2,07504 |
| | Pirrol | Não Converge | -8,186648 | 2,03551 |
| | Piridina | Não Converge | -6,594753 | 2,03886 |
| | Indol | -2,259349755 | -6,051417 | 2,65935 2,70832 |
| | Metil-indol | Não Converge | -6,300368 | 2,68716 2,62906 |
| Ácido fenil-borônico [Ph-B(OH) ₂] | Trimetilamina | -8,037712839 | -8,512199 | 2,01243 |
| | Amônia | -9,74021022 | -9,862278 | 2,09905 |
| | Pirrol | -8,45506989 | | 2,60529 2,60448 |
| | Piridina | -1,378586034 | -7,324171 | 2,29138 2,25151 |
| | Indol | -2,378513904 | -6,051417 | 2,60529 2,60448 |
| | Metil-indol | Não Converge | -6,108867 | 2,65004 2,70141 |
| Ácido 3-piridil-borônico [Py-B(OH) ₂] | Trimetilamina | -8,85730365 | -9,105851 | 1,98908 |
| | Amônia | -10,61006458 | -10,532530 | 2,05832 |
| | Pirrol | -9,26016507 | -10,484650 | 2,57952 2,57992 |
| | Piridina | Não Converge | -7,324171 | 2,26030 2,26162 |
| | Indol | -2,71109420 | -6,645069 | 2,62689 2,66790 |
| | Metil-indol | Não Converge | -6,740819 | 2,65172 2,62185 |

Tabela 34 Valores de energia total dos pares moleculares calculados por método Hartree-Fock com diferentes bases.

| Molécula Borilada | Molécula Nitrogenada | Dipolo Total (Debye) | |
|---|----------------------|----------------------|--------|
| | | STO-3G* | 6-31G* |
| Ácido Bórico [B(OH) ₃] | Trimetilamina | 4,7547 | 5,4069 |
| | Amônia | Não Converge | 6,0750 |
| | Pirrol | Não Converge | 3,8685 |
| | Piridina | Não Converge | 6,0049 |
| | Indol | 4,2119 | 5,5142 |
| | Metil-indol | Não Converge | 4,3315 |
| Ácido fenil-borônico [Ph-B(OH) ₂] | Trimetilamina | 5,1854 | 4,7250 |
| | Amônia | 5,7862 | 5,5750 |
| | Pirrol | 3,5731 | 4,1986 |
| | Piridina | 6,2080 | 6,7040 |
| | Indol | 3,5357 | 4,5215 |
| | Metil-indol | Não Converge | 4,4211 |
| Ácido 3-piridil-borônico [Py-B(OH) ₂] | Trimetilamina | 7,5629 | 7,4525 |
| | Amônia | 8,1325 | 8,2555 |
| | Pirrol | 5,7336 | 6,7656 |
| | Piridina | Não Converge | 9,4393 |
| | Indol | 5,6587 | 6,9780 |
| | Metil-indol | Não Converge | 6,9066 |

Tabela 35 Valores de momento de dipolo dos pares moleculares calculados por método Hartree-Fock com diferentes bases



Ilustração 113 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e trimetilamina observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 114. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e amônia observado por duas perspectivas diferentes

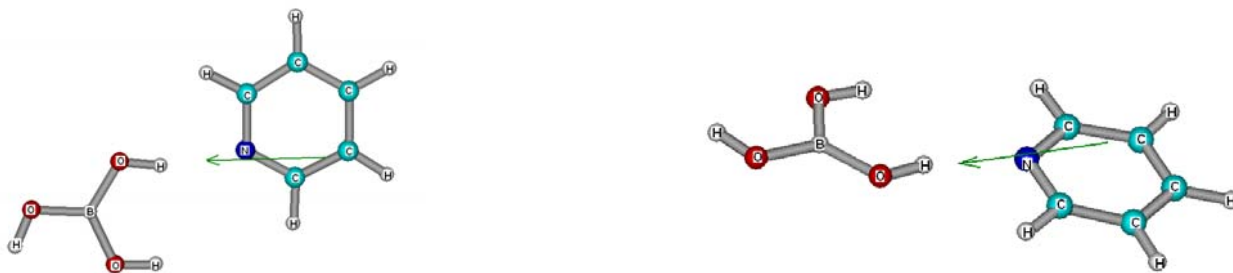


Ilustração 115. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e piridina observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 116. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e pirrol observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 117. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e indol observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 118. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido bórico e 32-metil-indol observado por duas perspectivas diferentes

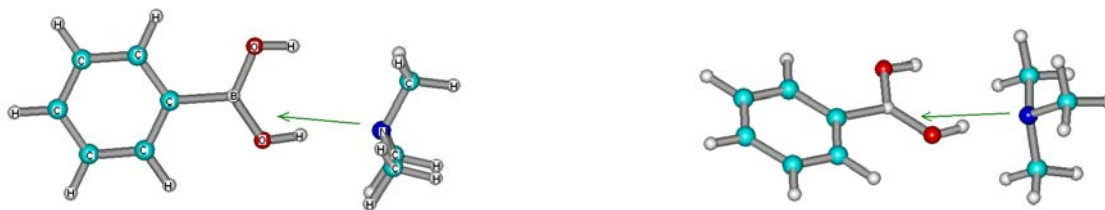


Ilustração 119. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenil-borônico e trimetilamina observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 120. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenil-borônico e amônia observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 121. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenil-borônico e pirinina observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 122. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenil-borônico e pirrol observado por duas perspectivas diferentes

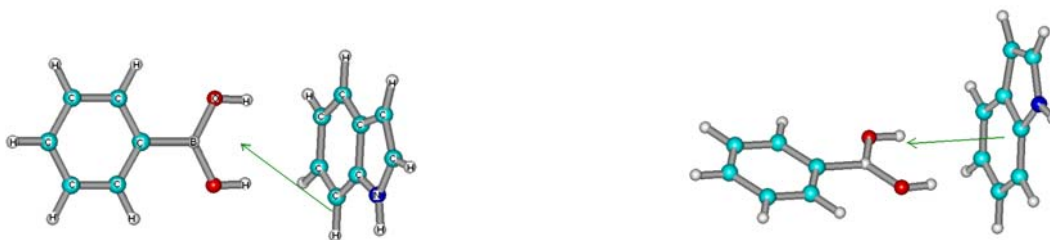


Ilustração 123. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenil-borônico e indol observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 124. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido fenil-borônico e 2-metil-indol observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 125. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridil-borônico e trimetilamina observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 126 Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridil-borônico e amônia observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 127. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridil-borônico e piridina observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 128. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridil-borônico e pirrol observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 129. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridil-borônico e indol observado por duas perspectivas diferentes



Ilustração 130. Direção do vetor momento de dipolo no par molecular ácido 3-piridil-borônico e 2-metil-indol observado por duas perspectivas diferentes

Observamos uma pequena variação dos valores de acordo com a base utilizada indicando que a base STO-3G* subestima os valores de energia de interação e momento de dipolo. Os valores de energia de interação indicam que a interação entre as moléculas é favorecida. Tanto os valores de energia de interação quanto as distâncias interatômicas estão dentro da faixa de uma ligação de hidrogênio. Os valores do momento de dipolo bem como a sua direção corroboram esta conclusão, tendo valores relativamente altos. Os compostos de boro otimizados com a piridina apresentam orientam-se preferencialmente com os átomos de hidrogênio do grupo di-hidroxi-borano interagindo com o átomo de nitrogênio. Esse resultado é devido à elevada carga do átomo de nitrogênio na piridina ($\cong -0,68$, ver tabela 4) que favorece esta interação. Os resultados sugerem que a substituição dos anéis piridínicos da nevirapina podem resultar num

aumento da atração eletrostática entre estes e os resíduos aromáticos nitrogenados da TR.

Calculamos também a alteração na distribuição de cargas no anel piridínico com a adição do grupo ácido borônico.

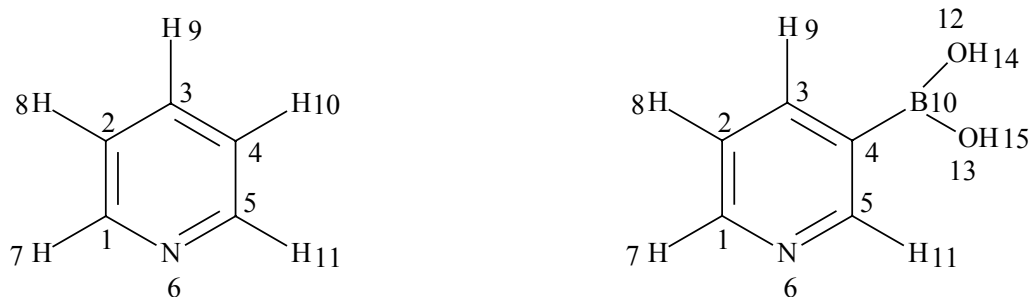


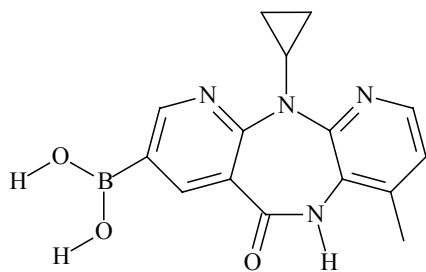
Ilustração 131 Fórmula estrutural da piridina e do ácido 2-piridil-borônico

| Piridina | Átomo | Carga ChelpG | Ác. Piridil borônico | Átomo | Carga ChelpG |
|----------|-------|--------------|----------------------|-------|--------------|
| 1 | C | 0,476812 | 1 | C | 0,478162 |
| 2 | C | -0,459873 | 2 | C | -0,451580 |
| 3 | C | 0,242683 | 3 | C | 0,218550 |
| 4 | C | -0,469164 | 4 | C | -0,450409 |
| 5 | C | 0,483834 | 5 | C | 0,456240 |
| 6 | N | -0,682795 | 6 | N | -0,691865 |
| 7 | H | 0,013305 | 7 | H | 0,014859 |
| 8 | H | 0,158568 | 8 | H | 0,150109 |
| 9 | H | 0,063725 | 9 | H | 0,074674 |
| 10 | H | 0,161796 | 10 | B | 0,855162 |
| 11 | H | 0,011108 | 11 | H | 0,035676 |
| - | - | - | 12 | O | -0,788734 |
| - | - | - | 13 | O | -0,803791 |
| - | - | - | 14 | H | 0,446579 |
| - | - | - | 15 | H | 0,456367 |

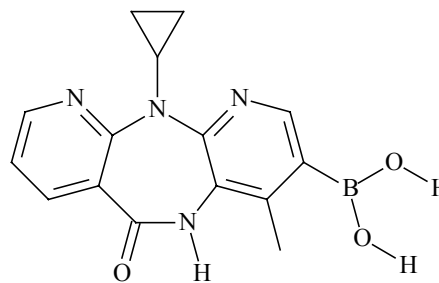
Tabela 36 Valores de cargas atômicas ChelpG da piridina e do ácido 3-piridil borônico.

A adição do grupo borônico ao anel aromático causa uma alteração significativa na distribuição de cargas entre os átomos. O carbono nº 4 (ao qual se liga o substituinte boronato) sofre uma leve diminuição na carga negativa enquanto os átomos de carbono nº 3 e 5 sofrem uma diminuição nos valores de carga positiva. Os átomos de hidrogênio do ácido borônico apresentam-se com uma carga significativamente positiva.

2.8.3 Análogos Propostos



Análogo.1



Análogo.2

Ilustração 132 Fórmulas estruturais dos análogos propostos

Baseando-se nos resultados anteriores e nas posições do resíduo Trp229 e Tyr318 em relação a nevirapina, propusemos os análogos acima (Ilustração.34) como possíveis candidatos a fármacos mais resilientes na terapia anti-retroviral. Nas próximas seções, descrevemos as propriedades calculadas em cada um dos análogos na interação com a Tyr318 (no caso do análogo.1) e Trp 229 (para o análogo 2).

2.8.4 O Aminoácido Triptofano 229

Iniciamos os estudos desta etapa avaliando primeiramente a interação do análogo 2 com o Trp 229. A cadeia lateral do Trp229, o indol, é menos reativo com ácidos borônicos do que a cadeia lateral do resíduo aminoácido Tyr318 que é um fenol tendo, portanto, uma hidroxila possivelmente reativa com sistema nucleofílicos como o ácido borônico. Abaixo, apresentamos os resultados do cálculo *ab-initio* para este sistema.

2.8.4.1 Resultados

Segundo as análises, realizamos cálculos *ab-initio* com o objetivo de se obter e dados sobre o sistema. Os valores de cargas atômicas obtidas pelo método ChelpG são dados abaixo:

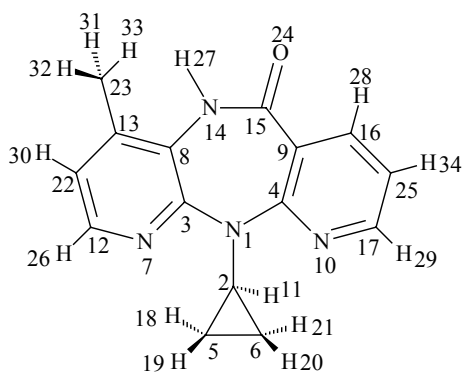


Ilustração 133 Numeração dos átomos da nevirapina

| Átomos (nº/símbolo) | Cargas ChelpG | Átomos (nº/símbolo) | Cargas ChelpG |
|------------------------|------------------|------------------------|------------------|
| 1 N | -0,531361 | 18 H | 0,104270 |
| 2 C | 0,225543 | 19 H | 0,104576 |
| 3 C | 0,627455 | 20 H | 0,111440 |
| 4 C | 0,823193 | 21 H | 0,101900 |
| 5 C | -0,240330 | 22 C | -0,514728 |
| 6 C | -0,257460 | 23 C | -0,166364 |
| 7 N | -0,638790 | 24 O | -0,654342 |
| 8 C | -0,108218 | 25 C | -0,447786 |
| 9 C | -0,518132 | 26 H | 0,064732 |
| 10 N | -0,696272 | 27 H | 0,360549 |
| 11 H | 0,050295 | 28 H | 0,105335 |
| 12 C | 0,343089 | 29 H | 0,048724 |
| 13 C | 0,301478 | 30 H | 0,189430 |
| 14 N | -0,628472 | 31 H | 0,065895 |
| 15 C | 0,869032 | 32 H | 0,064595 |
| 16 C | 0,214185 | 33 H | 0,053355 |
| 17 C | 0,413707 | 34 H | 0,159477 |

Tabela 37 Valores de cargas atômicas da nevirapina.

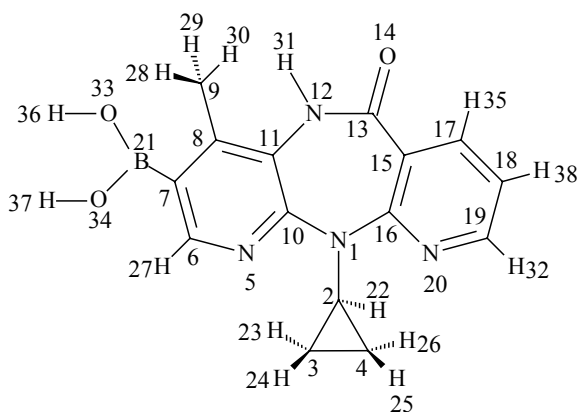


Ilustração 134 Numeração dos átomos do análogo borilado da nevirapina

| Átomo Nº/símbolo | Carga ChelpG | Átomo Nº/símbolo | Carga ChelpG |
|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| 1N | -0,565578 | 20N | -0,700017 |
| 2C | 0,250253 | 21B | 0,921036 |
| 3C | -0,214137 | 22H | 0,045784 |
| 4C | -0,274422 | 23H | 0,094664 |
| 5N | -0,681093 | 24H | 0,094044 |
| 6C | 0,336658 | 25H | 0,113314 |
| 7C | -0,523376 | 26H | 0,104778 |
| 8C | 0,289766 | 27H | 0,094931 |
| 9C | -0,144241 | 28H | 0,071708 |
| 10C | 0,701423 | 29H | 0,063220 |
| 11C | -0,158709 | 30H | 0,038719 |
| 12N | -0,619068 | 31H | 0,354831 |
| 13C | 0,884788 | 32H | 0,048761 |
| 14O | -0,662336 | 33O | -0,781863 |
| 15C | -0,526036 | 34O | -0,830661 |
| 16C | 0,835332 | 35H | 0,111055 |
| 17C | 0,202209 | 36H | 0,436305 |
| 18C | -0,443298 | 37H | 0,459974 |
| 19C | 0,412483 | 38H | 0,158799 |

Tabela 38 Valores cargas atômicas da molécula de nevirapina modificada.

A maioria dos átomos de carbono desta molécula apresenta uma carga similar àquela da nevirapina. O átomo de boro apresenta uma carga bastante positiva (0,921036) bem como os átomos de hidrogênio ligados a ele (0,436305 e 0,459974). Os átomos de oxigênio do mesmo grupo apresentam uma carga muito negativa (-0,781863 e -0,830661). O mapa do potencial eletrostático e o mapa de distribuição dos orbitais HOMO e LUMO são dados abaixo:

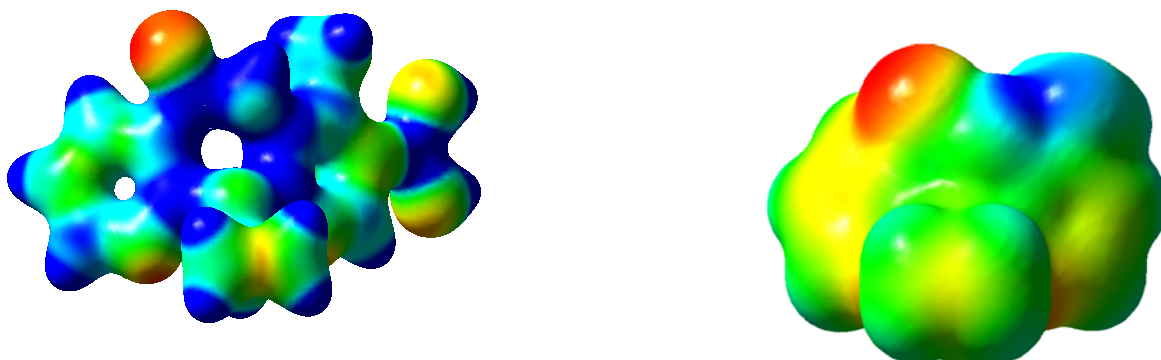


Ilustração 135 Comparação entre os mapas potenciais dos potenciais eletrostáticos do análogo.2 (à esquerda) e da nevirapina (à direita).

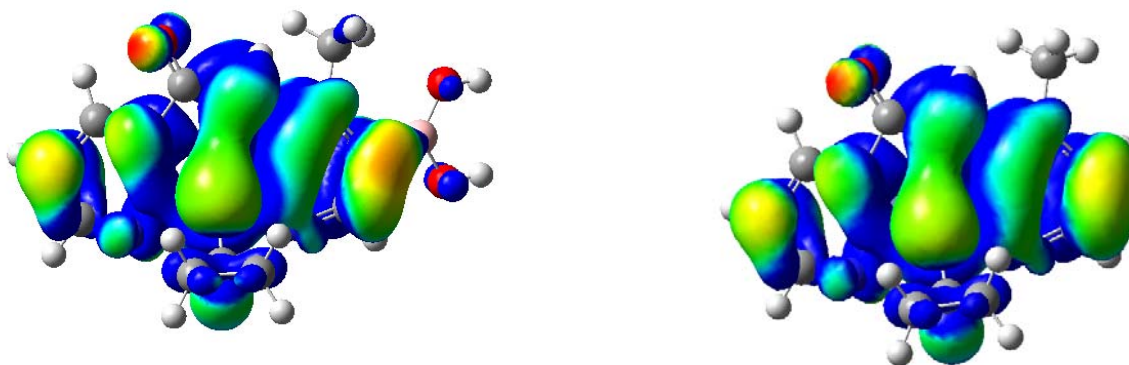


Ilustração 136 Comparação entre os orbitais HOMO do análogo.2 (à esquerda) e da nevirapina (à direita).

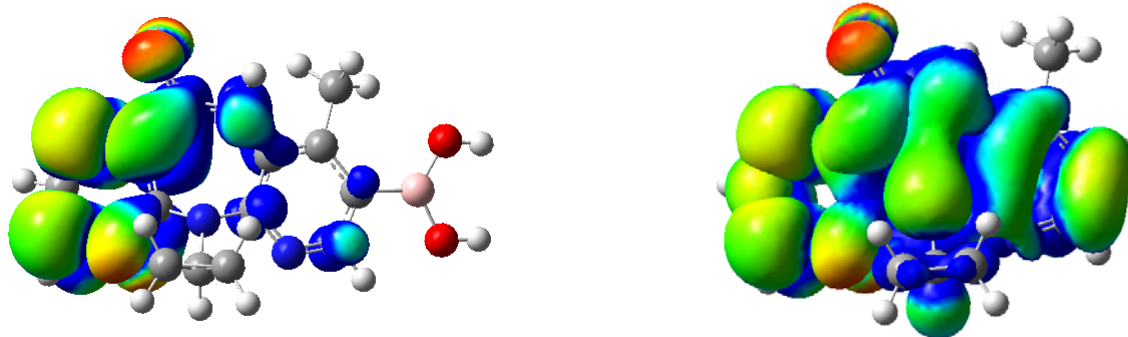


Ilustração 137 Comparação entre os orbitais LUMO do análogo.2 (à esquerda) e da nevirapina (à direita).

| Base | Energia do Orbital (e.V) | | | | | |
|----------------|--------------------------|-------|------------|------------|-------|------------|
| | Nevirapina Modificada | | | Nevirapina | | |
| | HOMO | LUMO | ΔE | HOMO | LUMO | ΔE |
| STO-3G* | -0,235 | 0,207 | 0,442 | -0,243 | 0,203 | 0,446 |
| 6-31G* | -0,307 | 0,101 | 0,408 | -0,312 | 0,098 | 0,410 |

Tabela 39 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira HOMO e LUMO e da diferença de energia entre estes orbitais para a nevirapina modificada e a convencional

Os valores de energia dos orbitais de fronteira da molécula do análogo 2 da nevirapina são similares aos da nevirapina convencional. Há uma variação relevante de acordo com a base utilizada.

A simulação *ab-initio* do análogo borilado da nevirapina revelou que este segue a mesma orientação preferencial das moléculas pequenas de ácido borônico simuladas em relação ao anel indólico do triptofano 229, isto é, o análogo também tende a orientar-se perpendicularmente ao anel aromático.

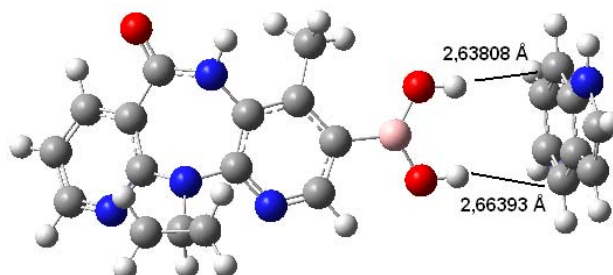


Ilustração 138 Resultado da otimização em nível HF/6-31G* do análogo borilado e do indol.

A formação desta ligação de hidrogênio não-convencional depende da presença na forma molecular, isto é, não ionizada, do análogo borilado da nevirapina. Este, por sua vez, depende dos valores de pKa do ácido e de pH do meio. Como não dispomos da substância para efetuar a medição de pKa, não podemos calcular este valor com exatidão. No entanto, podemos estimar este valor aproximadamente tomando como base outros ácidos borônicos para os quais temos dados disponíveis na literatura. O valor de pKa do ácido 3-piridil-borônico é 8,1.⁷⁴ O valor de pH do meio intracelular de linfócitos humanos é aproximadamente 7,3 (em solução salina fisiológica a 37°C).⁷⁵ Pela equação de **Henderson-Hasselbalch**⁷⁶ temos:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log [\text{base conjugada}]/[\text{ácido}]$$

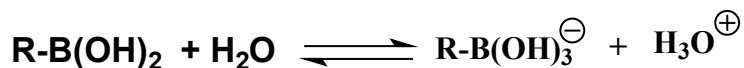
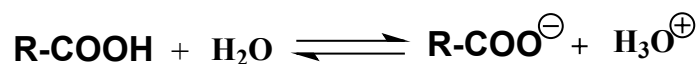


Ilustração 139 Comparação entre as formas de ionização de ácidos carboxílicos e ácidos borônicos em meio aquoso.

Substituindo os valores nesta equação encontramos que a razão [base conjugada]/[ácido] é igual a $\cong 0,20417$, ou seja, para estas condições, cerca de 79,5% da quantidade molar total do ácido borônico estarão na forma molecular capaz de formar a ligação de hidrogênio calculada. Naturalmente, esta é apenas uma estimativa baseada em análogos, logo este resultado é apenas qualitativo, mas demonstra claramente a importância da contribuição da energia desta ligação de hidrogênio não convencional na energia total de interação entre o fármaco e a proteína.

A distribuição de carga sobre os átomos demonstra um aumento na densidade de carga positiva na região da molécula que interage com o Trp229 (figura abaixo):

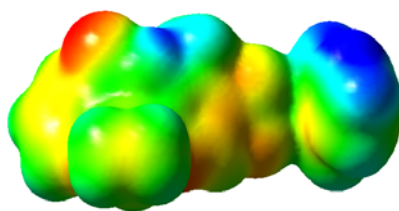


Ilustração 140 Mapa do potencial eletrostático da geometria otimizada do análogo e da cadeia lateral do triptofano 229. A cor azul indica a densidade de carga positiva e a cor vermelha indica a densidade de carga negativa.

A energia de interação calculada pela fórmula $E_{int} = E_f - (ENVP_{opt} + EIND_{opt})$, onde E_f é a energia final da otimização do par molecular descrito acima, $ENVP_{opt}$ é a energia da nevirapina modificada otimizada e $EIND_{opt}$ é a energia do indol otimizado, é dada abaixo:

| Base | Energia de Interação (Kcal/mol) | | | |
|----------------|---------------------------------|----------|-------------------------|--------------|
| | Nevirapina Modificada | | Nevirapina Convencional | |
| | Fase Gasosa | Água | Fase Gasosa | Água |
| STO-3G* | -2,715550 | 1,432917 | não converge | não converge |
| 6-31G* | -6,652484 | 6,423632 | -1,937496 | 6,413455 |

Tabela 40 Valores de energia de interação da ligação de hidrogênio não convencional

Os valores da tabela 1.9.1 demonstram que a ligação de hidrogênio não é favorável em sistema aquoso. Esse resultado é bem razoável tendo em vista que água, por ser um solvente polar, também tende a formar ligações de hidrogênio com este composto o que deve desfavorecer essa ligação em um sistema aquoso puro. É importante, entretanto, lembrar que, complexado na proteína, este composto estará em contato com um número limitado de moléculas de água o que altera significativamente este valor e que este cálculo de correção do efeito do solvente possui severas limitações.

Existe também a interação da forma ionizada deste ácido com o resíduo Trp229. Neste caso, a interação mais favorecida não é a ligação não convencional, mas a interação eletrostática com o nitrogênio indólico.

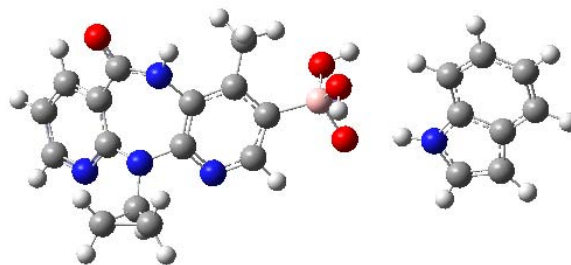


Ilustração 141. Geometria otimizada do ânion boronato do análogo da nevirapina e do indol

Evidentemente, o Trp229 presente na TR não possui grau de liberdade suficiente que permitam este movimento observado na otimização de geometria livre da proteína, entretanto, este resultado revela o favorecimento da interação do resíduo aminoácido com o análogo na forma iônica o que corrobora o indício de atividade deste composto.

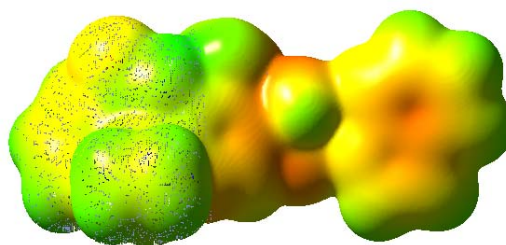


Ilustração 142. Mapa do potencial eletrostático potencial da geometria otimizada da forma aniônica do análogo borilado e do Trp229.

O mapa do potencial eletrostático potencial revela a densidade de cargas negativas sobre os átomos de oxigênio (em vermelho) na região de interação e positiva sobre os átomos de hidrogênio (em verde). Não calculamos para este caso os valores de energia de interação devido ao fato de que este movimento efetuado pelo Trp 229 na otimização de geometria é obviamente inviável no núcleo protéico o que acarretaria, portanto, um resultado distante do valor real. Consideramos, entretanto, este resultado, um forte indicativo da atividade desta molécula.

2.8.5 O Análogo dihaleto de Boro

Investigamos também a substituição do hidrogênio vicinal a metila pelo grupo difluoreto de boro (BF_2). Ao contrário do ácido borônico, o BF_2 não possui átomos de hidrogênio. O caráter ácido deste substituinte deve-se, basicamente, ao orbital “p” vazio do átomo de boro que confere a esta espécie química a capacidade de atuar como ácido de Lewis.



Ilustração 143 Comparação entre o mapa do potencial eletrostático da nevirapina convencional e da modificada com BF_2



Ilustração 144 Comparação entre os orbitais HOMO da nevirapina convencional e da modificada com BF_2

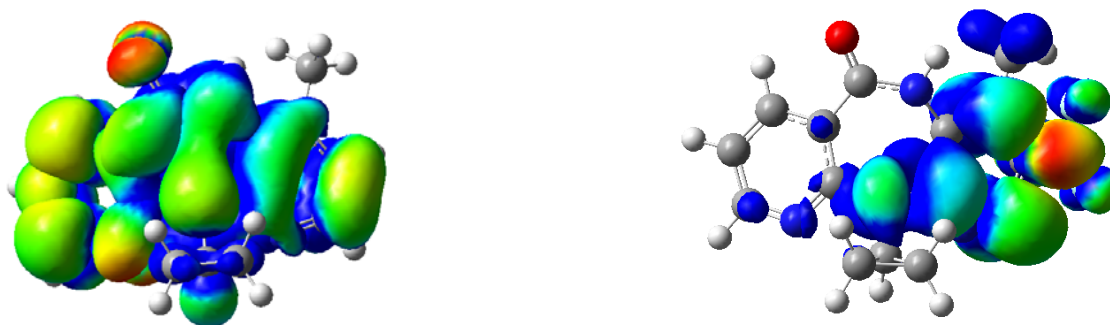


Ilustração 145 Comparação entre os orbitais LUMO da nevirapina convencional e da modificada com BF_2

Como se pode observar na figura acima, o orbital LUMO da molécula NVPBF2 (análogo difluoreto de boro da nevirapina) concentra-se sobre o anel piridínico metilado e o grupo borilado. O mapa do potencial eletrostático a densidade de carga negativa sobre o grupo difluoreto de boro.

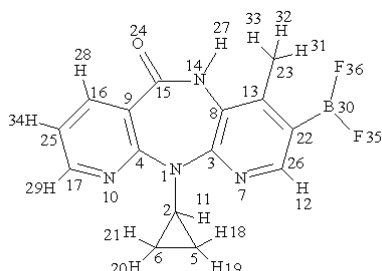


Ilustração 146 Numeração dos átomos do análogo difluorborilado da nevirapina

| Número | Átomo | Carga | Número | Átomo | carga |
|--------|-------|-----------|--------|-------|-----------|
| 1 | N | -0,537576 | 19 | H | 0,098341 |
| 2 | C | 0,249920 | 20 | H | 0,114369 |
| 3 | C | 0,748418 | 21 | H | 0,104473 |
| 4 | C | 0,807975 | 22 | C | -0,710833 |
| 5 | C | -0,219333 | 23 | C | -0,242661 |
| 6 | C | -0,267686 | 24 | O | -0,654097 |
| 7 | N | -0,740598 | 25 | C | -0,451262 |
| 8 | C | -0,182521 | 26 | H | 0,082128 |
| 9 | C | -0,512233 | 27 | H | 0,363111 |
| 10 | N | -0,700188 | 28 | H | 0,110077 |
| 11 | H | 0,044925 | 29 | H | 0,045175 |
| 12 | C | 0,451116 | 30 | B | 0,967571 |
| 13 | C | 0,381795 | 31 | H | 0,120902 |
| 14 | N | -0,638994 | 32 | H | 0,070074 |
| 15 | C | 0,875569 | 33 | H | 0,048500 |
| 16 | C | 0,210097 | 34 | H | 0,163088 |
| 17 | C | 0,429671 | 35 | F | -0,389060 |
| 18 | H | 0,094760 | 36 | F | -0,335011 |

Tabela 41 Cálculo das cargas atômicas da molécula de nevirapina modificada obtido pelo método ChelpG.

Os resultados demonstram uma elevada carga positiva sobre o átomo de boro e carga negativa sobre os átomos de flúor da molécula. Ao contrário dos outros análogos, neste caso a carga sobre o átomo de carbono ligado ao boro (-0,710833, o átomo, nº 22) supera a carga do átomo de oxigênio (-0,654097).

A avaliação da interação deste análogo com o indol revela características bem distintas do análogo com o grupo $-B(OH)_2$. Ao contrário do análogo borilado, a otimização do análogo substituído com difluoreto de boro leva a uma aproximação diferente entre as estruturas. A molécula da nevirapina modificada orienta-se preferencialmente pela aproximação entre o grupo substituinte e o nitrogênio do indol.

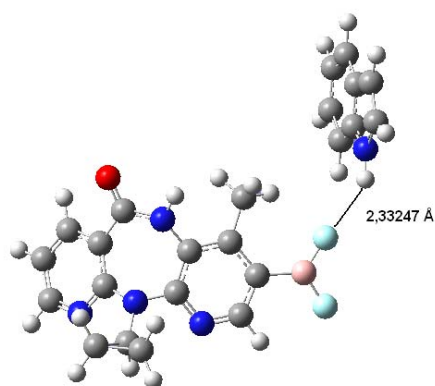


Ilustração 147 Geometria otimizada do análogo modificado da nevirapina e do indol. A otimização foi realizada com cálculo HF/6-31G*.

Este comportamento diferenciado desta molécula (o análogo difluorborado da nevirapina) em relação ao análogo com o grupo $-B(OH)_2$ pode ser melhor compreendido quando analisado a disposição de seu orbital LUMO. Como demonstrado na ilustração 27, o análogo difluorborado apresenta o orbital LUMO bem concentrado no grupo borilado. Logo, esta região pode ser eletrofílica favorecendo a interação com a nuvem eletrônica sobre o nitrogênio do indol. Este resultado, entretanto, demonstra apenas uma tendência no comportamento deste análogo, já que as limitações estéricas da cavidade ligante não permitem esta liberdade de movimento. Contudo, isto indica a forte tendência do grupo BF_2 em interagir com esta região com maior densidade de carga negativa na cavidade hidrofóbica. O mapa do potencial eletrostático das duas moléculas é dado abaixo:

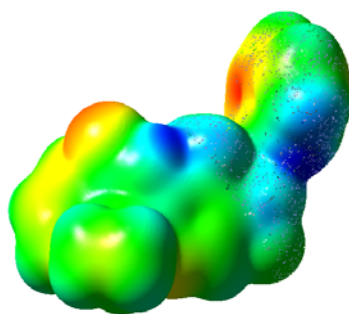
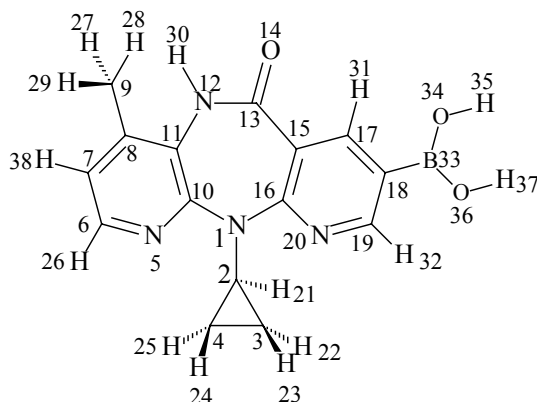


Ilustração 148 Mapa do potencial eletrostático do análogo difluoreto de boro e do indol.

Este resultado comparado ao obtido com os ácidos borônicos demonstra o caráter eletrofílico filico dos composto de boro. Entretanto, é improvável que esta molécula possa ter aplicação farmacológica, pois os compostos contendo o grupo difluoreto de boro apresentam, em geral, toxicidade demasiadamente elevada tornando o seu uso inviável.⁴

2.8.6 O Aminoácido Tyr318

2.8.6.1 Resultados



| Átomo | Carga | Átomo | Carga |
|-------|-----------|-------|-----------|
| 1N | -0,524014 | 20N | -0,719911 |
| 2C | 0,252947 | 21H | 0,040238 |
| 3C | -0,222131 | 22H | 0,094425 |
| 4C | -0,266239 | 23H | 0,095528 |
| 5N | -0,647833 | 24H | 0,110822 |
| 6C | 0,342784 | 25H | 0,102369 |
| 7C | -0,518763 | 26H | 0,065666 |
| 8C | 0,306922 | 27H | 0,062696 |
| 9C | -0,160393 | 28H | 0,061816 |
| 10C | 0,633879 | 29H | 0,053451 |
| 11C | -0,101673 | 30H | 0,367894 |
| 12N | -0,665476 | 31H | 0,117354 |
| 13C | 0,902458 | 32H | 0,065318 |
| 14O | -0,660464 | 33B | 0,873188 |
| 15C | -0,550342 | 34O | -0,793346 |
| 16C | 0,832696 | 35H | 0,448770 |
| 17C | 0,208183 | 36O | -0,815128 |
| 18C | -0,464680 | 37H | 0,458697 |
| 19C | 0,423129 | 38H | 0,189162 |

Tabela 42 Valores de Carga Atômica para o análogo.1 calculados pelo método ChelpG

Neste análogo, as cargas são similares às do outro análogo. O átomo de boro apresenta uma carga levemente menor do que análogo substituído no anel metilado.

otimização do par de moléculas formado pelo análogo contendo o grupo $-B(OH)_2$ da nevirapina e pelo fenol, revela uma tendência à aproximação entre o átomo de oxigênio fenólico e os átomos de hidrogênio do grupo $-B(OH)_2$.

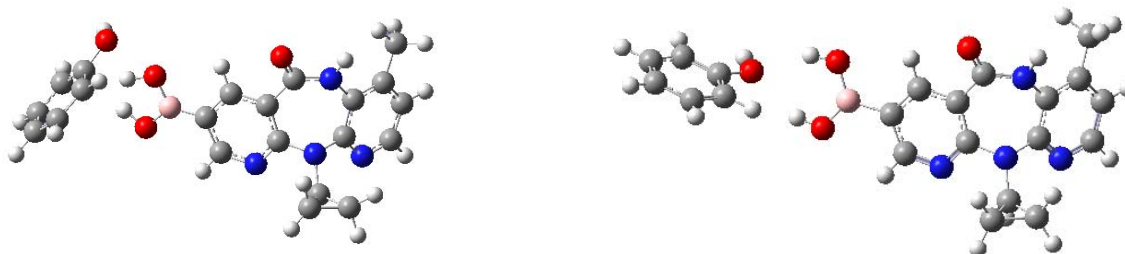


Ilustração 149 Geometria inicial e final da otimização do par fenol/análogo ácido borônico realizado com cálculo *ab-initio* pelo método Hartree-Fock em nível 6-31G*.

Este resultado, no entanto, demonstra somente a tendência de atração entre as duas espécies químicas. Estudos experimentais demonstram que ácidos borônicos são capazes de formar uma ligação covalente com grupos hidroxila, tendo o átomo de boro numa conformação aproximadamente tetraédrica.⁵⁹ É possível, portanto, que o par de moléculas em estudo forme um aduto covalente negativamente carregado como os resultados experimentais descrevem em sistemas similares. Para avaliar a viabilidade de ocorrência do processo de formação do complexo, realizamos a otimização do aduto covalente proposto.

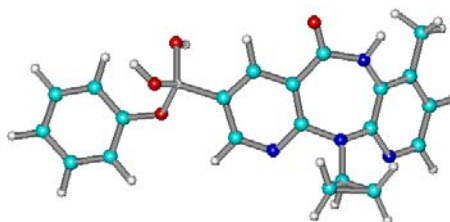


Ilustração 150 Geometria otimizada do aduto covalente proposto

A otimização foi realizada considerando-se uma carga negativa sobre a molécula (UHF/6-31G*) tomando como padrão dados experimentais disponíveis sobre estruturas similares.⁵⁷ O resultado da otimização revelou que os grupos ligados ao átomo de boro orientam-se em uma geometria aproximadamente tetraédrica (os valores de ângulo entre

as ligações dos átomos oxigênio–boro–oxigênio varia de 109° a 112° e entre as ligações oxigênio–boro–carbono varia de 103° a 112°).

Não encontramos na literatura nenhuma referência a um aduto covalente de um ácido aril-borônico e compostos fenólicos. Para avaliarmos a viabilidade de formação deste aduto, realizamos a otimização de geometria de um análogo cuja reação já é descrita na literatura. Otimizamos a estrutura de um análogo da nevirapina contendo o grupo $-B(OH)_2$ com uma estrutura serina (reação já descrita experimentalmente) e de ácidos aril-borônico (fenol e piridina) que possui uma similaridade química com a reação em discussão.

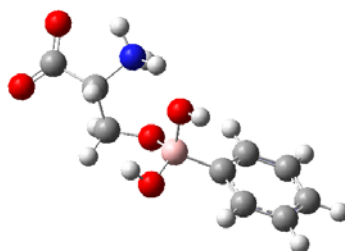


Ilustração 151 Aduto resultante do ácido fenil-borônico com a serina



Ilustração 152 Aduto resultante do ácido fenil-borônico com uma molécula de fenol

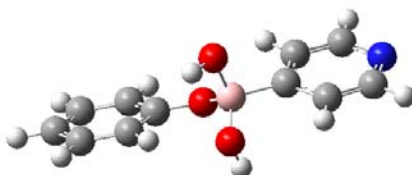


Ilustração 153. Aduto resultante do ácido piridil borônico com uma molécula de fenol

| Aduto | Energia de Formação (kcal/mol) | |
|----------------------------|--------------------------------|--------------|
| | AM1 | PM3 |
| SerOH/PhB(OH) ₂ | -229.1719433 | -239.5477860 |
| PhOH/PhB(OH) ₂ | -207,4019012 | -209,6090851 |
| PhOH/PyB(OH) ₂ | -201,7231293 | -208,5822211 |
| PhOH/NVPB(OH) ₂ | -116.5880959 | -190,5916748 |

Tabela 43 Valores de Energia de formação calculados pelos métodos semi-empíricos AM1 e PM3

SerOH/PhB(OH)₂ = aduto resultante da serina com o ácido fenil-borônico

PhOH/PhB(OH)₂ = aduto resultante do fenol com o ácido fenil-borônico

PhOH/PyB(OH)₂ = aduto resultante do fenol com o ácido piridil-borônico

PhOH/NVPB(OH)₂=aduto resultante do fenol com o análogo borilado da nevirapina

Os valores da Tabela 11 demonstram que o calor de formação do aduto formado pelo análogo 1 e pelo fenol está dentro de uma faixa comparável à dos outros adutos sugerindo uma possível viabilidade de formação deste aduto.

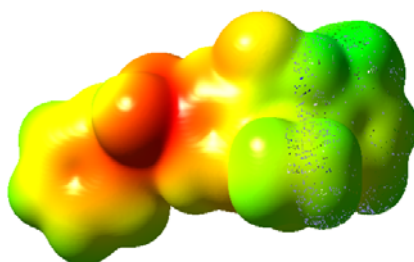


Ilustração 154 Superfície potencial do aduto covalente resultante da tirosina com a nevirapina modificada demonstrando a densidade de carga negativa sobre os átomos de boro e oxigênio.

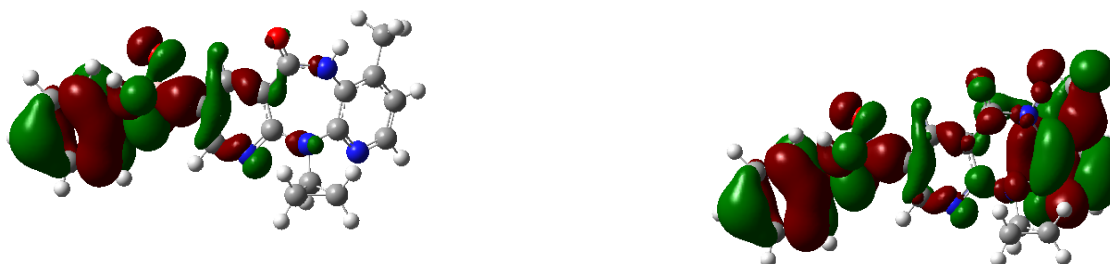


Ilustração 155 À esquerda, orbital HOMO do aduto covalente resultante da ligação com o fenol e, à direita, orbital LUMO.

| BASE | Energia dos Orbitais de Fronteira (em e.V) | | |
|---------|--|-------|-------|
| | HOMO | LUMO | ΔE |
| STO-3G* | -0,073 | 0,315 | 0,388 |
| 6-31G* | -0,168 | 0,198 | 0,366 |

Tabela 44 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira

O mapa do potencial eletrostático potencial revela uma presença preferencial da carga negativa nos átomos de oxigênio do aduto aniônico formado. O mapa dos orbitais moleculares revela o orbital HOMO preferencialmente sobre o resíduo tirosina 318. A distribuição de cargas nos átomos (Tabela 13) demonstra que o átomo de boro mantém uma carga significativamente positiva também na espécie química aniônica.

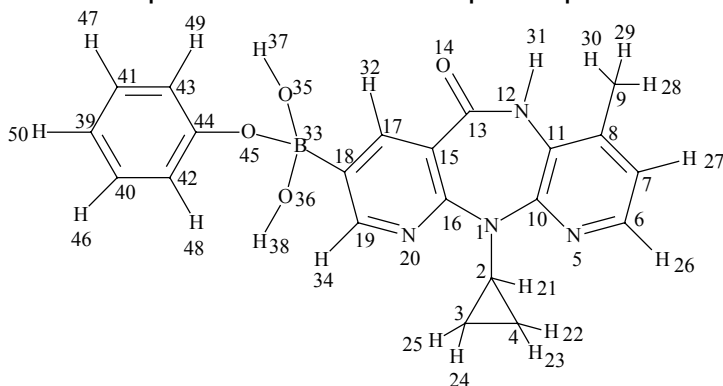


Ilustração 156 Numeração dos átomos do aduto formado pelo resíduo tirosina com o análogo borilado da nevirapina

| Número | Átomo | Carga | Número | Átomo | Carga |
|--------|-------|-----------|--------|-------|-----------|
| 1 | N | -0,549868 | 26 | H | 0,055565 |
| 2 | C | 0,296519 | 27 | H | 0,178590 |
| 3 | C | -0,320882 | 28 | H | 0,049716 |
| 4 | C | -0,201727 | 29 | H | 0,051188 |
| 5 | N | -0,661547 | 30 | H | 0,061270 |
| 6 | C | 0,322989 | 31 | H | 0,356939 |
| 7 | C | -0,537559 | 32 | H | 0,094725 |
| 8 | C | 0,330597 | 33 | B | 1,126839 |
| 9 | C | -0,165390 | 34 | H | 0,051925 |
| 10 | C | 0,714562 | 35 | O | -0,893073 |
| 11 | C | -0,158010 | 36 | O | -0,941939 |
| 12 | N | -0,667660 | 37 | H | 0,367988 |
| 13 | C | 0,898617 | 38 | H | 0,422513 |
| 14 | O | -0,672037 | 39 | C | -0,298228 |
| 15 | C | -0,479838 | 40 | C | -0,002919 |
| 16 | C | 0,740216 | 41 | C | 0,018132 |
| 17 | C | 0,093544 | 42 | C | -0,420363 |
| 18 | C | -0,353366 | 43 | C | -0,458525 |
| 19 | C | 0,416097 | 44 | C | 0,764177 |
| 20 | N | -0,752848 | 45 | O | -0,876550 |
| 21 | H | 0,027352 | 46 | H | 0,074386 |
| 22 | H | 0,106117 | 47 | H | 0,071008 |
| 23 | H | 0,102750 | 48 | H | 0,160817 |
| 24 | H | 0,085948 | 49 | H | 0,177829 |
| 25 | H | 0,089679 | 50 | H | 0,177829 |

Tabela 45 Valores de carga atômica do aduto covalente da nevirapina modificada com o fenol.

Tal como nos exemplos anteriores, o átomo de boro possui uma elevada carga positiva e os átomos de oxigênio ligantes possuem uma elevada carga negativa. Os resultados, em conjunto, sugerem que há a possibilidade de este análogo borilado da nevirapina apresentarem a capacidade de inibir a TR através da formação de um complexo estável INNTR+TR.

3. ADN e ARN Quimicamente Modificados

A compreensão do mecanismo de interação das bases do ADN e do ARN é de fundamental importância para a compreensão de atividade destes compostos, que estão envolvidos em uma série de processos de importância tanto biológica (como carcinogênese, doenças hereditárias, transcrição, tradução, etc.) quanto tecnológica (como possível nanomaterial). Há abundante descrição na literatura sobre bases quimicamente modificadas do ADN.^{63,64,65} Ácidos nucleicos boro-modificados, entretanto, têm poucas citações e foram pouco investigados quanto ao seu comportamento químico. Abaixo, demonstramos alguns estudos *ab-initio* de modificações químicas, com a substituição de átomos dos ácidos nucleicos convencionais por átomos de boro. Nosso principal objetivo com este estudo é a obtenção de informações sobre adutos covalentes de pares de bases do ADN que possam ser utilizados como nanomaterial.

3.1. Metodologia

Foram realizadas otimizações de geometria com o método *Restricted Hartree-Fock*, em nível 6-31G*, de pares Watson-Crick convencionais e quimicamente modificados. O mapa do potencial eletrostático e a distribuição de orbitais são apresentados de maneira comparativa entre o análogo e o par Watson-Crick. Os valores de cargas sobre os átomos foram obtidos pelo método ChelpG a partir da geometria otimizada. O volume de van der Waals das moléculas também é demonstrado para a visualização dos efeitos espaciais das alterações.

3.2. Resultados e Discussão

Os resultados são discutidos logo após sua apresentação.

3.2.1 Adenina Timina - Modificada

Os resultados da otimização do par Adenina - Timina modificada com o grupo difluoreto de boro são dados abaixo:

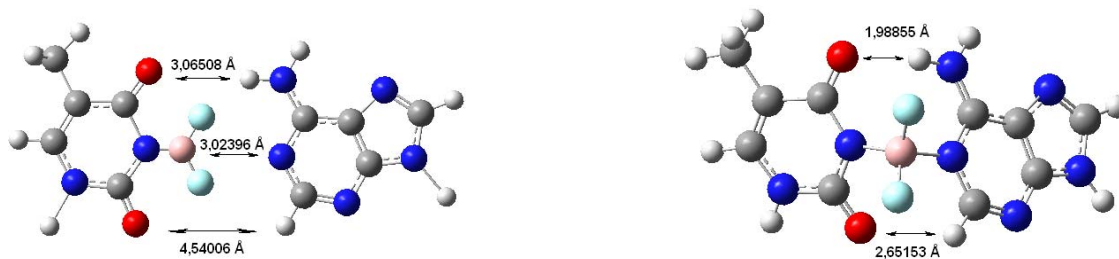
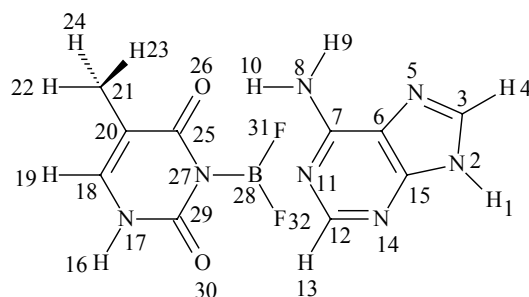


Ilustração 157 Geometria de partida e geometria otimizada do par timina-modificada e adenina



| Átomos | Distâncias inter-atômicas (em angstroms) | |
|------------------|--|---------------------|
| | Geometria de partida | Geometria Otimizada |
| H1 – N2 | 1,52032 | 0,66517 |
| N2 – C3 | 1,36998 | 1,37213 |
| C3 – H4 | 1,07969 | 1,07039 |
| C3 – N5 | 1,30006 | 1,28025 |
| N5 – C6 | 1,39481 | 1,37867 |
| C6 – C7 | 1,39999 | 1,40559 |
| C7 – N8 | 1,33930 | 1,31604 |
| N8 – H9 | 1,01000 | 0,99536 |
| N8 – N10 | 1,01031 | 1,00440 |
| C7 – N11 | 1,34007 | 1,35179 |
| N11 – C12 | 1,32996 | 1,35895 |
| C12 – H13 | 1,07930 | 1,06703 |
| C12 – N14 | 1,32235 | 1,29196 |
| N14 – C15 | 1,34994 | 1,33884 |
| C15 – C6 | 1,36313 | 1,36822 |
| C15 – N2 | 1,36415 | 1,35445 |
| H16 – N17 | 1,53032 | 0,99468 |
| N17 – C18 | 1,37007 | 1,37151 |
| C18 – H19 | 1,08009 | 1,07349 |
| C18 – C20 | 1,34031 | 1,32682 |
| C20 – C21 | 1,50045 | 1,50226 |
| C21 – H22 | 1,09050 | 1,08463 |
| C21 – H23 | 1,08986 | 1,08416 |
| C21 – H24 | 1,08927 | 1,08363 |
| C20 – C25 | 1,43934 | 1,47338 |
| C25 – O26 | 1,22963 | 1,20457 |
| C25 – N27 | 1,48283 | 1,39108 |
| N27 – B28 | 1,09066 | 1,57712 |
| B28 – F31 | 1,13961 | 1,35720 |
| B28 – F32 | 1,13971 | 1,35884 |
| N27 – C29 | 1,36908 | 1,37848 |
| C29 – O30 | 1,21983 | 1,20030 |
| C29 – N17 | 1,37992 | 1,36972 |
| B28 – N11 | 3,02396 | 1,62947 |
| O26 H10 | 3,06508 | 1,98855 |
| O30 H13 | 4,54006 | 2,65153 |

Tabela 46 Valores de Comprimentos de Ligação na Geometria de Partida e Geometria Otimizada do Aduto

A distância entre os átomos de boro e nitrogênio na geometria de partida que resultou nesta configuração é de 3,02Å. Entre estes átomos se forma uma ligação de 1,63Å de comprimento. A maioria das ligações químicas do aduto formado sofre pequena variação. A distância final entre o átomo de oxigênio nº 26 e o átomo de hidrogênio nº 10 e a distância entre o átomo de oxigênio nº 30 e o átomo de hidrogênio nº 13 indica a formação de uma ligação de hidrogênio. A formação da ligação covalente acarretou uma distorção na conformação do par. Esse efeito pode ser claramente observado quando acrescentados os volumes de van der Waals dos átomos.(figura abaixo).

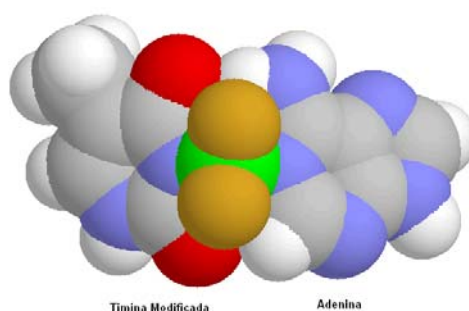


Ilustração 158 Par covalente com os volumes de van der Waals dos átomos considerados. A distorção causada pelo volume dos átomos pode ser observada nitidamente.

| Método | Entalpia de Formação em kcal/mol | |
|--------|----------------------------------|--------------|
| | AM1 | PM3 |
| | -113.2879228 | -205,9684838 |

Tabela 47 Valores de Entalpia de Formação do aduto adenina timina-modificada calculados pelo método AM1 e PM3.

Os valores de energia de formação sugerem que o par covalente deva ter relativa estabilidade.

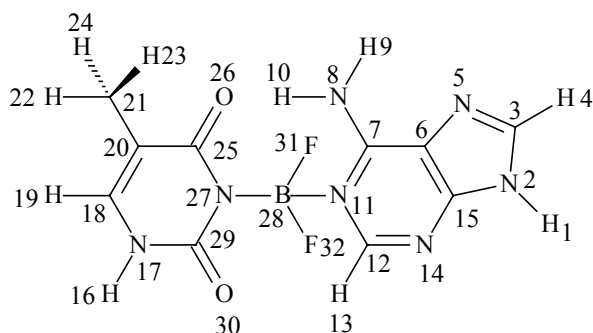


Ilustração 159 Numeração dos átomos do aduto Timina-Modificada Adenina

| Átomos | Carga A-T | Carga do aduto Início | Carga do aduto Final | Nº | Carga A-T | Carga do aduto (inicial) | Carga Final |
|--------|------------------|-----------------------|----------------------|------|-----------|--------------------------|------------------|
| 1 H | 0,393827 | 0,378852 | 0,406393 | 17 N | -0,602176 | -0,696084 | -0,577160 |
| 2 N | -0,592163 | -0,628067 | -0,601184 | 18 C | 0,057519 | 0,206518 | 0,025039 |
| 3 C | 0,362517 | 0,419565 | 0,388561 | 19 H | 0,172663 | 0,154507 | 0,175274 |
| 4 H | 0,093262 | 0,075415 | 0,096890 | 20 C | -0,217412 | -0,270163 | -0,180453 |
| 5 N | -0,591725 | -0,624001 | -0,593229 | 21 C | -0,171921 | -0,091150 | -0,185328 |
| 6 C | -0,037923 | -0,033132 | -0,048585 | 22 H | 0,055280 | 0,029381 | 0,052984 |
| 7 C | 0,723978 | 0,739261 | 0,725643 | 23 H | 0,075298 | 0,074589 | 0,088400 |
| 8 N | -0,941240 | -0,964616 | -0,900738 | 24 H | 0,075262 | 0,037354 | 0,067344 |
| 9 H | 0,414082 | 0,413657 | 0,428522 | 25 C | 0,884986 | 0,697608 | 0,776840 |
| 10 H | 0,456699 | 0,463200 | 0,463447 | 26 O | -0,657641 | -0,540545 | -0,615491 |
| 11 N | -0,724994 | -0,745121 | -0,666090 | 27 N | -0,704548 | -0,505217 | -0,618107 |
| 12 C | 0,537209 | 0,555679 | 0,583160 | 28 B | 0,331339 | 0,917681 | 0,896996 |
| 13 H | 0,091822 | 0,073326 | 0,134020 | 29 C | 0,936242 | 0,896943 | 0,878666 |
| 14 N | -0,775431 | -0,801413 | -0,766442 | 30 O | -0,663518 | -0,633689 | -0,668534 |
| 15 C | 0,648699 | 0,674739 | 0,677954 | 31 F | - | -0,338928 | -0,395099 |
| 16 H | 0,370010 | 0,393513 | 0,362601 | 32 F | - | -0,329664 | -0,412295 |

Tabela 48 Valores de cargas atômicas do par Adenina-Timina calculados pelo método ChelpG antes e depois da modificação.

A densidade de carga negativa sobre o nitrogênio da adenina diretamente envolvido na ligação com o boro, sofre uma diminuição de -0,724994 (no par adenina-timina convencional) para -0,666901, causada pelo deslocamento de densidade eletrônica para o átomo de boro. A elevada carga positiva sobre o átomo de boro demonstra o caráter retirador de elétrons por efeito indutivo dos átomos de flúor. Com exceção destes grupos, os átomos permanecem todos com uma carga relativamente similar tanto no par convencional como no covalente, sendo que no par covalente estas densidades de cargas são levemente mais positivas. Contudo, a diferença entre as cargas da adenina e

da timina modificada sofre uma variação significativa com a formação da ligação boro-nitrogênio, demonstrando uma redistribuição nas cargas dos átomos. Os átomos de flúor, por exemplo, sofrem uma elevação nos valores de carga negativa enquanto o átomo de nitrogênio nº8 sofre uma redução da mesma. O átomo de oxigênio nº 26 sofre um aumento na carga negativa indicando um aumento na interação com o átomo de hidrogênio nº10. A superfície potencial e o mapa de orbitais HOMO e LUMO do par adenina timina-modificada também revela características importantes do aduto formado. (abaixo)

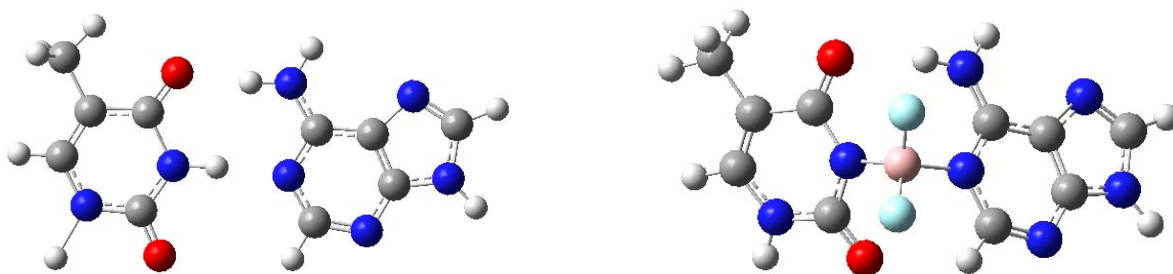


Ilustração 160 Fórmula estrutural do par Watson-Crick Timina Adenina e do par Modificado.



Ilustração 161. Mapa potencial do par Watson-crick e do par modificado.

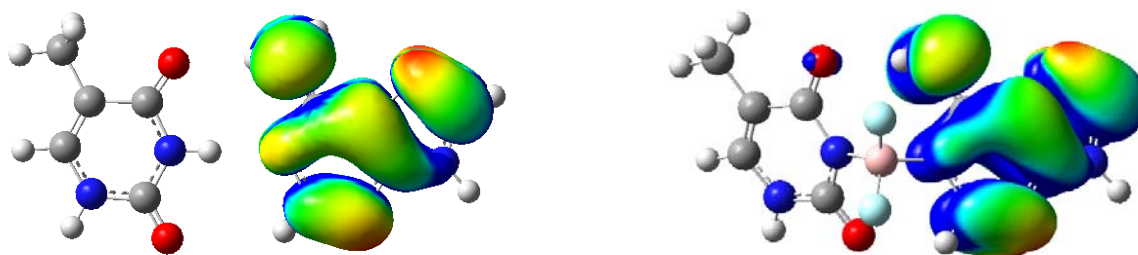


Ilustração 162 Orbital HOMO do par Watson-Crick e do par modificado.

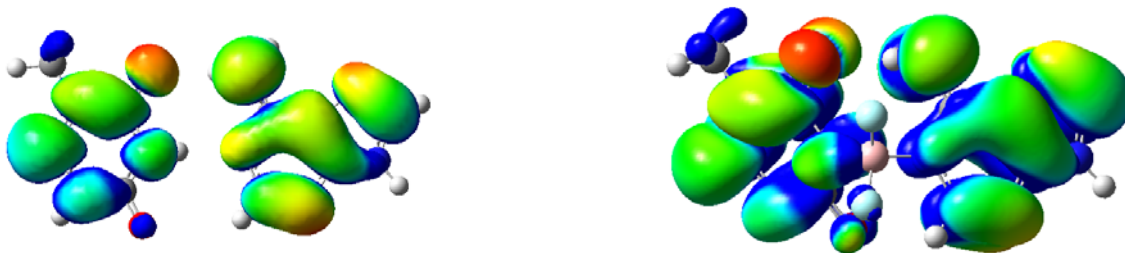


Ilustração 163 Orbital LUMO do par Watson-Crick e do par modificado

| | HOMO (e.V) | LUMO (e.V.) | ΔE (e.V.) |
|----------------------------------|------------|-------------|-------------------|
| Adenina-Timina | -0,302 | 0,115 | 0,417 |
| Adenina-Timina Modificada | -0,332 | 0,120 | 0,452 |

Tabela 49 Valores de Energia do Orbital de Fronteira HOMO e LUMO e a diferença de energia entre eles

Observe que o aduto formado concentra o orbital HOMO sobre a base adenina. Essa característica também é observada no par adenina-timina convencional. O mapa do potencial eletrostático demonstra um aumento na densidade de carga negativa sobre o conjunto como um todo no par covalente quando comparado ao par convencional.

3.2.2. Adenina Uracila-Modificada

Assim com a timina, a uracila (presente no ARN) também pode sofrer a mesma modificação com o boro. Neste caso também, observa-se a distorção da geometria com a formação da ligação covalente.

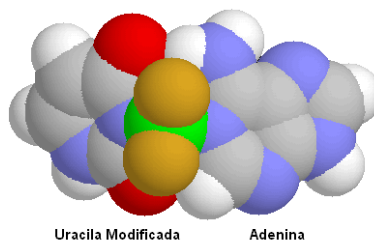


Ilustração 164 Volume de van der Waals do aduto

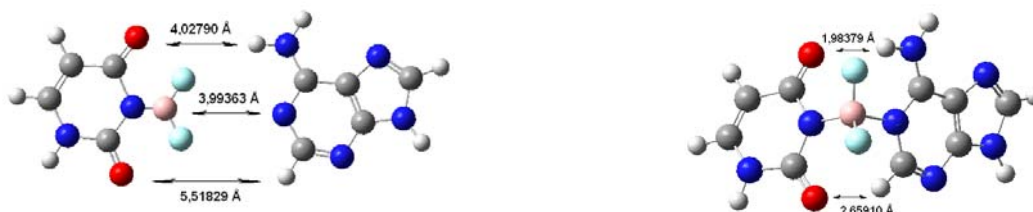
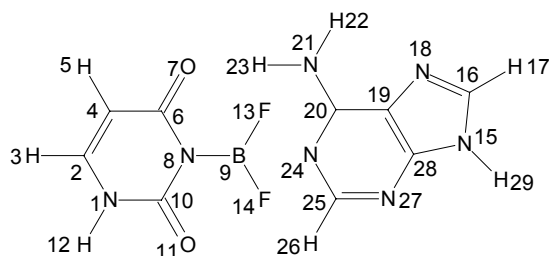


Ilustração 165 Fórmulas estruturais do par Watson-Crick Uracila Adenina e do par modificado



| Átomos | Distâncias inter-atômicas (em angstroms) | |
|-----------------|--|---------------------|
| | Geometria de partida | Geometria Otimizada |
| N1 – C2 | 1,36947 | 1,36666 |
| C2 – H3 | 1,07957 | 1,07296 |
| C2 – C4 | 1,33978 | 1,32617 |
| C4 – H5 | 1,08941 | 1,07022 |
| C4 – C6 | 1,44008 | 1,46410 |
| C6 – O7 | 1,22977 | 1,20334 |
| C6 – N8 | 1,48222 | 1,48222 |
| N8 – B9 | 1,09038 | 1,57730 |
| B9 – 13F | 1,13919 | 1,35665 |
| B9 – 14F | 1,13987 | 1,35905 |
| N8 – C10 | 1,37939 | 1,37780 |
| C10 – O11 | 1,22038 | 1,19926 |
| C10 – N1 | 1,37060 | 1,34522 |
| N1 – H12 | 1,01016 | 1,99485 |
| N15 – C16 | 1,36996 | 1,37215 |
| C16 – H17 | 1,08026 | 1,07038 |
| C16 – N18 | 1,29908 | 1,28025 |
| N18 – C19 | 1,39354 | 1,37860 |
| C19 – C20 | 1,39939 | 1,40572 |
| C20 – N21 | 1,34049 | 1,31571 |
| N21 – H22 | 1,00969 | 0,99539 |
| N21 – H23 | 1,00965 | 1,00466 |
| C20 – N24 | 1,34027 | 1,35201 |
| N24 – C25 | 1,32975 | 1,35897 |
| C25 – H26 | 1,08018 | 1,06707 |
| C25 – N27 | 1,32248 | 1,29188 |
| N27 – C28 | 1,34949 | 1,33854 |
| C28 – C19 | 1,36332 | 1,36820 |
| C28 – N15 | 1,36584 | 1,35440 |
| N15 – H29 | 1,04812 | 0,99513 |
| B9 – N24 | 3,99363 | 1,62957 |
| O7 H23 | 4,02790 | 1,98379 |
| O11 H26 | 5,51829 | 2,65910 |

Tabela 50 Valores de Comprimento de Ligação para o aduto Adenina Timina-Modificada

A distância inicial entre o átomo de boro e o átomo de nitrogênio nº24 é de cerca de 4,0 Å. Com a formação da ligação química, a maior parte dos valores de comprimentos de ligação sofre uma leve diminuição (com algumas exceções, como os valores de comprimento de ligação N18 – C19, N18 – C19, etc. que sofrem um pequeno aumento). Os valores de distância inter-atômica entre os átomos de oxigênio nº e hidrogênio nº23 (2,68Å) e entre os átomos de oxigênio nº11 e hidrogênio nº26 (2,12Å) indicam a existência de uma ligação de hidrogênio entre estes átomos.

Abaixo, demonstramos os resultados de superfície potencial e orbitais de fronteiras da espécie química em questão.



Ilustração 166 Comparação entre as superfícies potenciais do par Watson-Crick UA e do par modificado.



Ilustração 167 Comparação entre os orbitais HOMO do par Watson-Crick e do par modificado



Ilustração 168 Comparação entre os orbitais LUMO do par Watson-Crick e do par modificado

| | Energia do orbital de Fronteira (e.V.) | | |
|-----------------------------------|--|-------|------------|
| | HOMO | LUMO | ΔE |
| Adenina-Uracila | -0,302 | 0,115 | 0,417 |
| Adenina-Uracila modificada | -0,332 | 0,114 | 0,446 |

Tabela 51 Valores de Energia do Orbital HOMO e LUMO e valores de diferença de energia

Novamente, o orbital HOMO localiza-se na adenina tanto no par convencional quanto no covalente. O orbital LUMO, entretanto, sofre uma variação observável na comparação entre o par convencional e o modificado. Enquanto no par convencional está localizado na uracila, no par modificado, este orbital é observado em toda a molécula do aduto formado. As mudanças mais significativas observadas no mapa do potencial eletrostático são o aumento da densidade de carga negativa sobre a adenina e a diminuição da carga negativa sobre o N18 (ver legenda abaixo) da mesma.

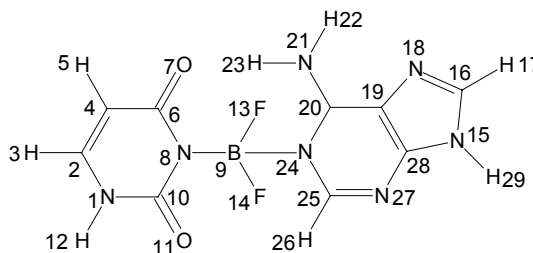


Ilustração 169 Numeração dos átomos do par uracila-modificada adenina

| Átomo | Carga A-U | Carga do aduto Início | Carga do aduto Final | Nº | Carga A-U | Carga do aduto (inicial) | Carga Final |
|-----------|------------------|-----------------------|----------------------|-----|-----------|--------------------------|-------------|
| 1N | -0,621254 | -0,592918 | -0,565814 | 16C | 0,351734 | 0,348096 | 0,370023 |
| 2C | 0,236062 | 0,237652 | 0,172637 | 17H | 0,094905 | 0,094812 | 0,101620 |
| 3H | 0,134649 | 0,142795 | 0,141801 | 18N | -0,591084 | -0,595001 | -0,583192 |
| 4C | -0,598589 | -0,572951 | -0,537694 | 19C | -0,016404 | -0,057006 | -0,057093 |
| 5H | 0,202327 | 0,198866 | 0,188937 | 20C | 0,700791 | 0,847487 | 0,742751 |
| 6C | 1,024507 | 0,778259 | 0,908912 | 21N | -0,961062 | -1,004116 | -0,943236 |
| 7O | -0,713768 | -0,557622 | -0,668317 | 22H | 0,417991 | 0,422217 | 0,438076 |
| 8N | -0,698220 | -0,375978 | -0,614659 | 23H | 0,485520 | 0,467868 | 0,490107 |
| 9H | 0,296464 | 0,780451 | 0,846841 | 24N | -0,698415 | -0,855684 | -0,652752 |
| 10C | 0,953780 | 0,788813 | 0,872932 | 25C | 0,530339 | 0,654068 | 0,582304 |
| 11O | -0,661570 | -0,596739 | -0,663230 | 26H | 0,091783 | 0,048469 | 0,132662 |
| 12H | 0,366364 | 0,377123 | 0,353550 | 27N | -0,771785 | -0,804031 | -0,766090 |
| 13F | — | -0,306455 | -0,381337 | 28C | 0,632157 | 0,600455 | 0,672725 |
| 14F | — | -0,303714 | -0,399715 | 29H | 0,389871 | 0,377583 | 0,402240 |
| 15N | -0,577093 | -0,542798 | -0,584993 | | | | |

Tabela 52 Valores de carga atômica calculada pelo método ChelpG do par adenina uracila antes e depois da modificação.

Há uma diminuição importante (de -0,713768 para -0,668865) na carga do átomo de oxigênio número 7 da uracila acompanhada por um aumento (de 0,485520 para 0,493473) no átomo de hidrogênio número 23 da adenina que contribui para um enfraquecimento da ligação de hidrogênio já que a diferença entre as cargas dos dois átomos é diminuída (de 0,228248 para 0,175603). Esses dois átomos formam uma ligação de hidrogênio que é considerada fundamental para o reconhecimento do par Watson-Crick. O enfraquecimento desta ligação ocorre pelo deslocamento de densidade eletrônica do átomo de oxigênio para o grupo borilado.

3.2.3 Citosina Guanina-Modificada

Até agora estamos estudando apenas modificações nas bases pirimidínicas do ADN. As substituições foram realizadas nas bases pirimidínicas porque nestas se encontram os átomos de hidrogênio mais próximos do nitrogênio nucleofílico das bases purínicas. Entretanto, no par citosina-guanina, o átomo de hidrogênio envolvidos nas ligações de hidrogênio mais próximo ao nitrogênio nucleofílico encontra-se na guanina, uma base purínica das bases purínicas. Isso nos permitiu avaliar o comportamento da substituição por boro em uma base purínica e observar se há reprodutibilidade dos resultados anteriores, obtidos nas bases pirimidínicas. Esta comparação é importante porque as bases pirimidínicas possuem estruturas eletrônicas distintas das bases purínicas. Demonstramos abaixo o resultado do estudo:

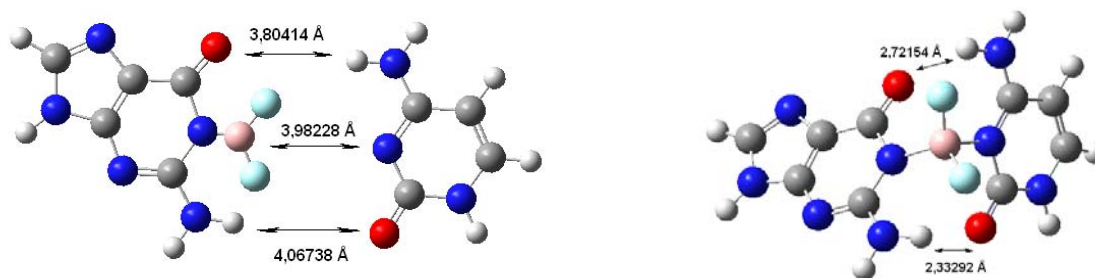
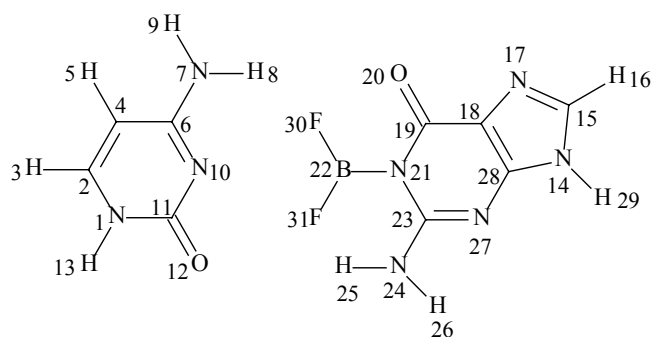


Ilustração 170 Fórmulas estruturais do par Watson Crick citosina-guanina e do par modificado



| Átomos | Distâncias Inter-atômicas (em angstroms) | |
|------------------|--|---------------------|
| | Geometria de Partida | Geometria Otimizada |
| N1 – C2 | 1,35943 | 1,34900 |
| C2 – H3 | 1,08040 | 1,07265 |
| C2 – C4 | 1,36073 | 1,33355 |
| C4 – H5 | 1,09002 | 1,07048 |
| C4 – C6 | 1,43024 | 1,44254 |
| C6 – N7 | 1,32038 | 1,31088 |
| N7 – H8 | 1,00930 | 0,99370 |
| N7 – H9 | 1,01042 | 0,99844 |
| C6 – N10 | 1,34947 | 1,33930 |
| N10 – C11 | 1,35971 | 1,38558 |
| C11 – O12 | 1,23948 | 1,19117 |
| C11 – N1 | 1,38858 | 1,38341 |
| N1 – H13 | 1,00982 | 0,99623 |
| N14 – C15 | 1,38046 | 1,37762 |
| C15 – N17 | 1,31006 | 1,27648 |
| C15 – H16 | 1,07917 | 1,07086 |
| N17 – C18 | 1,39014 | 1,38388 |
| C18 – C19 | 1,41995 | 1,42485 |
| C19 – O20 | 1,22995 | 1,20898 |
| C19 – N21 | 1,39979 | 1,41626 |
| N21 – B22 | 1,00024 | 1,55982 |
| B22 – F30 | 1,14035 | 1,36817 |
| B22 – F31 | 1,13958 | 1,36444 |
| N21 – C23 | 1,38105 | 1,37576 |
| C23 – N24 | 1,33928 | 1,34837 |
| N24 – H26 | 1,00994 | 0,99405 |
| N24 – H25 | 1,01012 | 0,99144 |
| C23 – N27 | 1,33021 | 1,30559 |
| N27 – C28 | 1,35998 | 1,33882 |
| C28 – C18 | 1,37031 | 1,36378 |
| C28 – N14 | 1,37331 | 1,35484 |
| N14 – H29 | 1,00999 | 0,99376 |
| N10 – B22 | 3,98228 | 1,66417 |
| O12 – H25 | 3,80414 | 2,72154 |
| H9 – O20 | 4,06738 | 2,33292 |

Tabela 53 Valores de Comprimento de Ligação na Geometria inicial e otimizada do Aduto

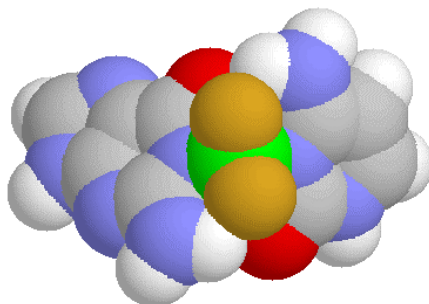


Ilustração 171 Volume de van der Waals do par covalente.

Assim com nos casos anteriores, o comprimento das ligações químicas sofre uma leve redução no aduto em relação às espécies não ligadas. A distância entre os átomos de oxigênio nº12 e de hidrogênio nº25 (de 2,72154Å) demonstra o efeito causado pela distorção que mantém estes átomos a uma significativa distância. Os valores de entalpia de formação sofrem uma variação elevada com o método utilizado.

| Método | Entalpia de Formação em kcal/mol | |
|--------|----------------------------------|--------------|
| | AM1 | PM3 |
| | -109,8396778 | -204,3392048 |

Tabela 54 Valores de Entalpia para o aduto citosina-guanina

A distorção observada neste caso é superior ao dos casos anteriores devido à presença de dois grupos amino (um em cada molécula) que torna o impedimento espacial presente neste par modificado maior do que nos casos anteriores o que causa a distorção do par com o deslocamento do grupo difluoreto de boro.



Ilustração 172 Comparação entre as superfícies potenciais do par Watson-Crick C-G convencional e do modificado



Ilustração 173 Comparação entre os orbitais HOMO do par Watson-Crick Citosina-Guanina convencional e do modificado.



Ilustração 174 Comparação entre os orbitais LUMO do par Watson-Crick Citosina-Guanina convencional e do modificado.

| | HOMO | LUMO | ΔE |
|------------------------------------|--------|-------|------------|
| Citosina-Guanina | -0,275 | 0,077 | 0,352 |
| Citosina-Guanina Modificada | -0,275 | 0,106 | 0,381 |

Tabela 55 Valores de energia dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO e valor da diferença de energia entre eles

Tal como nos pares de bases estudados anteriormente, o orbital HOMO localiza-se preferencialmente na base purínica, neste caso a guanina. O orbital LUMO distribui-se sobre ambas as moléculas. A distribuição de cargas mantém-se relativamente homogênea sobre o par sem nenhuma variação pronunciada. Neste par, testamos a modificação na base purínica. A alteração (a base purínica e não a pirimidínica) demonstra que, também neste caso, a capacidade do análogo modificado em efetivar a ligação e a formação do par covalente é mantida. Diferente dos pares Adenina-Timina e Adenina-Uracila, o par citosina-guanina forma três ligações de hidrogênio o que o torna mais estável do que os outros dois pares Watson-Crick (que formam apenas duas

ligações). A distribuição de cargas revela a densidade de carga negativa sobre os átomos de boro e flúor.

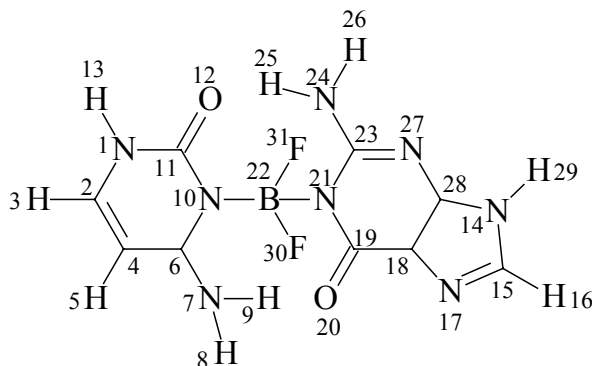


Ilustração 175 Numeração dos átomos do par Citosina e Guanina Modificada

| Átomo | Carga C-G | Carga do Aduto (inicial) | Carga do Aduto (Final) | Átomo | Carga C-G | Carga do Aduto (inicial) | Carga do Aduto (Final) |
|-------|-----------|--------------------------|------------------------|-------|-----------|--------------------------|------------------------|
| 1 N | -0,717341 | -0,756794 | -0,732254 | 17 N | -0,546721 | -0,548006 | -0,546104 |
| 2 C | 0,331941 | 0,367028 | 0,365684 | 18 C | -0,069559 | -0,091040 | -0,068344 |
| 3 H | 0,127013 | 0,118388 | 0,132321 | 19 C | 0,839325 | 0,675015 | 0,793275 |
| 4 C | -0,747162 | -0,774238 | -0,711376 | 20 O | -0,690389 | -0,537088 | -0,690647 |
| 5 H | 0,223576 | 0,214058 | 0,217326 | 21 N | -0,996353 | -0,749131 | -0,876194 |
| 6 C | 1,286593 | 1,257969 | 1,192634 | 22 H | 0,516760 | 1,271855 | 1,177385 (B) |
| 7 N | -1,286020 | -1,293689 | -1,157518 | 23 C | 1,168002 | 0,973046 | 1,075464 |
| 8 H | 0,494051 | 0,495210 | 0,480800 | 24 N | -1,222662 | -1,107102 | -1,070731 |
| 9 H | 0,595128 | 0,590114 | 0,579115 | 25 H | 0,589084 | 0,582650 | 0,521191 |
| 10 N | -1,062788 | -0,992173 | -0,868690 | 26 H | 0,469334 | 0,412968 | 0,410114 |
| 11 C | 1,161564 | 1,135079 | 1,112787 | 27 N | -0,846018 | -0,792066 | -0,824706 |
| 12 O | -0,795807 | -0,743067 | -0,705249 | 28 C | 0,534517 | 0,542084 | 0,502263 |
| 13 H | 0,392449 | 0,394778 | 0,402412 | 29 H | 0,372716 | 0,384815 | 0,363814 |
| 14 N | -0,503737 | -0,514291 | -0,481264 | 30 F | — | -0,455527 | -0,473594 |
| 15 C | 0,288685 | 0,305721 | 0,278254 | 31 F | — | -0,463483 | -0,490081 |
| 16 H | 0,093816 | 0,096917 | 0,091914 | — | — | — | — |

Tabela 56 Valores de carga sobre os átomos calculados pelo método ChelpG antes e depois da modificação.

O átomo de nitrogênio que participa da ligação com o boro sofre uma redução no valor da carga negativa bem como outros átomos de nitrogênio próximos (como os átomos nº 24 e 27) enquanto os átomos de hidrogênio sofrem um aumento no valor de

carga positiva. Com exceção destas alterações causadas pela formação da ligação boro-nitrogênio, as outras variações de carga observadas são relativamente pequenas.

4. Ácido Valpróico e Ácido Salicílico

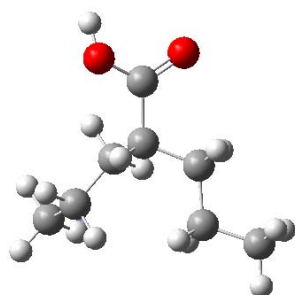
Os resultados acima demonstram um amplo potencial de aplicação farmacológica para compostos de boro. Fizemos também uma breve investigação do análogo borônico do ácido valpróico e do ácido salicílico. Os resultados são apresentados a seguir.

4.1 Metodologia

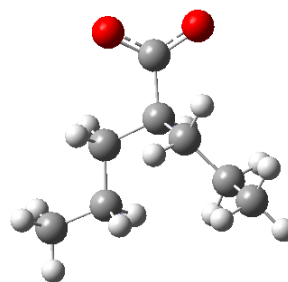
Realizamos um breve estudo comparativo entre as propriedades do ácido valpróico e do ácido borônico análogo. Foram calculadas propriedades como energia, distribuição de cargas, mapa do potencial eletrostático por meio de cálculo mecânico quântico *ab-initio* utilizando-se o método Hartree-Fock com as funções de base 6-31G*.

4.2 Ácido Valpróico

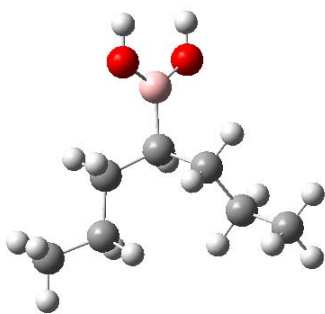
Investigações recentes já demonstraram a capacidade do ácido 2-propilpentanóico (conhecido como ácido valpróico) em reduzir a carga viral latente do HIV-1 em pacientes soropositivos e em inibir crescimento de tumores por meio da indução da morte celular programada de células tumorais e do estímulo à diferenciação celular.^{31,78} Todas estas características levaram a um interesse crescente na pesquisa deste fármaco. Um dos objetivos do trabalho foi a avaliação de um análogo borônico deste fármaco.



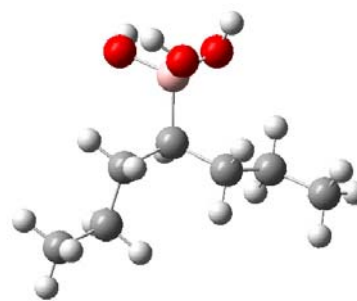
Ácido 2-propilpentanóico
(ácido valpróico)



2-propilpentanoato
(valproato)



Ácido 4-heptil-borônico



4-heptil-boronato

Ilustração 176 Fórmulas estruturais das moléculas do ácido valpróico e do análogo borilado com seus respectivos íons

De fato, alguns análogos do valproato já têm sido testados com êxito no estímulo a diferenciação de células cancerosas.⁷⁸

4.3 Resultados

Abaixo demonstramos os valores de cargas atômicas e o mapa do potencial eletrostático para as moléculas estudadas

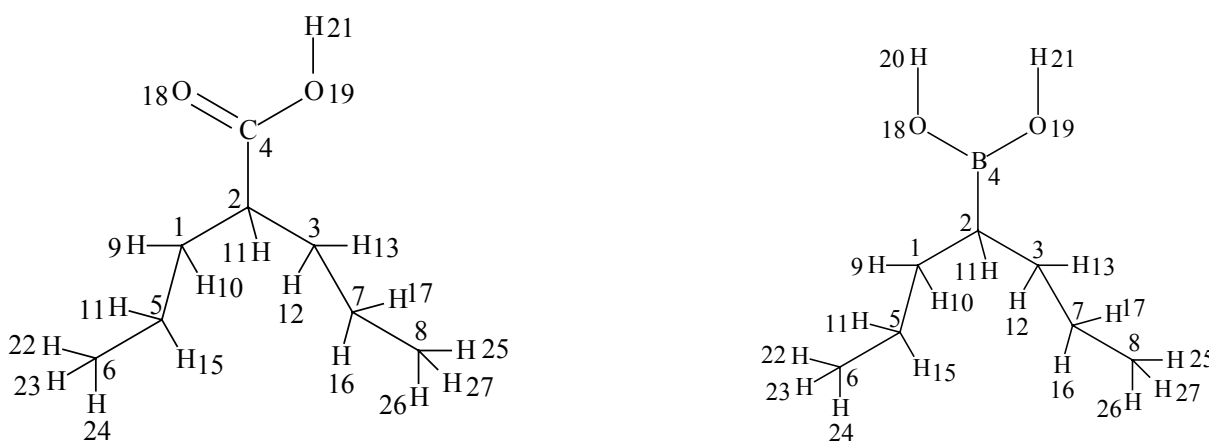


Ilustração 177 Numeração dos átomos do ácido valpróico e do ácido análogo borilado.

| Ácido Valpróico | | | Análogo Borilado | | |
|-----------------|-------|-----------|------------------|-------|-----------|
| Número | Átomo | Carga | Número | Átomo | Carga |
| 1 | C | -0,156329 | 1 | C | -0,089897 |
| 2 | C | 0,022486 | 2 | C | -0,004644 |
| 3 | C | -0,064783 | 3 | C | -0,034873 |
| 4 | C | 0,753812 | 4 | B | 0,839633 |
| 5 | C | 0,253276 | 5 | C | 0,225564 |
| 6 | C | -0,298122 | 6 | C | -0,308519 |
| 7 | C | 0,298556 | 7 | C | 0,286936 |
| 8 | C | -0,284137 | 8 | C | -0,263050 |
| 9 | H | 0,033613 | 9 | H | -0,003904 |
| 10 | H | 0,040577 | 10 | H | 0,027014 |
| 11 | H | 0,008097 | 11 | H | -0,040017 |
| 12 | H | 0,008380 | 12 | H | -0,014412 |
| 13 | H | 0,011531 | 13 | H | -0,019899 |
| 14 | H | -0,024224 | 14 | H | -0,021330 |
| 15 | H | -0,042470 | 15 | H | -0,038329 |
| 16 | H | -0,050197 | 16 | H | -0,052363 |
| 17 | H | -0,082785 | 17 | H | -0,086138 |
| 18 | O | -0,633558 | 18 | O | -0,832370 |
| 19 | O | -0,704417 | 19 | O | -0,823019 |
| 20 | H | — | 20 | H | 0,455946 |
| 21 | H | 0,464360 | 21 | H | 0,449934 |
| 22 | H | 0,071836 | 22 | H | 0,070775 |
| 23 | H | 0,068055 | 23 | H | 0,063199 |
| 24 | H | 0,057475 | 24 | H | 0,059842 |
| 25 | H | 0,061379 | 25 | H | 0,054070 |
| 26 | H | 0,056997 | 26 | H | 0,048095 |
| 27 | H | 0,062088 | 27 | H | 0,051755 |

Tabela 57 Valores de cargas atômicas para o ácido valpróico e o análogo borilado

De uma maneira geral, a substituição do grupo carboxila pelo grupo di-hidroxi-borano causa um aumento na densidade de carga positiva sobre a molécula, isto é, as cargas pontuais sobre os átomos tornam-se mais positivas. Entretanto, o carbono C2 sofre uma diminuição na carga positiva, chegando inclusive a uma inversão de carga, ou seja, assume uma carga levemente negativa, embora bem pequena. Este resultado demonstra algumas das propriedades singulares do grupo borilado e precisa ser melhor investigado. Os átomos de oxigênio bem como muitos dos átomos de hidrogênio sofrem um aumento na densidade negativa incluindo os átomos de hidrogênio ligados aos átomos de oxigênio do grupo di-hidroxi-borano.

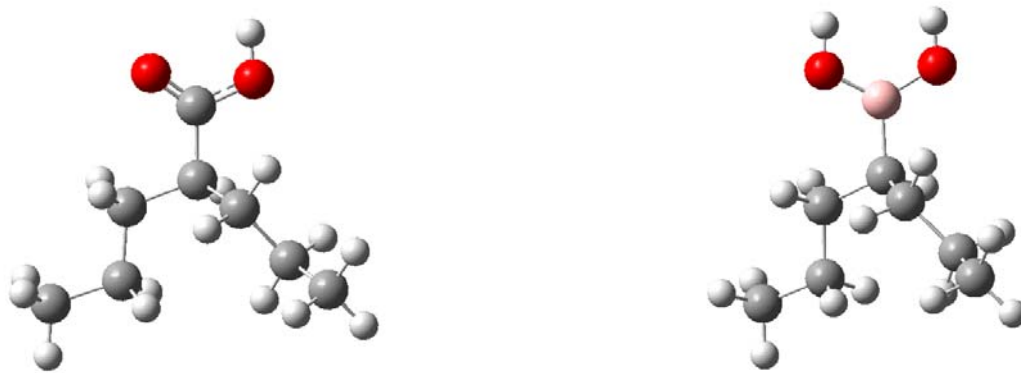


Ilustração 178 Fórmulas estruturais do ácido valpróico e do análogo borilado (ácido 4-heptilborônico).



Ilustração 179 Mapa do potencial eletrostático do ácido valpróico (à esquerda) e do análogo borilado (à direita). A cor azul indica densidade de carga positiva e a vermelha densidade de carga negativa

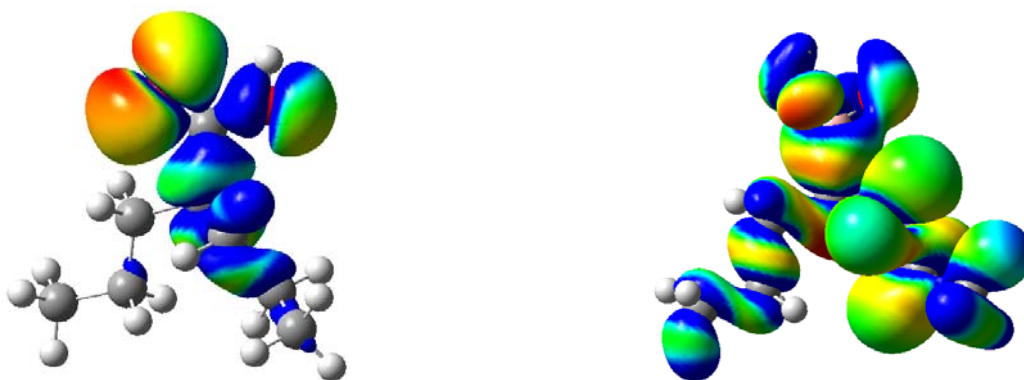


Ilustração 180 Distribuição do orbital HOMO do ácido valpróico e do análogo borilado

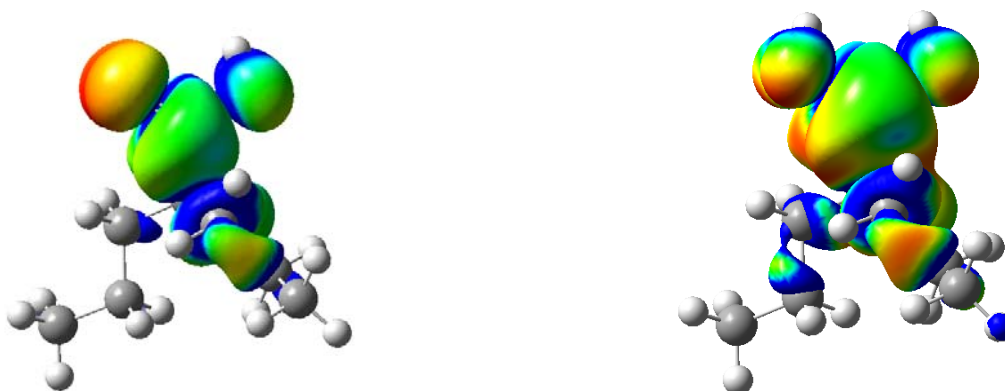


Ilustração 181 Distribuição de orbitais LUMO do ácido valpróico e do análogo borilado

O mapa do potencial eletrostático demonstra a elevada densidade de carga positiva sobre os átomos de hidrogênio do análogo em relação ao ácido valpróico convencional. A distribuição do orbital HOMO mostra uma significativa mudança, sendo que, na molécula borilada, este orbital se distribui por toda a molécula. Esta variação afeta de maneira importante à reatividade química deste composto uma vez que implica numa interação maior com centros positivos presentes em proteínas. O orbital LUMO mostra variação no seu mapa sobre o átomo de boro (maior do que no átomo de carbono na posição correspondente do ácido valpróico) o que também indica uma alteração importante na forma como esta substância interage, pois favorece a interação com centros negativos.

Para descrever melhor estes compostos analisamos também as formas iônicas (isto é, o valproato e o boronato) já que em pH fisiológico é provável que estas substâncias se apresentem nesta forma.

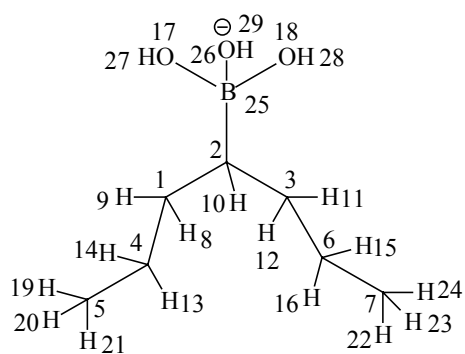
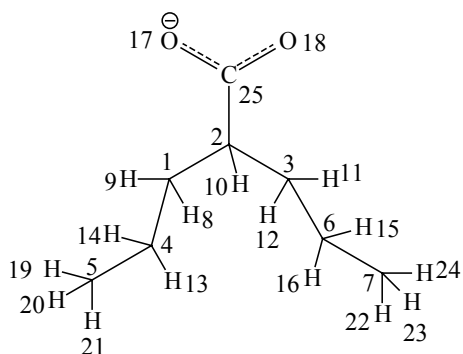


Ilustração 182 Numeração dos átomos do valproato e do análogo borilado

| Valproato | | | Boronato | | |
|-----------|-------|-----------|----------|-------|-----------|
| Número | Átomo | Carga | Número | Átomo | Carga |
| 1 | C | 0,042664 | 1 | C | -0,062540 |
| 2 | C | -0,056790 | 2 | C | -0,025656 |
| 3 | C | -0,072677 | 3 | C | -0,060663 |
| 4 | C | 0,178557 | 4 | C | 0,190935 |
| 5 | C | -0,226672 | 5 | C | -0,186138 |
| 6 | C | 0,242146 | 6 | C | 0,269180 |
| 7 | C | -0,192873 | 7 | C | -0,243050 |
| 8 | H | 0,004299 | 8 | H | 0,021824 |
| 9 | H | -0,034376 | 9 | H | -0,022490 |
| 10 | H | -0,034145 | 10 | H | -0,083206 |
| 11 | H | -0,035786 | 11 | H | -0,046585 |
| 12 | H | 0,017331 | 12 | H | 0,012034 |
| 13 | H | -0,046846 | 13 | H | -0,048723 |
| 14 | H | -0,043932 | 14 | H | -0,057042 |
| 15 | H | -0,023440 | 15 | H | -0,027548 |
| 16 | H | -0,079150 | 16 | H | -0,089407 |
| 17 | O | -0,840886 | 17 | O | -0,965947 |
| 18 | O | -0,811415 | 18 | O | -0,949838 |
| 19 | H | 0,041668 | 19 | H | 0,024604 |
| 20 | H | 0,034179 | 20 | H | 0,024847 |
| 21 | H | 0,022864 | 21 | H | 0,004835 |
| 22 | H | 0,012513 | 22 | H | 0,023820 |
| 23 | H | 0,033648 | 23 | H | 0,034994 |
| 24 | H | 0,010410 | 24 | H | 0,016285 |
| 25 | C | 0,858710 | 25 | B | 0,997983 |
| — | — | — | 26 | O | -0,957179 |
| — | — | — | 27 | H | 0,410761 |
| — | — | — | 28 | H | 0,400999 |

Tabela 58 Valores de cargas atômicas para o valproato e para o boronato.

Novamente, de maneira geral, os átomos sofrem um leve aumento na densidade de carga positiva ou diminuição na carga negativa com algumas exceções (como o átomo 1). Os átomos de oxigênio também sofrem um aumento na carga negativa no análogo borilado e os átomos de hidrogênio da forma aniônica do composto borilado também possuem uma carga significativamente positiva o que implica em capacidade de formação de ligações de hidrogênio.

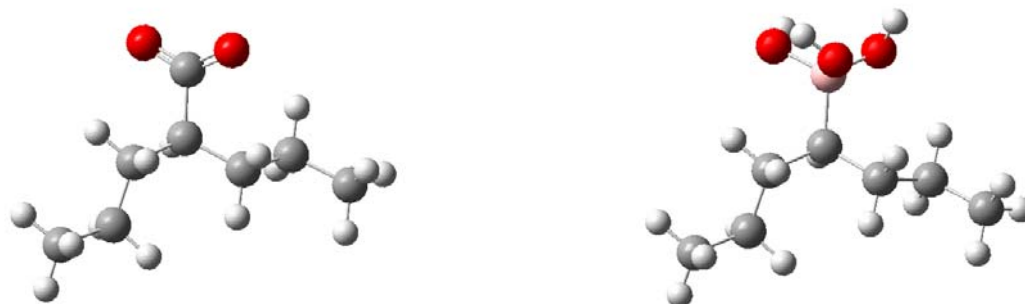


Ilustração 183 Fórmulas estruturais do valproato (à esquerda) e do análogo borilado (à direita).



Ilustração 184 Comparação entre o mapa potencial do valproato (à esquerda) e do boronato (à direita)

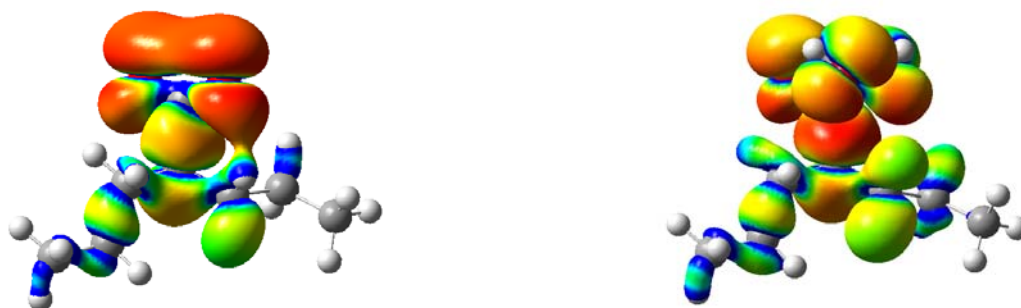


Ilustração 185 Comparação entre os orbitais HOMO do valproato e do boronato

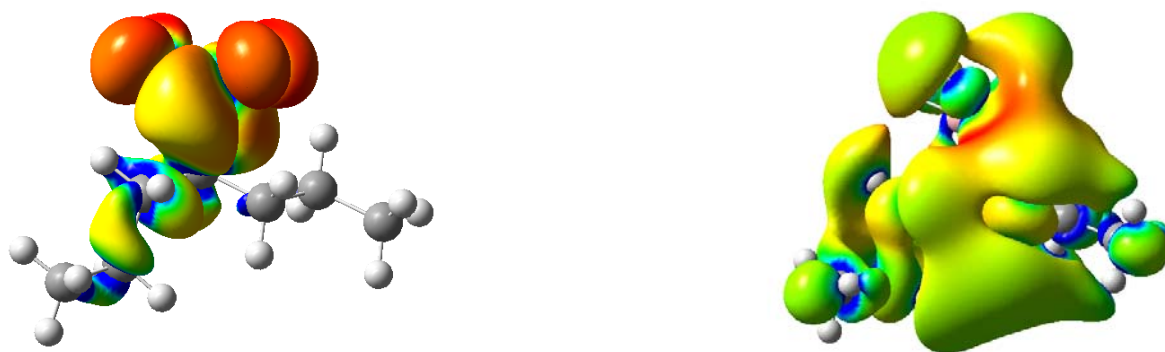


Ilustração 186 Comparação entre os orbitais LUMO do valproato e do boronato

| Molécula | Energia dos orbitais de fronteira (e.V) | | | Entalpia de Formação (kcal/mol) |
|-------------------------|---|-------|------------|---------------------------------|
| | HOMO | LUMO | ΔE | PM3 |
| Ácido valpróico | -0,429 | 0,197 | 0,626 | -124,4328461 |
| Ácido 4-heptil-borônico | -0,405 | 0,191 | 0,596 | -195,7517584 |
| Valproato | -0,174 | 0,346 | 0,520 | -293,8509216 |
| Boronato | -0,178 | 0,359 | 0,537 | -145,2667999 |

Tabela 59 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira e de Energia de Formação das estruturas estudadas

O mapa do potencial eletrostático dos ânions mostra muita similaridade entre estas duas espécies químicas com uma diferença na distribuição da densidade negativa que, devido à presença dos átomos de hidrogênio no análogo borilado, gera uma densidade de carga levemente positiva na extremidade mais negativa da estrutura. O orbital HOMO apresenta uma visível diferença, tendo uma larga contribuição sobre os átomos de oxigênio do valproato e uma outra contribuição importante no carbono alfa carboxílico. Já na molécula do boronato, o orbital HOMO distribui-se entre os átomos de oxigênios sem ter, entretanto, contribuição importante sobre os átomos de hidrogênio aos quais estes átomos de oxigênio estão ligados. O orbital LUMO mostra uma grande diferença entre as duas moléculas. Conquanto na molécula do valproato distribua-se preferencialmente sobre os átomos de carbono carboxílico e alfa-carboxílico, na molécula do boronato, este orbital apresenta uma distribuição sobre quase todos os átomos do ânion com uma importante contribuição sobre os átomos de carbono. O valor de energia do orbital LUMO

é maior no boronato do que no carboxilato. Os valores de energia total e momento de dipolo são dados abaixo

| Molécula | Energia total (Hartree) | Dipolo total (Debye) |
|------------------------------|-------------------------|----------------------|
| Ácido valpróico | -462,0127435 | 1,8468 |
| Ácido “borovalpróico” | -449,4942735 | 2,6789 |
| Valproato | -461,4374141 | 9,4393 |
| Boronato | -524,9482065 | 3,7447 |

Tabela 60 Valores de energia e momento de dipolo obtido a partir das otimizações HF/6-31G* das espécies químicas estudadas.

4.4 Ácido Salicílico

A aspirina (ácido acetil-salicílico) foi sintetizada por Felix Hoffmann em 1897 e comercializada pela recém-criada Companhia Bayer ⁷⁹. Atualmente é largamente utilizada em terapia anti-plaquetária de doenças cardiovasculares ⁸⁰. Alguns estudos recentes, entretanto, demonstraram o desenvolvimento de resistência à aspirina no tratamento de alguns pacientes. ^{81,82}

4.5 Resultados

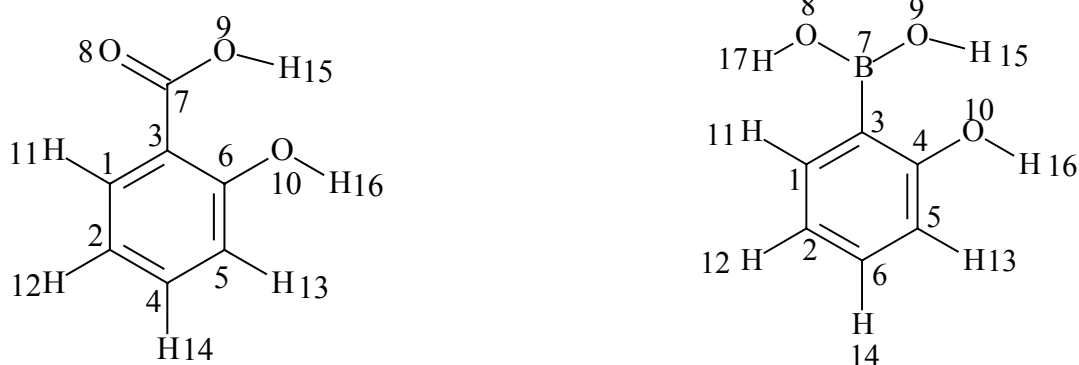


Ilustração 187 Numeração dos átomos do ácido salicílico e do análogo borilado

| Ácido Salicílico | | | Análogo Borilado | | |
|------------------|-------|-----------|------------------|-------|-----------|
| Número | Átomo | Carga | Número | Átomo | Carga |
| 1 | C | 0,037851 | 1 | C | 0,019947 |
| 2 | C | -0,228649 | 2 | C | -0,244186 |
| 3 | C | -0,353789 | 3 | C | -0,459653 |
| 4 | C | 0,551493 | 4 | C | 0,550480 |
| 5 | C | -0,389974 | 5 | C | -0,385928 |
| 6 | C | 0,029897 | 6 | C | 0,044244 |
| 7 | C | 0,893320 | 7 | B | 0,892976 |
| 8 | O | -0,587368 | 8 | O | -0,731245 |
| 9 | O | -0,705413 | 9 | O | -0,747028 |
| 10 | O | -0,785607 | 10 | O | -0,735263 |
| 11 | H | 0,113927 | 11 | H | 0,085564 |
| 12 | H | 0,129441 | 12 | H | 0,126085 |
| 13 | H | 0,147954 | 13 | H | 0,141326 |
| 14 | H | 0,116209 | 14 | H | 0,102179 |
| 15 | H | 0,517804 | 15 | H | 0,452672 |
| 16 | H | 0,512905 | 16 | H | 0,480753 |
| 17 | — | — | 17 | H | 0,407078 |

Tabela 61 Valores de cargas atômicas calculadas para o ácido salicílico e para o análogo borilado.

A substituição da carboxila pelo grupo di-hidroxi-borano causa um efeito bem heterogêneo nas cargas atômicas dos átomos de carbono. Os átomos de carbono de 1 a 4 sofrem uma leve redução de carga (aumento na densidade negativa) e o átomo de carbono número 6 sofre uma significativa elevação também na carga positiva. Os átomos de hidrogênio também sofrem uma redução no valor de carga positiva. Os átomos de oxigênio ligados ao átomo de boro seguem a tendência das outras espécies boriladas estudadas sofrendo um aumento no valor de carga negativa. O átomo de oxigênio da hidroxila, entretanto, sofre uma redução de carga negativa.

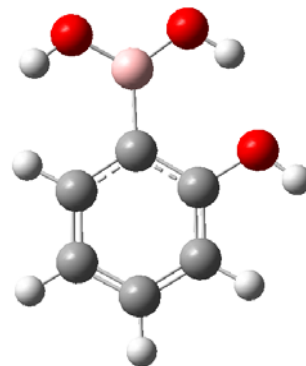
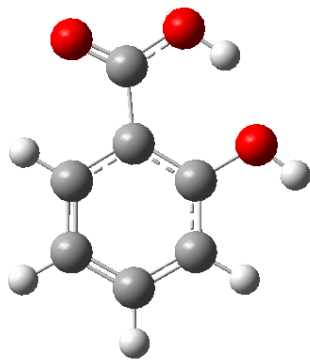


Ilustração 188 Fórmulas estruturais do ácido salicílico (à esquerda) e do análogo borilado (ácido 2-hidroxi-fenil-borônico, à direita).

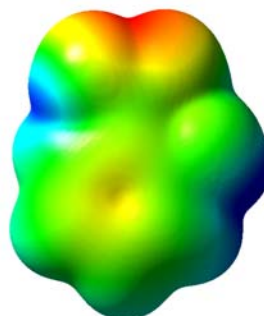
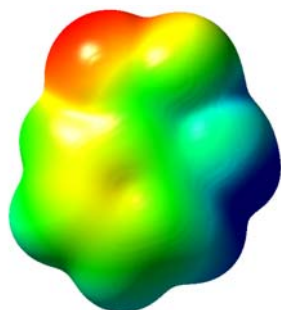


Ilustração 189 Comparação entre os mapas dos potenciais eletrostáticos do ácido salicílico e do análogo borilado.

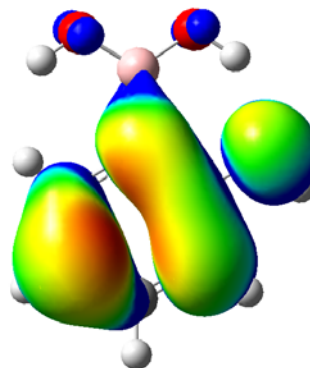
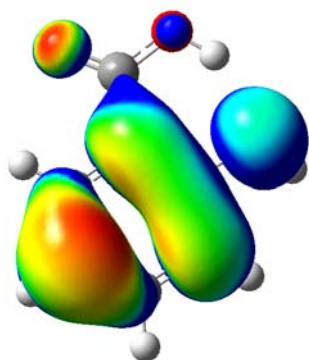


Ilustração 190 Comparação entre os orbitais HOMO do ácido salicílico e do análogo borilado.

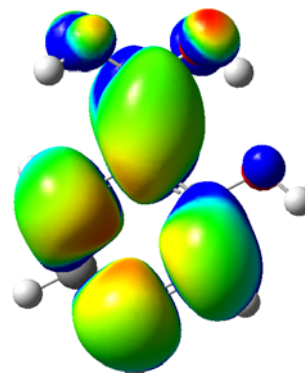
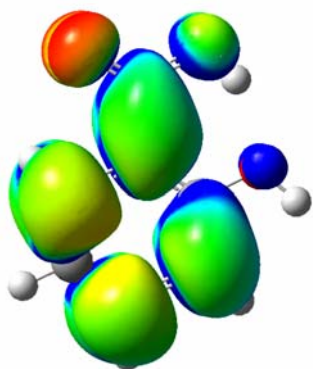


Ilustração 191 Comparação entre os orbitais LUMO do ácido salicílico e do análogo borilado.

O mapa do potencial eletrostático não demonstra nenhuma mudança substancial quando comparado ao análogo borilado. Há um aumento na densidade de carga positiva sobre os átomos de hidrogênio das hidroxilas ligadas ao átomo de boro. Isso indica a formação da ligação de hidrogênio intramolecular que confere a geometria característica dos átomos de hidrogênio do grupo di-hidroxi-borano. Os orbitais HOMO não sofrem grande variação também tendo uma leve diminuição sobre um dos átomos de oxigênio ligado ao boro no análogo borilado em relação ao átomo de oxigênio da carboxila. Os orbitais LUMO demonstram essencialmente a mesma distribuição em ambas às moléculas.

Abaixo avaliamos as formas aniônicas correspondentes às espécies químicas estudadas acima.

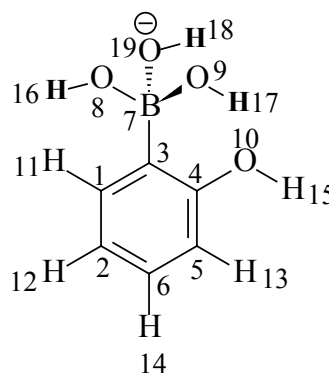
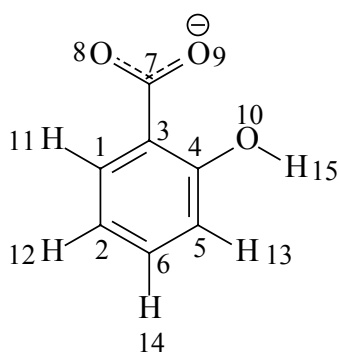


Ilustração 192 Numeração dos átomos do íon salicilato e do análogo boronato (2-hidroxi-boronato)

| Salicilato | | | 2-hidroxi-boronato | | |
|------------|-------|-----------|--------------------|-------|-----------|
| Número | Átomo | Carga | Número | Átomo | Carga |
| 1 | C | -0,064613 | 1 | C | -0,009706 |
| 2 | C | -0,245388 | 2 | C | -0,259486 |
| 3 | C | -0,172824 | 3 | C | -0,298198 |
| 4 | C | 0,438667 | 4 | C | 0,496857 |
| 5 | C | -0,395742 | 5 | C | -0,404244 |
| 6 | C | -0,027680 | 6 | C | -0,052094 |
| 7 | C | 0,919660 | 7 | B | 1,076776 |
| 8 | O | -0,843132 | 8 | O | -0,901883 |
| 9 | O | -0,802200 | 9 | O | -1,002145 |
| 10 | O | -0,624152 | 10 | O | -0,734809 |
| 11 | H | 0,118380 | 11 | H | 0,065523 |
| 12 | H | 0,095151 | 12 | H | 0,091729 |
| 13 | H | 0,117653 | 13 | H | 0,109748 |
| 14 | H | 0,076373 | 14 | H | 0,075013 |
| 15 | H | 0,409848 | 15 | H | 0,444296 |
| 16 | — | — | 16 | H | 0,444296 |
| 17 | — | — | 17 | H | 0,435859 |
| 18 | — | — | 18 | H | 0,381313 |
| 19 | — | — | 19 | O | -0,903443 |

Tabela 62 Valores das cargas atômicas calculados para o salicilato e o boronato correspondente.

Novamente, a substituição afeta de maneira heterogênea a distribuição de cargas sobre os átomos de carbono. Os átomos 1, 2, 3, 5 e 6 têm uma aumento na carga negativa enquanto o átomo 4 apresenta um aumento na carga positiva. O átomo de boro apresenta uma carga positiva significativamente maior do que a carga sobre o átomo de carbono na posição correspondente do ânion salicilato. Os átomos de oxigênio apresentam um aumento na carga negativa (incluindo o oxigênio fenólico) e o átomo de oxigênio excedente na molécula do boronato apresenta uma carga comparável à dos

outros átomos de oxigênio presentes. Os átomos de hidrogênio sofrem uma diminuição na carga positiva, com exceção do hidrogênio fenólico que sofre um aumento nesta carga. Os átomos de hidrogênio do boronato (ausentes no salicilato) apresentam cargas tão elevadas quanto à do átomo de hidrogênio fenólico. Tal valor de carga sugere que esta espécie química poderia formar ligações de hidrogênio mais efetivas com as proteínas alvo do que o salicilato, tanto pela elevação da carga do hidrogênio fenólico quanto pela presença de mais átomos de hidrogênio passíveis de participar de tais interações.



Ilustração 193 Fórmulas estruturais do íon salicilato (à esquerda) e do análogo borilado (à direita).



Ilustração 194 Comparação entre os mapas do potencial eletrostático do íon salicilato e do análogo boronato.

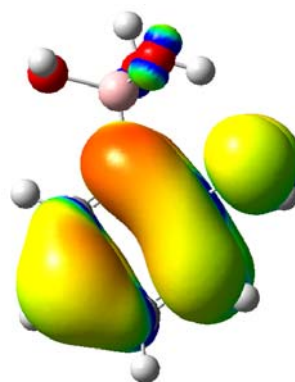
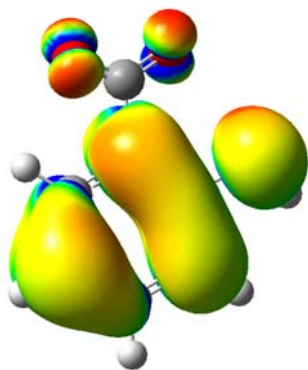


Ilustração 195 Comparação entre o orbital HOMO do íon salicilato e do análogo boronato.

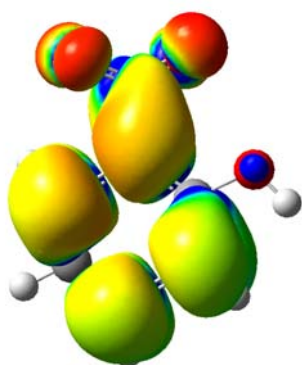


Ilustração 196 Comparação entre o orbital LUMO do íon salicilato e do análogo boronato.

| Molécula | Energia dos orbitais de fronteira (e.V) | | Entalpia de Formação (kcal/mol) |
|--------------------------|---|-------|---------------------------------|
| | HOMO | LUMO | |
| Ácido Salicílico | -0,340 | 0,092 | -103,8406219 |
| Ácido 2-hidroxi-boronato | -0,324 | 0,110 | -124,5066528 |
| Salicilato | -0,168 | 0,274 | -176,7219391 |
| Boronato | -0,151 | 0,302 | -277,4490356 |

Tabela 63 Valores de Energia dos Orbitais de Fronteira e de Energia de Formação

| Molécula | Energia total (Hartree) | Dipolo total (Debye) |
|---------------------------------|-------------------------|----------------------|
| Ácido Salicílico | -493,1726171 | 6,9996 |
| Ácido 2-hidroxi-boronato | -480,6714882 | 5,1542 |
| Salicilato | -492,5922399 | 10,8231 |
| Boronato | -556,1187520 | 6,3905 |

Tabela 64 Valores de energia e momento de dipolo do salicilato e do análogo borilado.

O mapa do potencial eletrostático revela uma leve diminuição na densidade de carga negativa sobre toda a molécula, com a substituição da carboxilato pelo grupo di-hidroxi-borano, e uma densidade positiva sobre os átomos de hidrogênio. O orbital HOMO sofre pouca variação com a modificação química introduzida. O orbital LUMO, por sua vez, apresenta uma redução na sua distribuição sobre o grupo ácido (enquanto este orbital “cobre” o átomo de carbono carboxílico no salicilato, no boronato, não há uma distribuição tão efetiva no átomo de boro na posição correspondente e, nos átomos de hidrogênio do boronato também há uma redução na superfície do orbital LUMO). Observa-se uma diminuição nos valores de energia do orbital HOMO e um aumento nos valores de energia do orbital LUMO das espécies boriladas em relação aos correspondentes compostos carboxílicos. Essas modificações revelam que a reatividade deste compostos deva sofrer uma modificação importante.

5. Conclusões

O cálculo *ab-initio* é uma ferramenta importante no estudo de sistemas moleculares. Embora já seja largamente utilizado para sistemas pequenos (tais como moléculas diatômicas, anéis aromáticos, etc) sua aplicação em biomoléculas ainda é relativamente pequena, quando comparada, por exemplo, à técnica de dinâmica molecular clássica que possui um uso bem mais difundido na pesquisa acadêmica e industrial. Entretanto, a dinâmica molecular, devido à dependência de parametrização e desconsideração de importantes efeitos eletrônicos e de interação de orbitais, mostra-se limitada na avaliação de sistemas moleculares nos quais estes fatores sejam predominantes no comportamento molecular ou onde um ou mais átomos não possuam parametrização nos campos de força disponíveis. Uma das limitações mais evidentes dos métodos de dinâmica molecular, usando campos de forças clássicos, no estudo de biomoléculas envolve a descrição de comportamentos reativos de moléculas, isto é, de processos nos quais a quebra e a formação de ligações está presente no mecanismo de ação bem como nos efeitos de polarização. No presente trabalho, esta limitação fica bem explícita na avaliação da química do boro. Sendo um elemento pouco estudado nas pesquisas de química computacional aplicada a biomoléculas, este elemento praticamente não possui campos de força parametrizados. Entre as dificuldades de avaliação que encontramos está a reatividade do boro. A capacidade do átomo de boro de formar adutos covalentes dificulta bastante a predição de comportamento químico de compostos borilados. Os dados experimentais disponíveis nos permitiram propor a atividade de compostos borilado sobre biomoléculas. No caso dos análogos de ADN e ARN, a previsão utilizando o método *ab-initio* mostrou-se bem adequada, sendo capaz de reproduzir uma espécie química covalente não descrita na literatura. A modificação do ADN descrevendo o efeito de formação de adutos covalentes com a substituição de um átomo de hidrogênio por boro demonstrou um resultado importante cujas implicações devem ser melhor avaliadas futuramente. Há a possibilidade de o aduto covalente formado possuir uma banda de condução adequada ao uso na nanotecnologia como nanocondutores. As alterações no padrão de distribuição e energia do orbital LUMO, por exemplo, em alguns dos casos estudados, como no caso do par Uracila-Modificada

Adenina, são indicativos de alterações nos padrões de condutividade elétrica destas espécies químicas.

Os valores relativamente baixos obtidos na energia de interação entre pequenas moléculas boriladas e nitrogenadas sugere uma interação favorável entre estas. Os resultados da modificação da nevirapina indicaram a formação de uma ligação de hidrogênio não convencional com o anel aromático. Esta ligação causa um aumento na interação fármaco-receptor que possivelmente deve aumentar a resiliência deste fármaco sobre formas resistentes do VIH-1 uma vez que esta interação envolve, basicamente, o fármaco modificado e o triptofano 229 que é muito conservado neste vírus. Um fato importante a ser destacado é que o valor de energia desta ligação de hidrogênio estimado é maior do que a energia perdida na interação da nevirapina com as formas resistentes do vírus o que vem a ser mais um indício da possível resiliência do fármaco. Os elevados valores de carga parcial positiva sobre os átomos de hidrogênio que participam desta ligação reforçam esta conclusão.

A formação da ligação covalente com o resíduo tirosina 318 indica a possibilidade de este fármaco inativar, isto é, formar um complexo enzima-inibidor irreversível, nas condições fisiológicas. A formação de um complexo irreversível é um resultado importante a ser investigado. Inibidores irreversíveis demandam menor quantidade molar para manter a eficácia da inibição enzimática. Entretanto este resultado baseia-se apenas nos resultados teóricos devido à indisponibilidade de dados experimentais. Convém ressaltar ainda que esta molécula, mesmo que não seja capaz de formar o complexo covalente com a enzima, demonstra (de acordo com os resultados) uma forte interação com o grupo hidroxila da tirosina, indicando da mesma maneira, possibilidade de uma forte atividade inibitória.

Os resultados obtidos com a modificação do ácido valpróico, embora sejam preliminares, demonstram efeitos importantes causados pela substituição. A alteração na distribuição e energia do orbital LUMO, por exemplo, é um resultante interessante, pois sugere que poderia haver uma interação mais pronunciada entre a cadeia carbônica deste fármaco com a proteína. De maneira similar, a modificação do ácido salicílico revelou importantes alterações na distribuição dos orbitais que são indicativos de uma atividade diferenciada. Esses dois compostos, por terem baixo custo e grande atividade, são bons candidatos a objeto de pesquisa *in vitro* e *in vivo* futuramente.

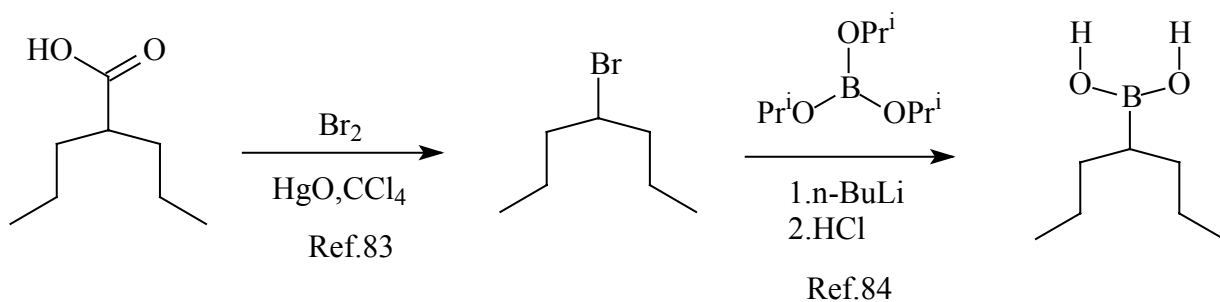
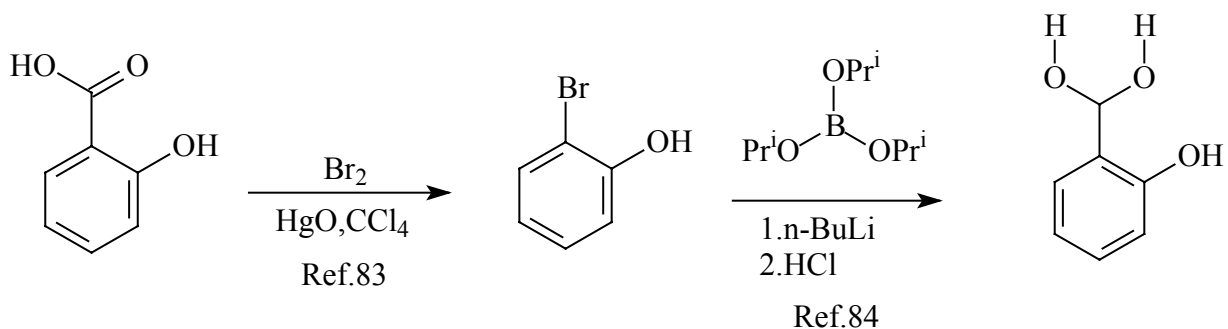
Por fim, queremos deixar explícito que todos estes resultados são apenas indicativos da atividade farmacológica das moléculas propostas porque esta atividade depende de inúmeros outros fatores não avaliados neste trabalho (tais como lipofilicidade, toxicidade, meia-vida biológica, etc). Embora tenhamos sido criteriosos com a observação de limitações possíveis na proposição das modificações, é inviável prever computacionalmente todos os parâmetros importantes no desenvolvimento de um novo medicamento. São, contudo, resultados importantes que levantam a possibilidade de aplicação de fármacos contendo átomos de boro em suas estruturas em patologias que afetam boa parte da população mundial (SIDA, Leucemia, Doenças Cardiovasculares, etc.) bem como estimulam novas investigações de análogos de outras moléculas bioativas.

6. Perspectivas Futuras

Os resultados obtidos neste trabalho apontam para uma ampla possibilidade de investigações futuras. Deixamos algumas sugestões aqui, tais como:

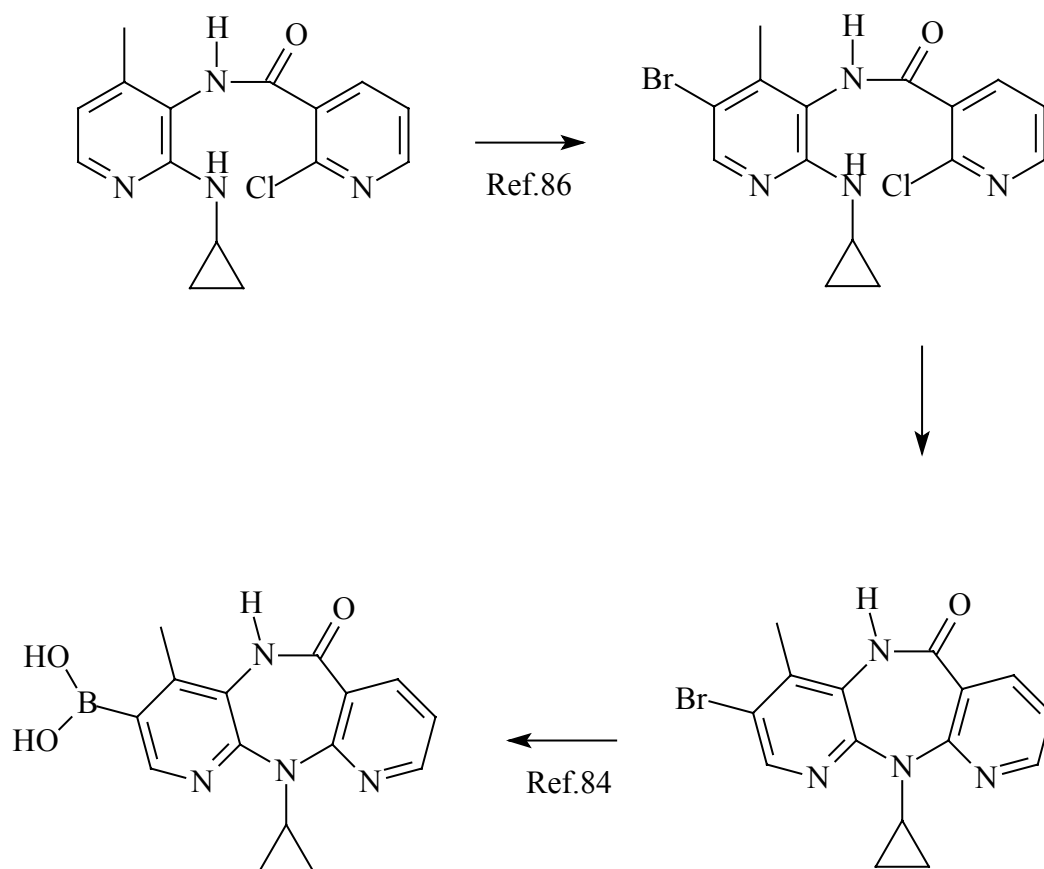
Avaliação *In Silico* da condutividade elétrica do ADN a ARN modificado. Esta avaliação será importante em caso de uma investigação de uso deste compostos como nanocondutores.

Síntese e avaliação da atividade farmacológica dos análogos borilados. Nossa sugestão de síntese é:



A reação de bromodescarboxilação de Cristol-Firth ⁸³, em geral, gera bons rendimentos assim como a síntese do éster do ácido borônico. ⁸⁴

Tentamos algumas rotas de síntese, dos análogos da nevirapina partindo da própria nevirapina (através da ortometalação, ⁸⁵ por exemplo). Não tivemos êxito nestas tentativas e cremos que a rota mais eficiente para esta síntese seja a seguinte:



Grozinger e coladores ⁸⁶ também apresentam uma rota de síntese para a bromação do átomo de carbono para a síntese do análogo 1. Acreditamos que outras moléculas de ácidos carboxílicos com atividade farmacológica já descrita como o Oseltamivir (um dos poucos antivirais com atividade descrita contra o vírus influenza mutante H5N1) devam ser estudadas quanto à possibilidade de uso de seus análogos borilados.

7. BIBLIOGRAFIA

1. DiMasi, J. A.; Hansen, R. W.; Grabowski, H. G.; *J. Health Econ.* **2003**, *22*, 151.
2. Geldenhuys, W. J.; Gaach, K.; Watson, E.; Allen, M.; D. D. C. der Schyf J. V., *Drug Discov Today* **2006**, *11*, Issue 3-4, 127.
3. Silvermann, R. B.; *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Academic Press, San Diego, **1992**.
4. Kliegel, W.; *BOR in Biologie, Medizin und Pharmazie*, Springer-Verlag, **1980**, Berlin, páginas. 61, 69, 519,520.
5. Matt, A.; Ehrhardt, C.; Burkard, P.; Mettremich, R.; Walknshaw, M.; Tapparelli C.; *Bioorgan Med Chem*, **2000**, *8*, 2291.
6. Castillo-Blum, S. E.; Barba-Berhens, N.; *Coordin. Chem. Rev.* **2000**, *196*, 3.
7. Robertson, J. G.; *Biochemistry-US* **2005**, *44* (15), 5551.
8. Pekol, T.; Daniels, J. S.; Labutti, J.; Parsons, I.; Darrel, N.; Baronas, E.; Hsieh, F.; Gan, L-S.; Miwa, G.; *Drug Metab. Dispos.* **2005**, *33* (6) 771.
9. Lesk, A. M.; *Introduction to Physical Chemistry* **1982**, Prentice-Hall, Inc., London, 299.
10. Smith, W. B.; *Introduction to Theoretical Organic and Molecular Modeling*, Wiley-VCH, New York, **1996**.
11. Quinn, C. M.; *Computational Quantum Chemistry an Interactive Guide to Basis Set Theory*, Academic Press, **2002**, San Diego,23.
12. Hinchliffe, A.; *Modelling Molecular Structures*, second edition, Jonh Wiley & Sons, **1999**, Chichester, 170.
13. Chirlan, L.E.; and Francl, M. M.; *J. Comput. Chem.*, **1987**, *8* (6) 894.
14. Hehre, W. J.; Ditchfield, R.; Pople, J.A.; *J. Chem. Phys.* **1972**, Vol 5, 2257.
15. Dewar, M.J.S.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J.P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*,3902.
16. Stewart, J.J.P.; *J.Comp.Chem.***1985**,*10*, 210.
17. Sigfridsson, E.; Ryde, U.; *J. Comp. Chem.* **1998**, *19* (4) 377.
18. Hutchinson, J. F.; *Annu. Rev. Antropol.* **2001**, *30*, 85.
19. Stoiber, H.; Clivio A.; Dierich, M. P.; *Annu. Rev. Immunol.* **1997**, *15*, 649.

20. Montagnier, L.; *Vírus e Homens, AIDS: Seus mecanismos e Tratamentos*, ed. Jorge Zahar, **1995**, Rio de Janeiro, RJ. 141.
21. HIV RATES DECREASING IN SEVERAL COUNTRIES BUT GLOBAL NUMBER OF PEOPLE LIVING WITH HIV CONTINUES TO RISE, www.unaids.org, acessado em 06.04.2006, às 19:13.
22. ANNEX 2: HIV AND AIDS STIMATES AND DATA 2005 2003, 2006 REPORT ON THE GLOBAL AIDS EPIDEMIC, www.unaids.org, acessado em 26.09.2006 às 20:07
23. <http://www.agenciaaids.com.br> acessado em 31.05.2006, às 12:51.
24. <http://www.mclcd.co.uk/hiv/> acessado em 26.09.2006 às 20:49.
25. Guyader, M.; Emerman, M.; Sonigo, P.; Clavel, F.; Montagnier, L. & Alison M.; *Nature* **1987**, 326, 662.
26. McGrath, K. M.; Hoffman, N. G.; Resch, W.; Nelson J. A. E.; Swanstrom R.; *Virus Res*, **2001**, 76, 137.
27. Clerq, E. D.; *Médecine et Maladies Infectieuses*, **2000**, 30, 421.
28. Schlick, T. Antman, S.S.; Marsden, J.E.; Sirovich, L.; Wiggins, S.; *Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide*; Springer; New York, **2002**, 21, 49.
29. Yeni, P.; *J. of Hepatol.* **2006**, 44, S100.
30. Day, L.; Shikuma, C., Gerchenson, M., *Mitochondrion*, **2004**, 4, 95.
31. Routy, J.; *The Lancet* **2005**, 366, 523.
32. Cohen, J.; *Science*, **2005**, 309, 999.
33. . Smith, S. M., *Retrovirology*, **2005**, 2:56,
34. Chandra, A., *Febs Letters*, **1986**, 197, (12).
35. Esnouf, R.; Ren, J., Ross C.; Jones, Y.; Stammers, D.; Stuart, D.; *Nat. Struct. Biol.* **1995**, 2, 303.
36. Tachedjian; *PNAS*, June **2001**, 98 (13) 7189.
37. Venezia, C. F.; *Biochemistry*, **2006** (45) 2779.
38. Sarafanios, G. S.; Das K.; Hughes, S. H.; Arnold, E.; *Curr Opin Struc Biol*, **2004** (14) 716.
39. Stryer, L.; *Bioquímica*, 4º ed. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, RJ, 1996, 215.
40. Titmuss, S. J.; Keller, P. A.; Griffith, R.; *Bioorgan Med Chem* **1999**, 7, 1163.
41. Merluzzi; *Science*, **1990**, 250 (4986), 1411.

42. Newel; *T. Roy. Soc. Trop. Med. H.* **2005**. october, 7.
43. Correia, N.; *Indoor Built. Environ.* **2006**, 15, 1:25.
44. Manosuthi, W.; Chumpathat, N.; Chaovavanich, A.; Sungkanuparph, S.; *BMC Infectious Diseases* **2005**, 5, 67.
45. De Clercq. E.; *J. Clin. Virol.* **2004**, 30, 115.
46. Björnsson, E. and Olsson, R.; *Liver and Disease*, **2006**, 38, 33.
47. Smith, D.M.; *AIDS*, **2006**, 20, 281.
48. Ruengpung, *et.al.*, *J. Clin. Virol.*, **2005**, 34 (4), 272.
49. Maga, G.; Amacker, M.; Ruel, N.; Hübscher, U. and Sparadi, S.; *J. Mol. Biol.* **1997**, 274, 738.
50. Rodriguez-Barrios, F.; Balzarini, Gago F. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 7570.
51. Zhou, Z.; Madrid, M.; Evanseck, J. D.; Madura, J. D.; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127 (49), 17253.
52. Hopkins, L. A.; Ren, J.; Milton, J.; Hazen, R. J.; Chan, J. H.; Stuart, I. D.; Stammers; *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 5912.
53. PELEMANS, H.; ESNOUF, R.; DE CLERCQ, E.; BALZARINI, J.; *Mol. Pharmacol.* **2000**, 57, 954.
54. Ashok, B. Shenvi; *Biochemistry*, **1986**, 25, 1286.
55. Koehler, *et. al.* *Biochemistry*, **1971**, 10 (13) 2477.
56. Koehler, *et al.*, *Biochemsitry*, **1974**, 13, (26) 5345.
57. Groll, M.; Berkers, C. R.; Ploegh, H. L. and Ovaa, H.; *Structure*, **2006**, 14, 451.
58. Rogowsa, P.; Cyrański, M.K.; Sporzyński, A.; and Ciesielski, A. *Tetrahedron Letters*, **2006**, 47 (9), 1389.
59. Mattews, *et al.* *J Biol Chem*, **1975**, 250, (18) 7120.
60. Freeman, A.; Segal, R.; Dror, Y.; METHODS AND COMPOSITIONS FOR TREATING FUNGAL INFECTIONS, Pat. PCT/US2002/023252, WO/2003/009689.23 Jul **2001**.
61. Combe-Marzelle S.P., Kakkar S. K., Allen G.D., BORONATE MEDICAMENTS FOR PREVENTING THROMBOSIS DURING SURGERY, Pat. PCT/GB2005/000908, WO/2005/084686.09 Mar **2004**.

62. Patrick G.M., Combe-Marzelle S.P., Kennedy A. J., Withington R., Bocher O. V. A., BORONATE MEDICAMENTS SUITABLE FOR SHORT DURATION ANTICOAGULATION, Pat. PCT/GB2005/000907, WO/2005/084685., 09 Mar **2004**.
63. Kawahara, S.I.; Uchimar T., Taira K. and Sekine, M.; *J. Phys. Chem. A* **2002**, *102*, 3207.
64. .Kawahara, S.I.; Kobori, A.; Sekine, M.; Taira, K.; Uchimar T.; *J. Phys. Chem. A* **2001**, *101*, 10596.
65. Kawahara, S.I.; Uchimar T., Taira, K.; Sekine, M.; *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 3207.
66. Deadman J.J., Spencer J., Greenidge P. A., Goodwin C. A., Kakkar V. V., Scully M. F., Holland R. J., SERINE PROTEASE INHIBITORS COMPRISING A HYDROGEN-BOND ACCEPTOR, Pat. PCT/GB2002/000224, n° **WO/2002/057273.**, 20 Jan **2001**.
67. Snow R. J., Bachovchin W. W., Randall W.B., Campbell S. J., Coutts S. J., Freeman D. M., Gutheil W.G., Kelly T. A., Kennedy C. A., Krolikowski D. A., Leonard S. F., Pargellis C. A., Tong L. and Adams J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 10860.
68. Yang, W.; Gao, X.; Wang, B.; *Med Res Rev*, **2003**, *23* (3) 346.
69. Labutti, J.; Parsons, I.; Huang, R.; Miwa, G.; Gan, L-S. and Daniels J. S.; *Chem. Res. Toxicol.*, **2006**, *19*, 539.
70. Plamondon L., Grenier L., Adams J., Gupta S., FORMULATION OF BORONIC ACID COMPOUNDS, Pat. PCT/US2002/002086, n° WO/2002/059131., 25 Jan **2001**.
71. Altamore *et. al.*, *Bioorgan Med Chem*, **2006**, *14*, 1126.
72. Ebdrup, S.; Jacobsen, P.; Farrington, A. D.; Vedso, P.; *Bioorgan Med Chem*, **2005**, *13* (6) 2305.
73. Ren, J.; Nichols, C.; Bird, L.; Chamberlain, P.; Weaver, K.; Short, S.; Stuart, D. I. and Stammers D. K.; *J.Mol.Biol.* **2001**, *312*, 795.
74. Yan *et, al*, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 11205.
75. Alfonso, A.; Vieytes, M. R.; Ofuji, K.; Satake, M.; Nicolaou, K.C.; Frederick, M. O.; Botana, L.M. *Biochem Biol Res Co*, **2006**.
76. Kotz & Treichel, *Chemistry and Chemical Reactivity*, Fourth edition, Saunders Golden Sunburst Series, New York, 855.
77. Liu, T. *et, al.*, *Cancer Treat Rev*, **2006**, *32*, 157.
78. Deubzer *et al*, *Leukemia Res*, **2006**, *30*, 1167.
79. http://www.bayeraspirin.com/questions/hundred_aspirin.htm acessada em 27.07.2006

80. Ma, J.; Monti, V.; Stafford, R. S.; WORLD HEART FEDERATION, Prevention and Control, **2006**.
81. Hillman, R. S.; *JACC*, **2006**, 47 (12) 2565.
82. Maree, A.O.; Curtin, R. J.; Dolley, M.; Conroy, R. M.; Crean P.; Cox, D.; Fitzgerald, D. J.; *J. Am. Coll. Cardiol.* **2005**, 47, 1258.
83. Davis, J.A.; Herynk, J.; Carroll, S.; Bunds, J.; and Johnson D.; *J. Org. Chem.* **1965**, 30 (2), 415.
84. .Li, W.; Nelson, D.P.; Jensen, M.S.; Hoerrner, R. S.; Dongwei, C.; Larsen, R. D.; and Reider, P. J., *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 5394.
85. .Souza, M.V.N.; Almeida, M.V.; *Quím. Nova* **2002**, 25 (1) 89.
86. .Grozinger, K. G.; Byrne, D.P.; Nummy, L. J.; Ridges, M.D.; Salvagno, A.; *J. Heterocyclic Chem.* **2000**, 37, 229.

Anexo.1

Cálculo de Efeito de Solvente e Cálculo de ΔG .

Os cálculos *ab-initio* desconsideram os importantes efeitos de solvatação que ocorrem na interação de quaisquer moléculas em meio de solvente. Existem modelos para corrigir este problema. Fizemos algumas investigações com o modelo de isodensidade de contínuo polarizado de Tomasi (IPCM Isodensity Polarized Continuum Model). Neste modelo, basicamente, a molécula do soluto é tratada como se estivesse em uma cavidade esférica “mergulhada” no solvente contínuo (na verdade, um “campo potencial” com propriedades que simulam o solvente). O dipolo molecular induz uma mudança na polarização do solvente que, por sua vez, leva a uma mudança no dipolo molecular até que haja a estabilização. No IPCM, a cavidade é definida como uma superfície de isodensidade obtida iterativamente.¹²

Lamentavelmente, há graves problemas na convergência destes cálculos. Na verdade, os modelos de solvente disponíveis para o Gaussian98 raramente convergiram no cálculo de otimização de geometria dos sistemas estudados. Tentamos, como uma alternativa, calcular o efeito do solvente na energia de interação, calculando em nível 6-31G*, *single point* a geometria obtida pela otimização do par isolado. Os resultados, contudo, mostraram-se insatisfatórios (Tabela abaixo)

| Molécula Borilada | Molécula | Energia de interação(em kcal/mol) | |
|---|---------------|-----------------------------------|------------------------|
| | | HF/6-31G*(água) | HF/6-31G* (heptano) |
| Ácido Bórico [B(OH) ₃] | Trimetilamina | -2,765620 | -0,426204 |
| | Amônia | -10,200786 | -7,836314 |
| | Pirrol | -11,264351 | -8,924935 |
| | Piridina | -0,932541 | 1,406875 |
| | Indol | 2,946029 | 5,285446 |
| | Metil-indol | 2,943770 | 5,283187 |
| Ácido fenil-borônico [Ph-B(OH) ₂] | Trimetilamina | 8,671610 | 8,671610 |
| | Amônia | 8,112562 | 8,112562 |
| | Pirrol | 11,490255 | 6,528917 |
| | Piridina | — | — |
| | Indol | 16,010327 | 16,010327 |
| | Metil-indol | 15,635265 | 15,635265 |
| Ácido piridil-borônico [Py-B(OH) ₂] | Trimetilamina | 2,829250 | 7,782241 |
| | Amônia | 4,811049 | 9,764040 |
| | Pirrol | 8,379567 | 13,332558 |
| | Piridina | 5,611938 | 10,564930 |
| | Indol | 8,665209 | 13,618200 |
| | Metil-indol | 10,194762 | |

Tabela.2.1.4 Valores de energia de interação dos pares moleculares calculados em água e em heptano

Os valores de energia de interação com o efeito de solvente em meio aquoso seguem uma tendência razoável, isto é, dada a elevada polaridade da água, uma ligação de hidrogênio não convencional deve ser menos favorecida em solvente aquoso devido à possibilidade de formação de outras ligações de hidrogênio com as moléculas de água. Entretanto, a manutenção da tendência em solvente orgânico demonstra a insuficiência do método testado, pois é improvável que uma ligação de hidrogênio não convencional desfavorecida em água mantenha-se desfavorecida em um solvente apolar, como o heptano.

O cálculo de variação de energia livre de Gibbs, ΔG , assim como o de efeito do solvente, é um cálculo que apresentou uma série de problemas de convergência nos sistemas estudados também. Além destes problemas, a descrição do cálculo de ΔG pelo Gaussian98 é limitada. Esta descrição baseia-se essencialmente em valores de entropia de cada átomo, tabelado a partir de dados experimentais, e em uma correção térmica, isto é, a variação com a temperatura.

| Molécula Borilada | | ΔG (fase gasosa) (Hartree) | ΔG (em água) |
|--|---------------|--|----------------------|
| Ácido Bórico [B(OH) ₃] | Trimetilamina | -0,0026140 | 0,00063100 |
| | Amônia | -0,0054570 | -0,00353600 |
| | Pirrol | -0,0005780 | 0,00850200 |
| | Piridina | -0,0001190 | 0,00622400 |
| | Indol | 0,0008020 | 0,01047300 |
| | Metil-indol | 0,0004930 | — |
| Ácido fenil- borônico [Ph-B(OH) ₂] | Trimetilamina | 0,0028500 | 0,00126000 |
| | Amônia | -0,0008280 | -0,00300800 |
| | Pirrol | 0,0049240 | 0,00576800 |
| | Piridina | -0,0005950 | — |
| | Indol | 0,0054310 | — |
| | Metil-indol | 0,0054170 | — |
| Ácido piridil- borônico [Py-B(OH) ₂] | Trimetilamina | -0,0027660 | 0,00343000 |
| | Amônia | -0,0064550 | -0,00110000 |
| | Pirrol | -0,0006200 | 0,00807500 |
| | Piridina | -0,0061070 | 0,00851000 |
| | Indol | -0,0000100 | — |
| | Metil-indol | -0,0006743 | — |

Tabela 2.1.5 Valores de ΔG das interações entre os pares moleculares

Da mesma maneira que o efeito de solvente, há muitos problemas com convergência e os resultados não possuem uma boa correlação.