



INSTITUTO FEDERAL
GOIÁS
Câmpus Anápolis

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS
CAMPUS ANÁPOLIS**

CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

**ESTUDO QUÍMICO QUÂNTICO E QUIMIOMÉTRICO DOS
DERIVADOS ANÁLOGOS DA CIANO PIRAZOLINA CONTRA O
DIABETES TIPO II**

LUCIANA RODRIGUES DOS SANTOS

ORIENTADOR (A): Prof. Ms. Lilian Tatiane Ferreira de Melo Camargo

**ANÁPOLIS, DEZEMBRO
2013**

LUCIANA RODRIGUES DOS SANTOS

**ESTUDO QUÍMICO QUÂNTICO E QUIMIOMÉTRICO DOS
DERIVADOS ANÁLOGOS DA CIANO PIRAZOLINA
CONTRA O DIABETES TIPO II.**

Trabalho de Conclusão do Curso de Licenciatura em Química apresentado à Coordenação de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás.

Orientadora: Prof^a. MS. Lilian Tatiane Ferreira de Melo Camargo.

**ANÁPOLIS, DEZEMBRO
2013**

S237e Santos, Luciana Rodrigues dos
Estudo químico quântico e quimiométrico dos derivados análogos da ciano pirazolina contra o diabetes tipo II./ Luciana Rodrigues dos Santos. - - Anápolis: IFG – Campus Anápolis/ Coordenação do curso de Química – Licenciatura em Química, 2013.

Orientador: Ms Lilian Tatiane Ferreira de Melo Camargo
Bibliografias: f.41:il.

1. Ciano pirazolina – composto químico. 2. Diabetes - tratamento.
3. Química Quântica. I. Título II. Coordenação do curso de Licenciatura em Química.

CDD 514.28

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Téc. e Aquisição e Tratamento da Informação:
Bibliotecário-Documentalista – Shilton Caldeira Nunes- CRB-1/2505 - IFG – Campus Anápolis.

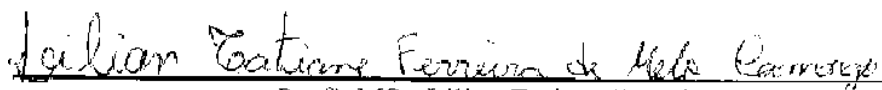
LUCIANA RODRIGUES DOS SANTOS

**ESTUDO QUÍMICO QUÂNTICO E QUIMIOMÉTRICO DOS
DERIVADOS ANÁLOGOS DA CIANO PIRAZOLINA
CONTRA O DIABETES TIPO II.**

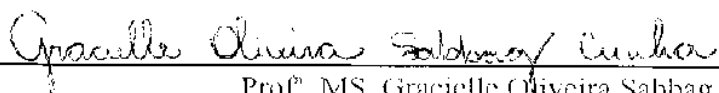
Trabalho de Conclusão do Curso de Licenciatura em
Química apresentado à Coordenação de Licenciatura em
Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia de Goiás.

Orientadora: Prof^ª. MS. Lilian Tatiane Ferreira de Melo
Camargo.

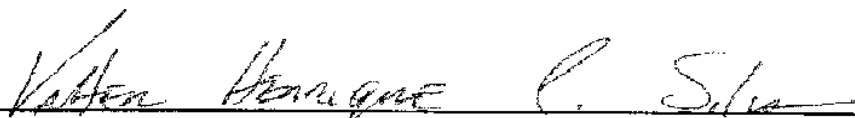
APROVADO EM 06 / 12 / 2013



Prof. MS. Lilian Tatiane Ferreira de Melo Camargo.



Prof. MS. Gracielle Oliveira Sabbag Cunha



Prof. MS. Valter Henrique Carvalho Silva

**ANÁPOLIS, DEZEMBRO
2013**

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus pelo seu imenso amor por minha vida, a minha mãe uma grande guerreira que com suas atitudes me ensinou a lutar pelos meus sonhos, a minha querida irmã a quem amo de paixão e especialmente ao meu amado noivo pela compreensão durante a realização desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as vezes que me deu forças quando o cansaço e o estresse me afligiam.

A minha mãe, Marilene, por todo amor e educação a mim dedicado. A minha irmã, pelo afeto e pelas muitas horas em que deixou o computador disponível só para mim.

Ao meu noivo pelo carinho, amor, compreensão e incentivo.

Aos meus colegas de sala, em especial a Layssa Moreira, pela amizade e apoio.

A professora Ms. Lilian Tatiane, orientadora e amiga, por todos esses anos que me fez ver a química com um olhar diferente. Agradeço pelos ensinamentos, pela orientação, pela dedicação e por ter acreditado em mim.

Ao grupo de Química Teórica e Estrutural de Anápolis (QTEA) pela disponibilização dos computadores.

A todos que de alguma forma, indiretamente ou diretamente, contribuíram para que hoje fosse finalizado mais uma etapa da minha vida.

O temor do Senhor é o principio da sabedoria,
e o conhecimento do Santo é prudência.

Provérbios 9:10

RESUMO

A busca por novos composto contendo algum tipo de atividade biológica, assim como os estudos enfatizando as modificações estruturais em prol da melhoria da atividade ou diminuição de efeitos indesejáveis, representam propósitos da Química Medicinal atual. Com avanço dos *hardwares* cada vez mais as análises computacionais associados aos métodos de modelagem molecular e a quimiometria são aplicadas em processos quantitativos do planejamento de novos fármacos, diminuindo o tempo e os gastos da pesquisa. O diabetes configura-se hoje como uma epidemia mundial, traduzindo-se em grande desafio para os sistemas de saúde de todo o mundo. Buscando propor novas alternativas de fármacos que combate esta doença um grupo de sul coreanos sintetizaram e testaram *in vitro e in vivo* os derivados análogos da ciano pirazolina e verificaram suas atividades contra o diabetes tipo II, com base neste trabalho obteve-se parâmetros geométricos e estruturais deste grupo de moléculas usando o método da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) da Química Quântica Computacional com o funcional de troca e correlação híbrido B3LYP e com o conjunto de base 6-31G* implementados no pacote de programa Gaussian 09. Os descritores obtidos nos cálculos teóricos foram relacionados com a estrutura – atividade das moléculas usando métodos da estatística multivariada implementados no programa estatístico Ensign 3.0. A Análise de Componentes Principais (PCA) mostrou que quatro descritores eletrônicos, HOMO, GAP (Δ), dureza (η) e C2, são suficientes para separar os compostos em duas classes: ativos e inativos. Com base nos descritores selecionados é possível sugerir novos compostos para síntese cujas atividades biológicas sejam superiores.

Palavras chaves: *Diabetes. Ciano pirazolina. DFT. PCA.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Derivados análogos da ciano pirazolina.....	15
Figura 2 – Estrutura base dos derivados análogos da ciano pirazolina.....	28
Figura 3 – Representação gráfica dos scores obtidos usando o programa Ensign 3.0.....	37
Figura 4 – Representação gráfica dos loading obtidos usando o programa Ensign 3.0.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de IC ₅₀ da ciano pirazolina e seus derivados análogos contra a DPP-IV...26	26
Tabela 2 – Valores de energias dos orbitais moleculares (HOMO E LUMO), GAP (Δ) e dureza (η) obtidos a nível de teoria B3LYP/6-31G*.....29	29
Tabela 3 – Momento de dipolo (μ); obtidas a nível de teoria B3LYP/6-31G*. Área de superfície, volume molar e refratividade foram calculadas pela rotina do pacote Hyperchem 7.5.....30	30
Tabela 4 – Ângulos obtidos a nível de teoria B3LYP/6-31G*. Todos os valores estão em graus (°).....31	31
Tabela 5 – Cargas atômicas (C), derivadas do potencial eletrostático com método CHELPG, obtidas a nível de teoria B3LYP/6-31G*.....32	32
Tabela 6 – Descrição de ordens de ligação obtidas a nível de teoria B3LYP/6-31G*.....34	34
Tabela 7 – Pesos de Fisher.....36	36
Tabela 8 – Porcentagem de variância explicada pelas componentes principais obtidos pelo programa Ensign 3.0.....37	37
Tabela 9 - Loading das variáveis para as componentes obtidas pelo programa Ensign 3.0....38	38

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS.....	14
2.2 DERIVADOS ANÁLOGOS DA CIANO PIRAZOLINA	15
2.3 DIABETES.....	16
2.3.1 Diabetes tipo I	16
2.3.2 Diabetes tipo II	16
2.3.3 Diabetes gestacional	17
2.4 MÉTODOS DE QUÍMICA QUÂNTICA	17
2.4.1 Aproximação de Borh – Oppenheimer	18
2.4.2 Teoria do funcional da densidade (DFT)	19
2.4.2.1 Teorema de Hohenberg e Kohn.....	19
2.4.2.2 O método de Kohn-Sham.....	20
2.4.2.3 Aproximação híbrida	20
2.5 METODOS ESTATISTICOS.....	20
2.5.1 Estatística Multivariada	20
2.5.2 Peso Fisher [42]	21
2.5.3 Análise de componentes principais (PCA)	22
2.6 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS E GEOMÉTRICAS.....	22
2.6.1 Momento dipolo	23
2.6.2 HOMO e LUMO	23
2.6.3 GAP (HOMO-LUMO)	23
2.6.4 Dureza	23
2.6.5 Volume molar e área de superfície	24
2.6.6 Refratividade	24
2.6.7 Ângulos internos	24
2.6.8 Cargas [45]	24
2.6.9 Ordens de ligação	25
3 METODOLOGIA DE PESQUISA	26
3.1 EQUIPAMENTOS E SOFTWARES.....	26
3.2 PROCEDIMENTOS COMPUTACIONAIS	27
3.2.1 Otimização das Moléculas	27
3.2.2 Cálculos dos parâmetros Geométricos e Eletrônicos	27
3.2.3 Análise Estatística dos Dados	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 ANÁLISE CONFORMACIONAL.....	28
4.2 ANÁLISES DAS PROPRIEDADES CALCULADAS	28

4.2.1 Orbitais moleculares	29
4.2.2 Dureza (η).....	29
4.2.3 Momento dipolo (μ).....	30
4.2.4 Volume molar e Área de superfície	30
4.2.5 Refratividade.....	30
4.2.6 Ângulos internos	31
4.2.7 Cargas.....	31
4.2.8 Ordens de ligação.....	33
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	35
4.3.1 Análises da atividade no tratamento do diabetes tipo II	35
5 CONCLUSÃO	40
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1 INTRODUÇÃO

A busca por substâncias com atividade biológica vem desde tempos remotos, sendo que diversos métodos já foram desenvolvidos nesta tentativa, desde métodos místicos até o mais atual, que é fundamentado em parâmetros energéticos e estruturais [1].

Fatores estéricos, eletrônicos e hidrofóbicos das moléculas estão diretamente relacionados com a ação terapêutica do fármaco nos sistemas biológicos. Assim, mudar um átomo de posição ou trocar um substituinte em uma molécula pode ser fundamental para explicar a atividade biológica de uma substância, permitindo a modelagem de novas drogas que sejam potencialmente mais ativas [1,2].

Com o progresso dos *hardwares* e o desenvolvimento de eficientes algoritmos computacionais, o método de Relação entre a Estrutura e a Atividade (SAR – Structure Activity Relationships) que associe as análises de química quântica com as técnicas de quimiometria, tem sido utilizado vastamente para um estudo racional das propriedades físico-químicas e estruturais das moléculas, possibilitando a modelagem de novas drogas [3].

O estudo SAR visa fazer uma análise computacional, em relação à estrutura química dos compostos e sua atividade biológica, diminuindo os gastos e o tempo de pesquisa na produção de novas drogas que combatam doenças que ainda não tem cura, como por exemplo, o diabetes.

Diabetes é causada pela insuficiência da produção de insulina, chamada por diabetes tipo I ou ocasionada pela resistência do organismo na ação da insulina, chamada por diabetes tipo II. O número de diabéticos tem crescido significativamente devido o aumento de pessoas obesas por consequência de uma má alimentação e sedentarismo [4]. Devido ao acúmulo de tecido adiposo, o organismo não consegue utilizar de forma eficiente a insulina produzida pelo pâncreas, provocando o aumento de glicose no sangue [5].

Atingindo praticamente todas as populações mundiais, o diabetes tipo II tem sido considerado como uma das grades epidemias mundiais do século XXI. O desenvolvimento do diabetes tipos II pode ser relacionado a fatores modificáveis: obesidade e inatividade física e fatores não modificáveis: associada a predisposição genética e ao aumento da idade. O tratamento do diabetes tipo II ajusta na promoção de um estilo de vida saudável, mas na maior parte dos indivíduos esse método falha, porque verifica-se rapidamente uma recuperação de peso e por consequência a progressão da doença e suas respectivas complicações. É necessário então avançar para a terapêutica farmacológica [4].

Na tentativa de propor novos fármacos para o tratamento do diabetes tipo II um grupo sul coreano sintetizou e testou *in vitro* e *in vivo* a ciano pirazolina e seus derivados [6]. Neste trabalho pretende-se investigar teoricamente, usando os métodos de química quântica e estatística multivariada, a relação entre estrutura e atividade de uma nova classe de ciano pirazolina para o tratamento de diabetes tipo II.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS

Em busca de uma vida saudável e mais longa o ser humano utiliza de vários recursos, como exemplo: a prática de esportes, o melhoramento nos hábitos alimentares, cirurgias etc. O uso de medicamentos é também um recurso muito utilizado e de extrema importância. Para produção dos mesmos há uma busca permanente por produtos mais eficientes, que dê maior segurança ao usuário e provoque o mínimo de efeitos colaterais possíveis [7].

Na década de 40, com o surgimento da equação de Hammett [8], começaram a surgir as primeiras contribuições da Físico-Química e Orgânica que serviram de base para o desenvolvimento de novos fármacos. Só vinte anos depois, com trabalhos pioneiros de Hansch relacionando a atividade biológica a parâmetros moleculares, se inaugurou um novo período para a Química Medicinal (QM) [9].

Apartir da década de 70 a Química Teórica (QT) passou a contribuir para os estudos de QSAR (relação quantitativa estrutura atividade) e SAR (relação estrutura atividade) [10]. O desenvolvimento de QSAR e SAR estão mudando o perfil de investigação na busca por novos fármacos, que antes se baseava puramente na experiência e na intuição química, para uma maneira matematicamente mais fundamentada. Uma vez determinada a relação entre uma estrutura ou propriedade com a atividade desejada, qualquer composto, inclusive os ainda não sintetizados, podem ser avaliados, preliminarmente à sua síntese, no computador [11].

O uso de computadores se tornou indispensável no planejamento, descoberta, elucidação de processos químicos e biológicos através da estrutura tridimensional de pequenas e macromoléculas. Associados aos métodos de modelagem molecular, os métodos estatísticos conhecidos como quimiométricos são amplamente usados em processos quantitativos do planejamento molecular [12].

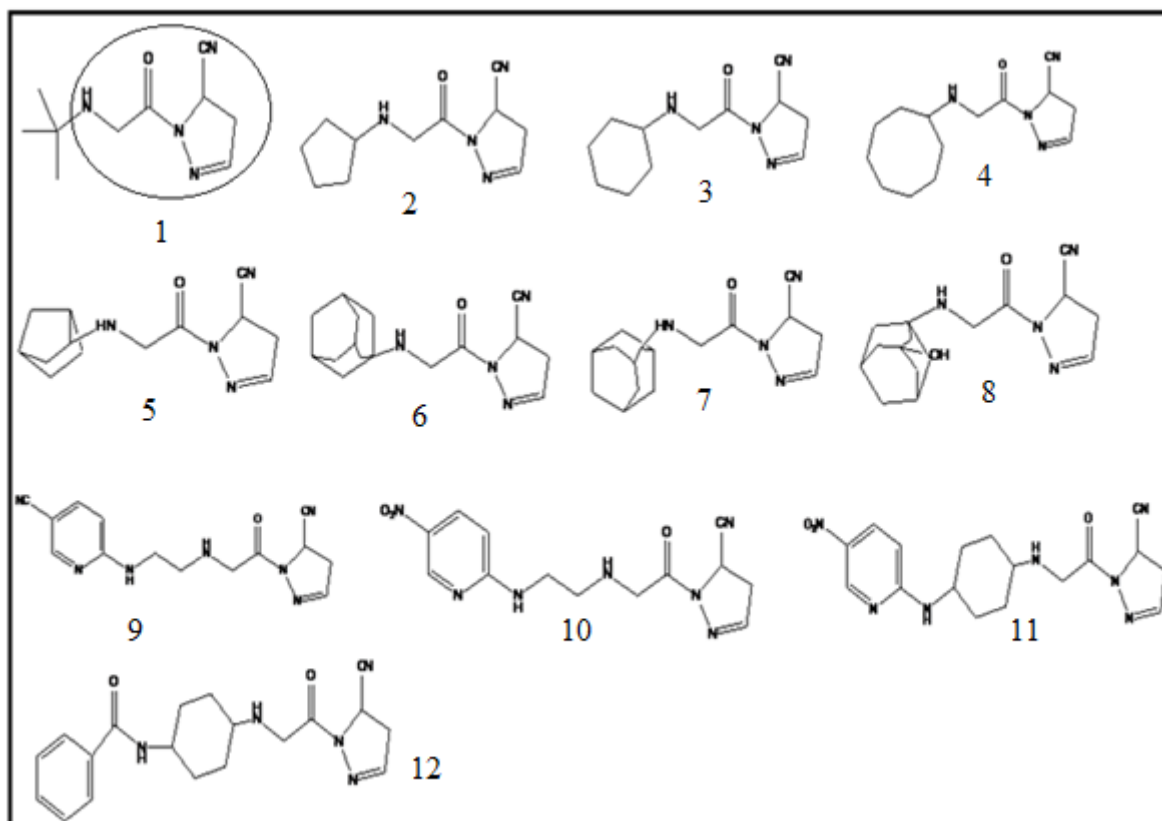
Com a aparição de programas e computadores cada vez mais velozes [10], na década de 80 a QT passou a auxiliar de forma mais sistemática a QM [13]. Atualmente, representam dois dos principais propósitos da QM, a busca por compostos com alguma atividade biológica, bem como os estudos visando modificações estruturais em prol da melhoria da atividade ou diminuição de efeitos colaterais [14].

2.2 DERIVADOS ANÁLOGOS DA CIANO PIRAZOLINA

Através de pesquisas para inibidores da dipeptidil peptidase IV (DPP IV) foi descoberto o efeito do esqueleto da ciano pirazolina [6]. Um grupo de pesquisadores Sul Coreanos sintetizou uma nova classe da ciano pirazolina e testou a habilidade destas moléculas inibirem a DPP IV responsável pela degradação do peptídeo GLP-1, que é secretado no intestino após as refeições. O GLP-1 é importante para o controle do diabetes, pois diminui a secreção de glucagon pelo pâncreas, sendo o glucagon um hormônio polipeptídeo que faz a ação oposta da insulina, uma vez que aumenta os níveis de glicose no sangue [15].

Melhorar então a secreção de insulina, é uma proposta para o tratamento de diabetes tipo II. Algumas moléculas inibidoras da DPP IV já foram publicadas, e recentemente a própria ciano pirazolina com aminas primárias, como inibidoras da DPP IV [6]. O grupo de pesquisadores, visando resultados melhores, propôs a síntese e análise da ciano pirazolina com aminas secundárias [6] conforme mostra a Figura 1, onde a estrutura base se encontra destacada.

Figura 1 - Derivados análogos da ciano pirazolina



2.3 DIABETES

Classificado como uma doença crônica, o diabetes é ocasionado pela falta da produção de insulina pelo pâncreas ou quando o corpo não consegue utilizar de forma eficiente a insulina que produz [16]. A insulina é um hormônio responsável por reduzir o nível de glicose no sangue e estimular o armazenamento da glicose, principalmente no fígado e nas células musculares, age também favorecendo a transformação de glicose em glicogênio [5].

Segundo os dados estáticos da Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2004, devido ao alto nível de açúcar no sangue, por volta de 3,4 milhões de pessoas morreram, sendo semelhante o número de mortes estimadas em 2010. Com isso a OMS estima que entre 2005 e 2030 dobre o número de mortes causadas por diabetes [16]. Atualmente 347 milhões de pessoas no mundo têm diabetes, sendo ela responsável por metade das amputações não traumáticas dos membros inferiores e responsável também por uma das principais causas de cegueira nos países desenvolvidos. Além do mais, a probabilidade de uma pessoa ter tuberculose é 3 vezes maior para quem tem diabetes [16]. Serão discutidos a seguir sobre os três tipos de diabetes.

2.3.1 Diabetes tipo I

Conhecida também por diabetes insulino dependente, infato-juvenil e imunomediado, ocorre quando a produção de insulina pelo pâncreas se torna insuficiente, pois suas células sofrem de destruição auto-imune. Os portadores desse tipo de diabetes são medicados com injeções diárias de insulina para manterem controlado o nível de glicose no sangue. Embora ocorra em qualquer idade, o diabetes do tipo I é mais comuns em crianças, adolescentes ou jovens [17].

2.3.2 Diabetes tipo II

Atingindo 90% da população [5], podendo também ser conhecida como diabetes do adulto ou não insulino dependente, é causada por pré-disposição genética ou por obesidade em adultos maiores de 40 anos e em jovens devido à má alimentação, sedentarismo e stress diário, consequência da agitada vida urbana. No diabetes tipo II há presença de insulina no

corpo produzida pelo pâncreas, porém sua ação é impedida, o que é manifestado como resistência insulínica, resultando então em uma das causas da hiperglicemia. Devido não apresentar muitos sintomas, na maioria das vezes, esse tipo de diabetes fica por muito tempo sem diagnóstico e tratamento, favorecendo a ocorrência de complicações no coração e cérebro, e sendo uma das principais causas de cegueira e insuficiência renal [17].

2.3.3 Diabetes gestacional

Presente no período de gravidez devido ao aumento da glicose no sangue, o diabetes gestacional normalmente é regulado após o parto. Porém as mulheres que sofrem com o esse tipo de diabetes, podem desenvolver futuramente o diabetes do tipo II [4].

Atualmente não existe cura para o diabetes e o tratamento disponível para seu controle apresenta efeitos colaterais indesejáveis, como aumento de peso, efeitos gastrointestinais, hipoglicemia, convulsões e coma [4]. Portanto, deseja-se investigar teoricamente, usando os métodos da Química Quântica molecular e da estatística multivariada, a relação entre as propriedades eletrônicas e estruturais dos derivados análogos da ciano pirazolina, com a sua atividade no tratamento do diabetes tipo II.

2.4 MÉTODOS DE QUÍMICA QUÂNTICA

Com o avanço da mecânica quântica as propriedades dos sistemas químicos podem ser obtidas pela resolução da equação de Schrödinger. Entretanto não existem ferramentas matemáticas suficientes para resolução de sistemas multieletrônicos. Portanto faz-se necessário recorrer a métodos de aproximação [18], podendo ser *semi-empírico*, que empregam parâmetros experimentais em suas equações e *ab initio*, que utilizam apenas constantes universais [19].

A equação de Schrödinger não relativística independente do tempo para sistemas multieletrônicos pode ser descrita como:

$$\{\hat{H} - E\}\psi_{(r,R)} = \{(\hat{T}_n + \hat{T}_e + \hat{V}_{nn} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{ne}) - E\}\psi_{(r,R)} = 0 \quad (1)$$

O hamiltoniano (\hat{H}) é um operador diferencial que fornece a energia total do sistema, dado pela Equação 2:

$$\hat{H} = \hat{T}_n + \hat{T}_e + \hat{V}_{nn} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{NE} \quad (2)$$

Na Equação 1 o termo E representa a energia total do sistema, \hat{T}_n representa o operador da energia cinética dos núcleos, \hat{T}_e é o operador da energia cinética dos elétrons, \hat{V}_{nn} representa o operador da energia potencial devido à interação núcleo – núcleo, o termo \hat{V}_{ee} é o operador da energia potencial devido à interação elétron-elétron e \hat{V}_{ne} é o operador da energia potencial devido a interação núcleo - elétron. A função de onda $\psi_{(r,R)}$ depende das coordenadas de posição e de *spin* de todos N elétrons e M núcleos [20].

2.4.1 Aproximação de Borh – Oppenheimer

A equação diferencial (Equação 1) não possui resolução analítica para sistemas multieletrônicos, só pode ser resolvida pelo método da separação de variáveis para sistemas monoelétrônicos, isto é, para o átomo de hidrogênio e cátions hidrogenóides, sendo necessário usar métodos de aproximação [19].

Borh–Oppenheimer propôs uma aproximação que é empregada em quase todos os métodos para resolução da equação de Schrödinger. Esta aproximação leva em consideração que o núcleo é bem maior que o elétron. Portanto, o movimento do núcleo é devagar se comparado com o movimento dos elétrons, assim como uma boa aproximação, pode-se considerar que os elétrons movimentam-se em um campo fixo formado pelos núcleos [19,20].

Nesta aproximação o termo referente à energia cinética dos núcleos é desprezado, considerando que os núcleos estão fixos e o termo que corresponde à energia potencial de repulsão entre os núcleos é estimado constante. Resumindo o hamiltoniano multieletrônico, como pode ser visto na Equação 3 [21].

$$\hat{H} = T_e + V_{ee} + V_{ne} \quad (3)$$

2.4.2 Teoria do funcional da densidade (DFT)

Apesar de Born-Oppenheimer simplificar o operador Hamiltoniano, o termo da repulsão elétron-elétron não permite a resolução da Equação 1, sendo necessárias mais aproximações [19,20]. Dentre vários métodos propostos, tem-se o da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) cuja popularidade tem crescido nas últimas décadas, uma vez que demanda pouco tempo computacional e tem apresentado bons resultados [22,23,24].

O grande diferencial deste método consiste em ser baseado na função densidade eletrônica do sistema e não na complexa função de onda de N elétrons e a equação de *Schrödinger* [21]. Os primeiros a propor a substituição da função de onda por densidade eletrônica foram: Thomas em 1927 [25] e Fermi em 1928 [26]. O modelo proposto por eles não teve bom êxito na descrição de sistemas reais, até porque consideraram que os elétrons no sistema se comportavam como um gás de elétrons não interagentes, contudo foi a base para a DFT [20].

2.4.2.1 Teorema de Hohenberg e Kohn

Em 1964 Hohenberg e Kohn conseguiram provar que a densidade eletrônica podia ser considerada como uma variável fundamental, estes pesquisadores conseguiram isto mostrando que o potencial externo (v) e o número de elétrons de um sistema (n), podem ser determinados univocamente pela densidade eletrônica, sendo possível assim determinar energia do estado fundamental de qualquer sistema e também todas as suas propriedades eletrônicas. O que pode ser resumido como se segue [27]:

$$\rho(\mathbf{r}) \xrightarrow{HK} \left\{ \begin{array}{l} N \\ v(\mathbf{r}) \end{array} \right\} \rightarrow \hat{H} \rightarrow \Psi \rightarrow \text{todos os observáveis!!!} \quad (4)$$

Embora Hohenberg e Kohn tenha demonstrado que a energia de um sistema pode ser determinada através da densidade eletrônica, não demonstraram como determinar esta densidade e nem tão pouco a energia [27].

2.4.2.2 O método de Kohn-Sham

Em 1965 Kohn e Sham (KS) resolveram o problema prático para obter energia a partir da densidade, contudo em suas equações surgem um termo não clássico que foi denominado energia de correlação e troca. Como este termo não é conhecido, surge a necessidade de algum método de aproximação, sendo a aproximação híbrida uma opção que tem sido muito bem aceita [28].

2.4.2.3 Aproximação híbrida

O funcional híbrido é uma mistura de aproximações proposto por: Becker Lee, Yang e Parr [29, 30], definido por:

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - a_0 - a_x)E_x^{LSDA} + a_0E_x^{HF} + a_xE_x^{B88} + (1 - a_c)E_c^{VWN} + a_cE_c^{LYP}, \quad (5)$$

Onde: E_x^{LSDA} representa uma aproximação simples que considera a densidade local, desenvolvidos por Kohn e Sham, o termo E_x^{B88} [30] é o funcional de troca desenvolvido por Becker, E_x^{HF} é um funcional desenvolvido por Haartre–Focke o termo E_c^{VWN} denota o funcional de correlação desenvolvido por Vosko-Wilk-Nusair, E_c^{LYP} denota o funcional de correlação descrito por Lee, Yang e Parr [29]. Os valores das constantes obtidos pelo ajuste com os valores experimentais das energias de atomizações moleculares são: $a_0=0,20$, $a_x= 0,72$ e $a_c=0,81$ [20,21].

2.5 METODOS ESTATISTICOS

2.5.1 Estatística Multivariada

A estatística mostra-se, cada vez mais, como uma poderosa ferramenta para a análise e avaliação de dados. Sendo que a estatística multivariada refere-se a todos os métodos

estatísticos que concomitantemente analisam múltiplas medidas sobre cada indivíduo ou objeto sob investigação [40].

Embora tenha surgido por volta de 1901, apenas nos dias de hoje consegue-se desenvolver e aplicar essa técnica, pois sem o auxílio de programas computacionais não seria possível realizar tão rápido, e com tanta clareza os gráficos que possibilitam estudar o inter-relacionamento das variáveis [41].

Muitas técnicas multivariadas são extensões da análise univariada (análise de distribuição de uma única variável) e da análise bivariada (classificação cruzada, correlação, análise de variância e regressão simples usada para analisar duas variáveis). Dentre algumas técnicas multivariadas pode-se destacar a análise de componentes principais (PCA) [40].

2.5.2 Peso Fisher [42]

O Peso Fisher é uma técnica capaz de discriminar as variáveis mais significativas das variáveis menos significativa para as análises e é dado pela Equação 6, em que são consideradas duas classes: A e B. Utilizamos o Peso Fisher na escolha das variáveis das propriedades eletrônicas e geométricas para correlacionar com a atividade biológica das moléculas.

$$W_{AB}(i) = \frac{(\bar{X}_i(A) - \bar{X}_i(B))^2}{S_i^2(A) + S_i^2(B)} \quad (6)$$

Onde: i representa as amostras, \bar{X} é a média e S^2 a variância.

Se $S_i^2(A) + S_i^2(B)$ for pequeno e $(\bar{X}_i(A) - \bar{X}_i(B))^2$ for grande o valor de $W_{AB}(i)$ será grande, isto é, quanto maior a diferença entre as médias das classes A e B e quanto menor as variâncias dentro das classes, maior é o valor do Peso Fisher. Como variâncias menores e diferença de média maior são melhores para discriminação das classes, quanto maior o Peso Fisher maior a capacidade da variável na separação.

2.5.3 Análise de componentes principais (PCA)

A PCA é uma técnica estatística utilizada para resumir informações contidas em conjuntos multivariados, essa redução se dá pela obtenção de um novo conjunto de variáveis não correlacionadas, chamadas Componente Principais (PCs) [43].

O objetivo da análise é tomar p variáveis X_1, X_2, \dots, X_p e encontrar combinações destas para produzir índices Z_1, Z_2, \dots, Z_p que descreva a variação nos dados. A falta de correlação significa que os índices estão medindo diferentes "dimensões" dos dados, e a ordem é tal que $Var(Z_1) \geq Var(Z_2) \geq \dots \geq Var(Z_p)$, em que $Var(Z_1)$ denota a variância de (Z_1) . Os índices Z são então os componentes principais [44].

Uma análise de PCA começa com dados de p variáveis para n observações. A primeira PC é então a combinação linear das variáveis X_1, X_2, \dots, X_p , conforme Equação 7, que varia tanto quanto possível para o segundo PC, e os demais componentes principais, conforme Equação 8 [43].

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + \dots + a_{1p}X_p \quad (7)$$

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + \dots + a_{2p}X_p \quad (8)$$

Se existem p variáveis então existiriam no máximo p PCs. De fato para obter uma PCA é necessário determinar os autovalores de uma matriz de covariância amostral. Um conjunto formado por p variáveis e k amostra, representa k pontos em p dimensões, se p for maior que três não é possível a visualização gráfica. Uma das vantagens de utilizar a técnica de PCA é diminuir a dimensão dos dados originais [42].

2.6 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS E GEOMÉTRICAS

Os métodos quânticos são utilizados para otimizar as moléculas e calcular suas propriedades eletrônicas e geométricas a fim de avaliar a relação dessas propriedades com a atividade biológica das mesmas. Seguem definidas as seguintes propriedades calculadas para o grupo de moléculas que estão sendo analisadas nesse trabalho.

2.6.1 Momento dipolo

Pode ser definido como um vetor que mede a intensidade da densidade de carga que desloca em uma ligação formada por diferentes átomos. A eletronegatividade dos átomos que compõe a estrutura define a direção do momento de dipolo em uma molécula, o valor do momento dipolo é obtido pelo vetor resultante dos momentos de dipolo de cada ligação que compõe a molécula [31].

2.6.2 HOMO e LUMO

O HOMO, orbital molecular ocupado de maior energia, e o LUMO, orbital molecular não ocupado de menor energia, são parâmetros representativos da capacidade de perder elétrons (HOMO) e receber elétrons (LUMO) [32].

2.6.3 GAP (HOMO-LUMO)

A energia do GAP, calculada pela diferença de energia do HOMO e LUMO, é um índice de grande relevância na previsão de estabilidade da molécula. O valor alto do GAP indica molécula altamente estável, enquanto valores baixos indicam molécula pouco estável e conseqüentemente alta reatividade nas reações químicas [33].

2.6.4 Dureza

Dada por $\eta = 0,5 \times (\text{potencial de ionização} - \text{afinidade eletrônica}) \sim 0,5 \times (\text{HOMO} - \text{LUMO})$, a dureza, de acordo com a teoria do orbital molecular, corresponde à facilidade em rearranjar os elétrons após uma perturbação. Uma molécula é considerada dura se houver certa resistência ao rearranjo após uma perturbação e se não houver resistência ao rearranjo, a molécula é considerada mole [1].

2.6.5 Volume molar e área de superfície

São fatores estéricos relacionados com o tamanho da molécula e o espaço que as mesmas ocupam, causados pela troca de substituintes [31].

2.6.6 Refratividade

O índice de refração é uma medida quantitativa da refração de luz, sendo suas medidas as mais antigas em físico-química. Relacionada com a concentração relativa dos átomos e de seus arranjos no interior da molécula, é utilizada para determinar a concentração de soluções ou grau de pureza, identificar compostos químicos e auxiliar no entendimento de estruturas [32].

2.6.7 Ângulos internos

Os ângulos internos são formados por três átomos e é um importante parâmetro estérico no estudo da relação estrutura atividade da molécula, pois estão relacionados diretamente com a geometria da molécula. Geometria esta que pode interferir na atividade do fármaco com o seu receptor [42].

2.6.8 Cargas [45]

Neste trabalho, as cargas obtidas foram derivadas do potencial eletrostático utilizando CHELPG (cargas derivadas do potencial eletrostático usando o modelo de grade). Este método vem sendo utilizado com maior frequência em relação ao tradicional modelo proposto por Mullikan, uma vez que as cargas derivadas do potencial eletrostático superam alguns problemas apresentados pelo método de Mullikan, como dividir igualmente uma população de elétrons em uma ligação entre dois átomos.

As cargas ChelpG foram propostas por Breneman e por Wiberg. Esta análise utiliza o método de grade, onde se constrói um modelo em que a molécula é colocada em um

cubo e vários pontos são adicionados a sua estrutura. Após o procedimento de seleção de pontos, o potencial eletrostático de cada amostra é calculado analiticamente e as cargas que melhor representam este potencial eletrostático são obtidas.

As cargas derivadas do potencial eletrostático são ajustadas para reproduzir o potencial eletrostático ao redor da molécula. Como a interação inicial entre o substrato e sítio ativo se dá inicialmente através de uma interação eletrostática, as cargas obtidas a partir deste potencial eletrostático constituem um importante descritor no estudo da relação estrutura atividade.

2.6.9 Ordens de ligação

A ordem de ligação nos fornece uma perspectiva da densidade eletrônica entre dois átomos. Quanto maior a ordem de ligação, maior a densidade eletrônica entre os átomos, e mais forte será a ligação, o que leva a uma diminuição da distância interatômicas [1].

3 METODOLOGIA DE PESQUISA

Pesquisadores sintetizaram a ciano pirazolina e seus derivados análogos e fizeram testes *in vivo* em ratos para inibição da DPP IV [6]. Segue abaixo, na Tabela 1, os valores de IC₅₀ (micromol da substância necessária para inibir 50% da DPP IV) para cada composto testado.

Tabela 1 – Valores de IC₅₀ da ciano pirazolina e seus derivados análogos contra a DPP-IV

Compostos	IC ₅₀ , μM	Atividade
1	24,4	inativa
2	1,3	ativa
3	2,8	ativa
4	2,6	ativa
5	2,1	ativa
6	1,5	ativa
7	3,2	ativa
8	6,4	inativa
9	0,8	ativa
10	1,2	ativa
11	1,2	ativa
12	4,4	inativa

Fonte: [6]

Os pesquisadores consideraram ativas as moléculas cujo valor de IC₅₀ fosse de no máximo 4 μmol. Este critério foi adotado para as análises realizadas no presente trabalho.

3.1 EQUIPAMENTOS E SOFTWARES

Para realização da presente pesquisa foi feita uma parceria com o grupo de Química Teórica e Estrutural de Anápolis (QTEA) que tem á sua disposição mais de 25 microcomputadores dos quais tivemos a disposição para realização do trabalho 3 computadores. Estes computadores estão interligados e utilizam o sistema operacional Fedora9. Além do programa computacional do QTEA foram utilizados os seguintes softwares: GAUSSIAN 09 [34], HYPERCHEM 8.0 [35], Ensignt 3.0 e Microsoft Office Excel 2007.

3.2 PROCEDIMENTOS COMPUTACIONAIS

Foram construídas as moléculas de estudos no programa HYPERCHEM 8.0 e submetidas à pesquisa conformacional através do método quântico e semi empírico AM1 pelo mesmo programa. A pesquisa foi aplicada em todas as moléculas em seus eixos que apresentavam possíveis rotações.

3.2.1 Otimização das Moléculas

Foram selecionadas as moléculas que apresentaram menor energia nas análises conformacionais e otimizadas através do programa Gaussian 09 [34]. As otimizações foram realizadas com a teoria do funcional da densidade (DFT) e usando o funcional de troca e correlação híbrido B3LYP [36,37] com a função de base 6-31G* [38,39].

3.2.2 Cálculos dos parâmetros Geométricos e Eletrônicos

Através das moléculas otimizadas na etapa anterior foram calculadas, usando o pacote Gaussian09 e Hyperchem 8.0, as seguintes variáveis: momento dipolo (μ), orbitais HOMO e LUMO, energia do Gap (Δ), dureza (η), área de superfície, volume, refração, ângulos internos (A), cargas (C) e ordens de ligação (B).

3.2.3 Análise Estatística dos Dados

Com os valores das variáveis calculadas na etapa anterior, utilizando-se o programa Microsoft Office Excel 2007, construí-se uma tabela onde as linhas representam as amostras e as colunas representam as variáveis. Através dos dados da tabela calculou-se os Pesos de Fisher para se ter um visão preliminar de quais descritores eram mais relevantes para a separação das moléculas em ativas e inativas. Posteriormente, utilizando-se o programa Ensign 3.0, fez-se a Análise de Componentes Principais (PCA) dos dados.

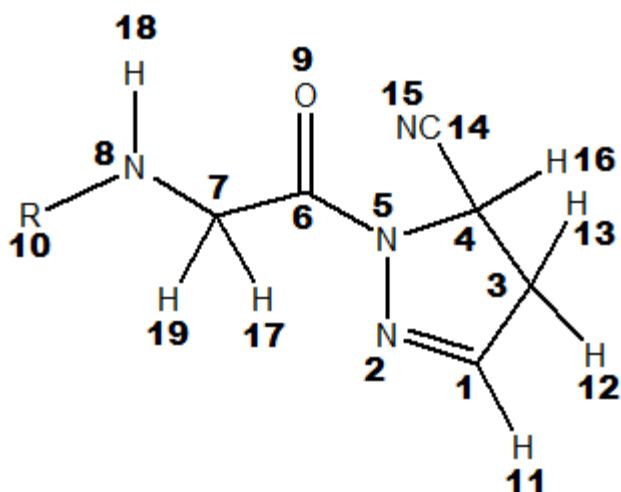
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE CONFORMACIONAL

A ciano pirazolina e seus derivados análogos apresentam conformações não planares devido aos eixos de rotação existentes nas ligações sigmas, o que nos permitiu realizar a análise conformacional das moléculas a fim de determinar a conformação mais estável.

A Figura 2 representa a estrutura base dos derivados análogos da ciano pirazolina, sendo o R representante dos radicais.

Figura 2 – Estrutura base dos derivados análogos da ciano pirazolina



4.2 ANÁLISES DAS PROPRIEDADES CALCULADAS

Para análise da relação estrutura e atividade das 12 moléculas como candidatas a futuros fármacos no tratamento do diabetes tipo II, foram calculadas 11 propriedades que serão analisadas a seguir.

4.2.1 Orbitais moleculares

Observa-se que na Tabela 2 as moléculas inativas, 1, 8 e 12, são as que possuem menores valores de energia do orbital HOMO e o maior valor pertence à molécula 9, a mais ativa. Para o orbital LUMO as moléculas inativas, 1, 8 e 12 estão entre as que possuem maiores valores de energia e a molécula 9, a mais ativa, está entre as moléculas de menores valores de energia do orbital LUMO. As maiores diferenças de energia GAP são das três moléculas inativas 1, 8 e 12, isto significa que são mais estáveis do grupo possuindo baixa reatividade. Sendo que o menor valor da energia GAP é da molécula 9, a mais ativa.

4.2.2 Dureza (η)

As moléculas que possuem maiores valores de resistência ao deslocamento da nuvem eletrônica são as três inativas 1, 8 e 12, sendo que a molécula mais ativa, 9, juntamente com a molécula 2 possuem menos resistência ao deslocamento da nuvem eletrônica conforme observado na Tabela 2.

Tabela 2—Valores de energias dos orbitais moleculares (HOMO E LUMO), GAP (Δ) e dureza (η) obtidos a nível de teoria B3LYP/6-31G*.

Moléculas	Homo	Lumo	Gap(Δ)	Dureza (η)
1	-0.218	-0.036	-0.182	0.091
2	-0.181	-0.045	-0.136	0.068
3	-0.213	-0.040	-0.173	0.087
4	-0.211	-0.039	-0.172	0.086
5	-0.212	-0.036	-0.176	0.088
6	-0.210	-0.041	-0.169	0.085
7	-0.211	-0.041	-0.170	0.085
8	-0.239	-0.038	-0.201	0.101
9	-0.179	-0.044	-0.135	0.068
10	-0.187	-0.045	-0.142	0.071
11	-0.185	-0.034	-0.151	0.076
12	-0.226	-0.04	-0.186	0.093

4.2.3 Momento dipolo (μ)

De acordo com a Tabela 3 a molécula que apresentou maior momento dipolo foi a molécula 9, sendo portanto a mais polar e mais ativa das 12 moléculas analisadas. As moléculas 1, 3, 4, 8 e 11 apresentaram menores valores de momento dipolo (na faixa menor que 5 debye), portanto são menos polares.

4.2.4 Volume molar e Área de superfície

Pode-se observar na Tabela 3 que o volume e a área são diretamente proporcionais. Constatando que a molécula 1 é a menor das 12 analisadas e a molécula 11 é a maior.

4.2.5 Refratividade

Como mostra a Tabela 3, à medida que os efeitos estéricos (volume e área) aumentam a refratividade também aumenta o que era de se esperar, visto que a refratividade está relacionada à massa molar.

Tabela 3–Momento de dipolo(μ); obtidas a nível de teoria B3LYP/6-31G*. Área de superfície, volume molar, e refratividade foram calculadas pela rotina do pacote Hyperchem 7.5.

Moléculas	Momento Dipolo (μ)	Área de superfície(Å^2)	Volume molar(Å^3)	Refratividade(Å^3)
1	4.8101	412.16	669.65	56.50
2	5.8675	445.63	700.52	59.73
3	4.9402	462.57	747.59	62.84
4	4.6551	506.90	834.20	72.04
5	5.5555	468.52	759.12	66.33
6	6.0282	487.67	831.37	74.42
7	5.7033	490.16	836.03	78.15
8	4.3283	503.56	874.93	81.15
9	7.0427	548.26	906.98	83.45
10	6.2572	550.97	906.37	82.77
11	4.4602	663.62	1065.41	99.36
12	5.9459	631.32	1052.83	95.78

4.2.6 Ângulos internos

Conforme verificado na Tabela 4 os ângulos internos obtidos estão na faixa de 112° á 128°. Ocorrendo maior variância no ângulo A5 devido à mudança de radicais. Analisando as possibilidades de hibridização é possível verificar, que os valores dos ângulos obtidos condizem com a teoria. Tomando como exemplo o ângulo A1 vemos na Figura 2 que o carbono possui hibridização sp^2 formando uma geometria trigonal cujo ângulo é de aproximadamente 120°.

Tabela 4—Ângulos obtidos a nível de teoria B3LYP/6-31G*. Todos os valores estão em graus (°).

Moléculas	A1 (2, 1, 11)	A2 (3, 4, 14)	A3 (4, 5, 6)	A4 (5, 6, 7)	A5 (7, 8, 10)
1	120.00121	112.02823	127.38613	115.62165	117.7222
2	119.95788	112.35427	122.92672	116.53263	120.17714
3	119.99045	112.49355	122.84751	117.15407	116.25703
4	119.97443	112.29767	122.62353	116.96775	116.35488
5	119.95464	111.79308	127.59724	115.45924	116.06568
6	120.02427	112.47688	122.57715	116.58276	117.96
7	120.0228	112.43832	122.58116	116.64202	118.11128
8	119.89587	112.62175	121.83194	116.89534	117.46358
9	119.92557	112.01852	127.51112	115.49304	117.09892
10	119.91793	112.05873	127.51653	115.54377	117.14236
11	119.94556	112.16627	128.05932	116.01827	115.36893
12	119.94138	112.05505	128.0429	115.83409	114.98882

4.2.7 Cargas

Observa-se na Tabela 5 que todas as moléculas possuem densidade de cargas negativas nos átomos 2, 8, 9 e 15, o que era de se esperar devido ser elementos muito eletronegativos. O átomo 5 apesar de também ser um elemento muito eletronegativo apresenta densidade de cargas positivas e outras negativas, o que pode ser explicado devido a ressonância que ocorre com a carbonila deixando os elétrons deslocalizados.

Tabela 5–Cargas atômicas (C), derivadas do potencial eletrostático com método CHELPG, obtidas a nível de teoria B3LYP/6-31G*.

Moléculas	C1	C2	C3	C4	C5	C6
1	0.171055	-0.357824	-0.062318	0.198169	0.020083	0.305806
2	0.256155	-0.464666	-0.176422	0.300602	0.052233	0.343186
3	0.254893	-0.483411	-0.189922	0.306471	0.086168	0.263465
4	0.251108	-0.463822	-0.166912	0.304979	0.033821	0.36287
5	0.190919	-0.374007	-0.066925	0.252345	-0.00733	0.428186
6	0.194086	-0.415882	-0.118338	0.253568	0.091151	0.28783
7	0.192069	-0.405376	-0.132325	0.224861	0.101976	0.269342
8	0.189432	-0.34649	-0.108383	0.279135	-0.031836	0.426857
9	0.190463	-0.369895	-0.053792	0.250537	-0.005001	0.398654
10	0.194895	-0.374277	-0.054794	0.221943	0.002	0.413275
11	0.19533	-0.369724	-0.048433	0.242831	-0.027675	0.487101
12	0.184342	-0.366271	-0.034916	0.238645	-0.024334	0.468403

Moléculas	C7	C8	C9	C10	C11	C12
1	0.48378	-0.920825	-0.439971	0.720521	0.079102	0.052976
2	0.361709	-0.73242	-0.480609	0.248278	0.071617	0.069931
3	0.547982	-0.91709	-0.484141	0.327559	0.072	0.068135
4	0.418035	-0.896841	-0.476147	0.555833	0.069453	0.066838
5	0.274848	-0.914036	-0.450851	0.611447	0.074006	0.043566
6	0.214815	-0.847979	-0.470077	0.488386	0.07974	0.051583
7	0.253805	-0.832348	-0.465271	0.375239	0.080662	0.059713
8	0.075543	-0.503404	-0.482229	0.570653	0.080089	0.058778
9	0.216164	-0.694504	-0.455241	0.064006	0.31221	0.043806
10	0.194497	-0.685786	-0.459988	0.045995	0.073924	0.046201
11	0.061883	-0.734764	-0.465166	0.440973	0.067261	0.039308
12	0.096336	-0.731999	-0.461077	0.427148	0.073509	0.037093

Moléculas	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C19
1	0.051421	0.255347	-0.399648	0.001828	-0.080034	0.337507	-0.038564
2	0.076097	0.223627	-0.394387	0.021664	-0.01921	0.371322	-0.005113
3	0.081235	0.215907	-0.395581	0.021963	-0.057699	0.359928	-0.044017
4	0.072433	0.217777	-0.395232	0.01777	-0.06282	0.33584	-0.009457
5	0.055967	0.203946	-0.382551	0.000418	0.015171	0.377025	-0.064471
6	0.067937	0.22266	-0.395335	0.035111	0.042349	0.380917	0.02544
7	0.073578	0.235592	-0.398692	0.045231	0.034473	0.338696	0.01441
8	0.061922	0.210223	-0.392309	0.037088	0.017554	0.237263	0.01376
9	0.052219	0.211437	-0.385564	-0.004399	0.035202	0.328092	0.00142
10	0.054735	0.221587	-0.38859	0.005403	0.04136	0.330228	0.005071
11	0.049313	0.209612	-0.39331	0.011273	0.025037	0.342524	0.054285
12	0.047191	0.215302	-0.391376	0.005316	0.022835	0.331366	0.040265

4.2.8 Ordens de ligação

A ligação é classificada como simples se o valor da ordem de ligação estiver em torno de um, dupla se este valor for aproximadamente dois e de caráter ressonante se for em torno de 1,5 e tripla se o valor for de aproximadamente 3.

Os resultados obtidos a nível de teoria B3LYP/6-31G* comprovam a eficácia dos cálculos computacionais. Pode ser verificado nas observações feitas abaixo, com base nos dados da Tabela 6 e a Figura 2, que os resultados condizem com as estruturas das moléculas analisadas.

- a ordem de ligação entre os átomos 1 e 2 é aproximadamente 2. Tendo como base os resultados teóricos conclui-se que todas as moléculas possuem ligação dupla entre esses átomos.
- já entre os átomos 6 e 9 os valores estão próximos de 1,5 devido a ressonância que ocorre entre a carbonila e o nitrogênio.
- e entre os átomos 14 e 15 os valores estão próximos de 3 devido a tripla ligação do carbono e o nitrogênio. Os demais átomos estão com valores próximos de 1 o que indica que possuem ligações simples. Conclui que assim todas as demais ordens calculadas, os resultados do cálculo computacional foram coerentes com a estrutura.

Tabela 6–Descrição de ordens de ligação obtidas a nível de teoria B3LYP/6-31G*.

Moléculas	B1, 2	B1, 3	B1, 11	B2, 5	B3, 4	B3, 12
1	1.8569	1.0133	0.9045	1.0737	0.9808	0.8916
2	1.834	1.0189	0.9056	1.0796	0.981	0.8911
3	1.8338	1.0184	0.9062	1.0822	0.981	0.8927
4	1.8335	0.0085	0.9063	1.0821	0.9811	0.8917
5	1.8566	1.0138	0.9044	1.0747	0.9801	0.892
6	1.8257	1.0195	0.9064	1.0855	0.9807	0.8933
7	1.8254	1.0194	0.9064	1.0854	0.9808	0.8929
8	1.8349	1.0195	0.9052	1.0759	0.9806	0.89
9	1.8584	1.0142	0.9035	1.0695	0.9806	0.8908
10	1.8587	1.0142	0.9033	1.069	0.9806	0.8907
11	1.8555	1.0142	0.9046	1.0762	0.9798	0.892
12	1.8565	1.0142	1.0282	1.0743	0.98	0.8916

Moléculas	B3, 13	B4, 5	B4, 14	B4, 16	B14, 15	B5, 6
1	0.8956	0.9256	1.0271	0.8632	2.9183	1.0774
2	0.8934	0.9187	1.0288	0.8567	2.9213	1.1098
3	0.8933	0.9168	1.03	0.8574	2.9198	1.1013
4	0.8943	0.9195	1.0287	0.8567	2.9205	1.1028
5	0.895	0.925	1.0274	0.864	2.9194	1.0825
6	0.8923	0.9189	1.0305	0.8572	2.9195	1.0863
7	0.8926	0.919	1.0302	0.8571	2.9196	1.0869
8	0.8937	0.9181	1.0306	0.8554	2.9201	1.1066
9	0.8944	0.9242	1.0276	0.8626	2.9203	1.0949
10	0.8943	0.924	1.0276	0.8625	2.9202	1.0965
11	0.895	0.9242	1.0289	0.862	2.9196	1.0813
12	0.8945	0.9245	1.0282	0.8627	2.92	1.0839

Moléculas	B6, 7	B6, 9	B7, 8	B7, 17	B7, 19	B8, 10	B8, 18
1	0.9596	1.7259	1.0191	0.9017	0.8877	0.9593	0.7984
2	0.98	1.6838	0.9928	0.8816	0.889	1.0951	0.7795
3	0.9654	1.6824	1.0154	0.8989	0.883	0.9847	0.8034
4	0.9811	1.6851	1.0086	0.8814	0.8909	0.9818	0.7984
5	0.9752	1.7256	1.0126	0.8915	0.8882	1.0001	0.7883
6	0.9556	1.6987	1.0084	0.9005	0.8956	0.9845	0.8073
7	0.9561	1.6985	1.0076	0.901	0.8957	0.9845	0.8062
8	0.9674	1.6985	0.979	0.9012	0.9004	0.9566	0.8086
9	0.9596	1.6916	1.0268	0.8974	0.8881	0.9898	0.8058
10	0.9596	1.69	1.0264	0.8972	0.8881	0.991	0.8055
11	0.9753	1.7259	1.0124	0.8796	0.9027	0.9761	0.7888
12	0.9751	1.7244	1.0116	0.8804	0.9013	0.9743	0.788

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados das propriedades calculadas foram relacionados com a atividade apresentada pelos compostos no tratamento do diabetes tipo II. Foram usadas as seguintes técnicas para realização dessa análise: pesos de Fisher e análise de componentes principais (PCA), os softwares utilizados foram: Microsoft Office Excel 2007 e o Ensign 3.0.

4.3.1 Análises da atividade no tratamento do diabetes tipo II

Utilizou-se os pesos de Fisher para se ter uma visão preliminar de quais variáveis eram importantes para separação das moléculas em ativas e inativas. Os resultados obtidos através dessa técnica podem ser verificados na Tabela 7.

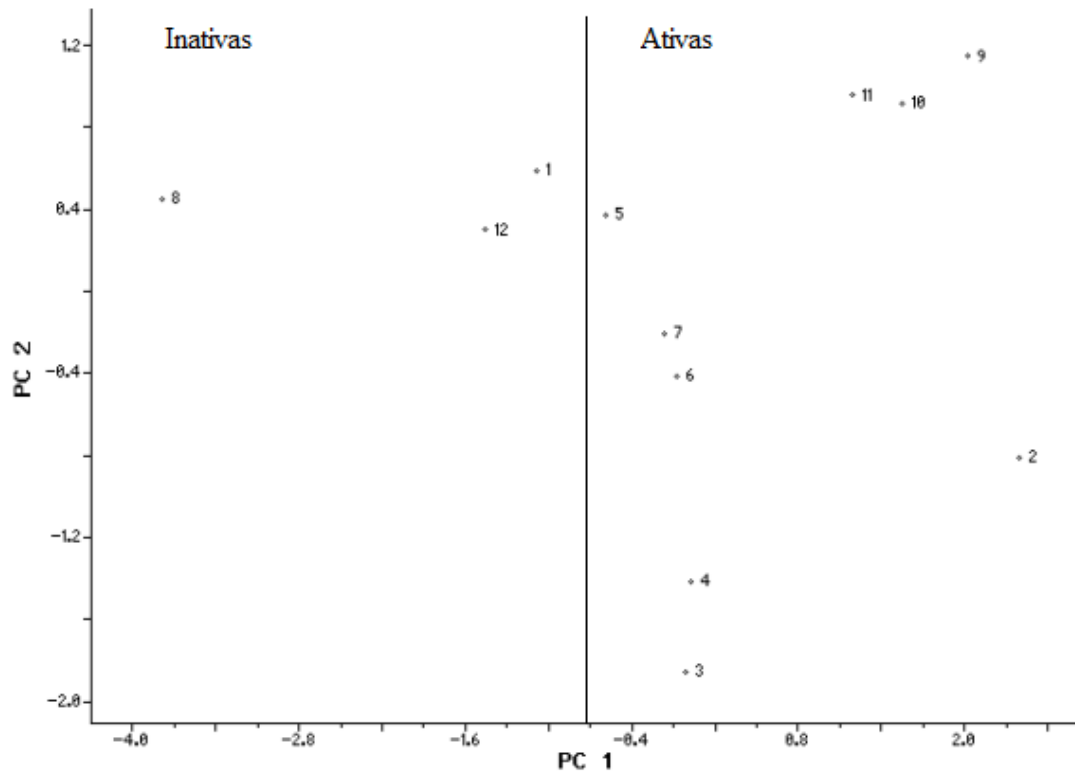
Tabela 7 – Pesos de Fisher.

Variáveis	Peso Fisher	Variáveis	Peso Fisher	Variáveis	Peso Fisher
μ	0.255	C5	0.699	B1, 11	0.495
Homo	3.199	C6	0.087	B2, 5	0.223
Lumo	0.339	C7	0.096	B3, 4	0.083
Δ	0.920	C8	0.178	B3, 12	0.386
η	0.920	C9	0.087	B3, 13	0.253
Área de superfície	0.000	C10	1.096	B4, 5	0.085
Volume Molar	0.012	C11	0.100	B4, 14	0.000
Refratividade	0.012	C12	0.114	B4, 16	0.015
A2, 1, 11	0.078	C13	0.676	B14, 15	0.377
A3, 4, 14	0.008	C14	0.185	B5, 6	0.109
A4, 5, 6	0.021	C15	0.179	B6, 7	0.022
A5, 6, 7	0.016	C16	0.000	B6, 9	0.769
A7, 8, 10	0.034	C17	0.056	B7, 8	0.226
C1	1.231	C18	0.872	B7, 17	0.067
C2	1.445	C19	0.056	B7, 19	0.473
C3	0.431	B1, 2	0.088	B8, 10	0.987
C4	0.271	B1, 3	0.142	B8, 18	0.011

Analisando a Tabela 7 verifica-se que a maioria das variáveis apresentou valores baixos de Peso Fisher (menor que 0,8). Deste modo, para este trabalho, foram consideradas significativas as variáveis com peso Fisher maior que 0,8, sendo elas: HOMO, GAP (Δ), dureza (η), C1, C2, C10, C18 e B8,10. Dessa forma a matriz de dados que inicialmente tinha 51 variáveis foi reduzida para 8 variáveis.

Utilizando-se da técnica de PCA foram testadas várias combinações, partindo das variáveis pré-selecionadas pelo peso de Fisher, com o objetivo de encontrar os descritores que pudessem separar as moléculas em duas classes: ativas e inativas. Os descritores: HOMO, GAP (Δ), dureza (η) e C2 foram os que proporcionaram o resultado mais satisfatório. A Figura 3 mostra o resultado da composição da PC1 e PC2 em função das amostras.

Figura 3 – Representação gráfica dos scores obtidos usando o programa Ensign 3.0.



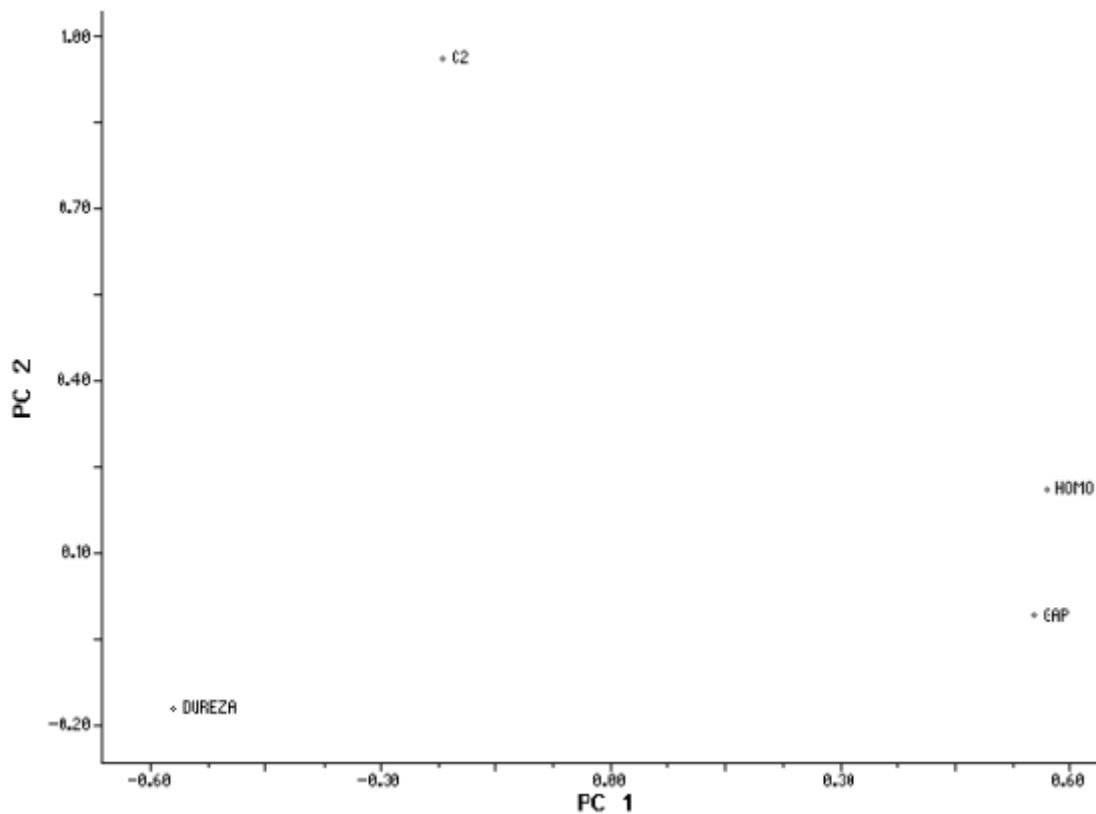
A primeira componente explica 72,185% (Tabela 8) da variância total dos dados. Considerando as duas componentes o resultado constituiu para 95,288%.

Tabela 8–Porcentagem de variância explicada pelas componentes principais obtidos pelo programa Ensign 3.0.

Componentes	Porcentagem Individual	Porcentagem acumulada
PC_01	72,185	72,185
PC_02	23,103	95,288

A Figura 4 mostra que a variável de maior peso, na primeira componente, é o HOMO, sendo que a variável C2 não possui peso significativo nessa componente, no entanto é a variável de maior peso na segunda PC. Podendo ser confirmado também na Tabela 9.

Figura 4 – Representação gráfica dos loading obtidos usando o programa Ensignht 3.0.



De acordo com os valores obtidos na Tabela 9 pode-se escrever a combinação linear da primeira componente que é a responsável pela separação, conforme apresentado na Equação 9.

Tabela 9 - Loading das variáveis para as componentes obtidas pelo programa Ensignht 3.0.

Variáveis	PC_01	PC_02
HOMO	0,5677	0,2118
GAP	0,5511	- 0,0098
Dureza	- 0,5705	- 0,1698
C2	- 0,2200	0,9624

$$PC1 = 0,5677(HOMO) + 0,5511(GAP) - 0,5705(Dureza) - 0,22(C2) \quad (9)$$

Como visto na Figura 3, para que as moléculas sejam ativas é interessante valores positivos de PC1, então analisando a Equação 9 percebe-se que:

A variável HOMO que possui importante peso (Tabela 9) tem sua energia diretamente relacionada com a susceptibilidade da molécula para o ataque de eletrófilos. Sendo os eletrófilos espécies com densidades de cargas positivas, com afinidade por espécies com densidades de cargas negativas [33]. Aumentar, portanto a energia do HOMO significa aumentar esta susceptibilidade ao ataque eletrófilo, se a molécula é susceptível ao ataque eletrófilo ela deve apresenta regiões com densidade de cargas negativas. Visto que os valores de energias do HOMO são negativos (Tabela 2), em módulo, seria necessário diminuir os valores de HOMO (aumentando, portanto a energia) para que as moléculas façam parte do grupo das ativas.

A variável GAP, que representa a diferença HOMO – LUMO implica na reatividade da molécula. A grande diferença HOMO - LUMO provoca alta estabilidade para a molécula, no sentido de sua menor reatividade em reações químicas. Como os valores para essa variável são negativos, é necessário diminuir a diferença energética entre os orbitais HOMO e LUMO para que as moléculas façam parte do grupo das ativas. O que indica que para as moléculas serem ativas precisa apresentar reatividade.

A variável dureza, que está relacionada com a reatividade da molécula (quanto menos rígida a molécula mais reativa será) possui valores positivos. Para que as moléculas façam parte do grupo das ativas é necessário diminuir os valores dessa variável. Ficando evidente que para a molécula ser mais ativa precisa ter menos resistência ao deslocamento da nuvem eletrônica, portanto sendo mais reativa e estando em conformidade com a análise feita para o GAP.

A variável C2 que representa carga sobre o átomo 2, possui valores negativos, permitindo então afirmar que deve-se aumentar, em módulo, os valores dessa variável, isto é aumentar a densidade de cargas negativas, para que as moléculas façam parte do grupo das ativas.

5 CONCLUSÃO

Os resultados dos cálculos teóricos usando a teoria do funcional da densidade (DFT) com o funcional de troca e correlação híbrido B3LYP e o conjunto de base 6-31G* mostram-se adequados na determinação dos descritores estéricos e eletrônicos dos derivados análogos da ciano pirazolina. Usando a Análise de Componentes Principais (PCA), foi possível discriminar os descritores que estão correlacionados com a atividade no tratamento do diabetes tipo II.

Os descritores que melhor discriminaram as moléculas em duas classes (ativas e inativas) foram: energia do HOMO, GAP, dureza e a carga sobre o átomo 2. Sendo que baixos valores de GAP e dureza, como previsto na equação 9, estão relacionados com alta reatividade das moléculas, portanto conforme resultados obtidos, com baixos valores de GAP e dureza pode-se prever que ocorra reação entre a droga e o receptor.

O HOMO está relacionado à susceptibilidade do ataque de eletrófilos, que provavelmente seja na região do átomo 2. Uma vez que pela análise da equação 9 é interessante que a região do átomo 2 possua altas densidades de cargas negativas, o que é coerente com ataque eletrofílico e indica que provavelmente estabelece uma interação ou forme uma ligação nesta região.

Com base nesses dados chega-se a conclusão que é possível que a interação entre a droga e o receptor ocorra através de transferência de cargas ou por formação de ligação na região do átomo 2. Onde pode-se prever que uma molécula para ser mais ativa no combate ao diabetes tipo II, é interessante que tenha um elemento muito eletronegativo nessa região.

Não é fácil prever a interação droga-receptor, portanto vale lembrar que o processo de descoberta de um novo fármaco deve ser interativo, onde os testes experimentais induzem aos estudos químicos quântico quimiométricos que melhoram o entendimento sobre determinados compostos, propondo uma nova molécula mais eficiente, que novamente deve se submeter a novos testes experimentais.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CAMARGO, J.C. **Estudo químico-quântico da relação estrutura atividade de compostos neolignânicos e derivados análogos contra E. coli e P.brasiliensis.** 1998. 147 f. Dissertação (Mestrado em Físico Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.
- [2] TAVARES, L.C. QSAR: A abordagem de Hansh. **Química Nova.** v.27, p.631-639, 2004.
- [3] MATI, K.; LABONOV, V.S. Quantum-Chemical Descriptors in QSAR/QSPR Studies. **Journal American Chemical Society.** v.96. p.1027-1043, 1996.
- [4] MONTEIRO, M. T. R. V. L. **Diabetes Mellitus uma epidemia do século XXI. Como evitar e tratar esta situação.** 18 f. Dissertação (Mestrado integrado em Medicina) – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto, 2011.
- [5] UZINIAN, Armênio et al. **Biologia 2.** 3 ed. São Paulo: Harbra, 2005.
- [6] AHN, J. H., et al. Synthesis and DPP-IV inhibition of cyano-pyrazoline derivatives as potent anti-diabetic agents. **Science direct**, jul. 2004.
- [7] FILHO, Pedro Lins Palmeira; PAN, Simon ShiKoo. Cadeia farmacêutica no Brasil: avaliação preliminar e perspectivas. **BNDES Setorial**.out. 2003.
- [8] HAMMETT, L. P. “**Physical organic chemistry: reaction rates, equilibria, and mechanisms**”, 1 ed. McGraw Hill. USA, 1940.
- [9] KUBINYI, H. QSAR: Hansch analysis and related approaches. 1 ed. **New York**, 1993.
- [10] CARVALHO M. A. **Aplicações de Metodologias Teóricas em Estudos de QSAR-3D de Piridinas Substituídas.**2004. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

- [11] Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos, **Química Medicinal**, Editora ArtMed Ltda.: Porto Alegre, 2001.
- [12] CRUCIANI, G., CLEMENTI, S., PASTOR, M., **GOLPE-guided region selection, Perspectives in Drug Discovery and Design**, v. 12, n. 2, p. 71-86, jan. 1998.
- [13] PERUN, T. J.; PROST, C. L.; **Computer-Aided Drug Design: Methods and Applications**; Dekker; USA, 1989.
- [14] MONTANARI, C. A., BOLZANI, V. S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais, **Química Nova**, vol. 24, n. 1, p. 105-111, jan. 2001.
- [15] CAVALCANTI, Ney.; LINS, Daniel da costa. O papel dos hormônios intestinais no controle glicêmico. **Diabetes na Prática Clínica**, e - Book. 2011.
- [16] Organização Mundial da Saúde. **Diabetes**, 2013.
- [17] Sociedade Brasileira de Diabetes. **Tipos de diabetes**, São Paulo, 2013.
- [18] CAMARGO, A.J.; NAPOLITANO, H.B.; OLIVEIRA, S.S. Método de Química Quântica Computacional Aplicado a Modelagem Molecular. **Estudos**. V. 32, p.1223-1252, 2005.
- [19] SZABO, A.; OSTULAND, n. s.; **Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory**. New York, Macmillan, 446p, 1982.
- [20] CAMARGO, A.J.; **Estudo Químico-Quântico ab initio e Semi Empírico de Compostos Inorgânicos e orgânicos com possíveis aplicações tecnológicas**. 2001. 221 f Tese (Doutorado)- Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2001.
- [21] LEVINE, I.N. **Quantum chemistry**. 5.th. New York, Prentice Hall, p.709, 199.
- [22] MARTINS, Gabriel R.; NAPOLITANO, Hamilton B.; CAMARGO, Lilian T. F. M.; CAMARGO, Ademir J. Structure-activity relationship study of rutaecarpine analogous active

against central nervous system cancer. **Journal of the Brazilian Chemical Society** (Impresso), v. 23, p. 2183-2190, 2013.

[23] SILVA, Valter H.C.; MARTINS, Marcos P.; OLIVEIRA, Heibbe C.B de.; CAMARGO, Ademir J. Theoretical investigation of nitric oxide interaction with aluminum phthalocyanine. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, v. 29, p. 777-783, 2011.

[24] CAMARGO, L. T. F. M.; SENA, M. M.; CAMARGO, A. J. A quantum chemical and chemometrical study of indolo [2,1-b] quinazoline and their analogues with cytotoxic activity against breast cancer cells. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 20, p. 537-549, 2009.

[25] THOMAS, L. H. The calculation of atomic fields. **Proc. Cam. Phil. Soc.**, v.23, p.542-548, 1927.

[26] FERMI, E. A statistical method for the determination of some atomic properties and the application of this method to the periodic system of elements. **Z.Phys.** v.48, p.73-79, 1928.

[27] HONENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous electron gas. **Physics Rev.** v.136, p. B864, 1964.

[28] KOHN, W.; SHAM, L.J. **Physics Rev.**, v.136, p. A1133-1138, 1965.

[29] LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. **Phys. Rev.** 785, 1988.

[30] BECKE, A. D. **Phys. Rev.** A38, 3098, 1988.

[3] COSTA, M. C. A.; **Relação entre a estrutura química de Neolignanas e a sua atividade anti-Leishmaniose, envolvendo cálculo de Solvatação.** 1998. 183 f. Tese (Doutorado)-Universidade Estadual de Campinas, 1998.

[32] ATKINS, Peter et al. **Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente.** Tradução Ricardo Bicca de Alencastro. 3 ed. Porto Alegre: Bookman, 2006.

- [33] MATI, K.; LABONOV, V.S. Quantum-Chemical Descriptors in QSAR/QSPR Studies. **American Chemical Society**.v.96.p.1027-1043,1996.
- [34] FRISCH, M. J. Gaussian 03, Revision B.04, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.
- [35] HYPERCHEM. Molecular Visualization and Simulation. **Ontario, Hypercub**,1995.
- [36] A. D. BECKE, **Phys. Rev. A****38**, 3098, 1988.
- [37] C. LEE, W. YANG, AND R. G. PARR, **Phys. Rev. B****37**, 785 1988.
- [38] A. PETERSSON AND M. A. AL-LAHAM, **J. Chem. Phys.****94**, 6081, 1991.
- [39] G. A. PETERSSON, A. BENNETT, T. G. TENSFELDT, M. A. AL-LAHAM, W. A. SHIRLEY, AND J. MANTZARIS, **J. Chem. Phys.****89**, 2193, 1988.
- [40] HAIR, Joseph F. et al. **Análise multivariada de dados**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 1998.
- [41] VINICI, Lorena. **Análise multivariada da teoria a prática**. 2005. 215 f. Monografia (Especialização em Estatística) – Especialização, Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2005.
- [42] CAMARGO, L. T. F. M. **Estudo teórico da relação estrutura atividade da indolo [2,1b] quinazolina e seus derivados análogos contra o câncer de mama**. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) - Ciências Exatas e Tecnológica, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2008.
- [43] WAGNER, Rafael Ramos. **Monitoramento estatístico de processos baseado em análises de componentes principais (PCA) e cartas de controle**. 2011. 30 f. Monografia (Graduação em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

[44] ARAUJO, Wagner Oliveira de. **Análise de componentes principais (PCA)**. 2009. 11 f. Relatório Técnico (Mestrado Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente) – Centro Universitário de Anápolis, 2009.

[45] BORGES, E. G. **Estudo da relação estrutura química e atividade biológica em compostos anti-úlcera**. 1998. 207 f. Dissertação (Mestrado em Físico Química)- Universidade Estadual de Campinas, 1998.