

# Estudos Teóricos da Influência da Quiralidade de Compostos Paladaciclos, que Apresentam Atividade Anti-tumoral, em Possíveis Rotas de Hidrólise

Tatiane F. Moraes<sup>1</sup> e Kaline Coutinho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Mogi das Cruzes/CIIB, CP 411, 08701-970, Mogi das Cruzes, SP, Brasil, tatianefm@umc.br

<sup>2</sup>Instituto de Física da USP, CP 66318, 05315-970, São Paulo, SP, Brasil, kaline@if.usp.br

**Resumo-** Alguns compostos paladaciclos têm sido sintetizados e bastante estudados experimentalmente, na Universidade de Mogi das Cruzes. Os resultados desses estudos mostraram que os compostos paladaciclos têm ação antitumoral *in vitro* e *in vivo* com a existência de enantioselectividade. Estudamos possíveis rotas de hidrólise dos enantiômeros R(+) e S(-) derivado da N,N-dimetil-1-fenetilamina utilizando cálculos quânticos para auxiliar no entendimento de sua diferenciação na atividade biológica. Primeiramente, realizamos cálculos quânticos para determinar a geometria, a energia interna e a distribuição eletrônica dos enantiômeros isolados. Analogamente, analisamos o processo de hidrólise envolvendo as quatro ligações do paládio. Como principal conclusão, obtivemos uma quebra energeticamente favorável da ligação Pd-C para o enantiômero S(-) podendo ser um fator importante para a explicação da atividade biológica do enantiômero S(-) ser mais ativa em células antitumorais comparada ao enantiômero R(+).

**Palavras-chave:** Cálculos quânticos, simulação computacional, efeito solvente e enantioselectividade.

**Área do Conhecimento:** Ciências Exatas e da Terra.

## Introdução

Os estudos teóricos vêm desempenhando um importante papel nas áreas biológicas, química e médica, através deles podemos compreender melhor alguns mecanismos biológicos e químicos, que não são identificados experimentalmente através da análise microscópico das interações moleculares. Nos últimos anos, a pesquisa sobre compostos paladaciclos através de estudos teóricos estão se tornando cada vez mais freqüentes no meio científico (IADOCICCO, 2005).

Paladaciclos são compostos organometálicos que possuem uma ligação covalente C-Pd, e uma ligação covalente dativa N→Pd, com a formação de um ciclo. Alguns enantiômeros quirais R(+) e S(-) do paladaciclo derivado da N,N-dimetil-1-fenetilamina (representados na Figura 1) têm sido sintetizados e estudados, nos laboratórios da Universidade de Mogi das Cruzes pelo Prof. Antônio C. F. Caíres (CAÍRES et al., 1999) Esses estudos foram tão promissores que originou uma patente aprovada pelo Instituto Nacional de Propriedade Industrial.

Em análises experimentais (DHEHER, 2003) essas moléculas mostraram uma significativa enantioselectividade o qual o enantiômero S(-) apresenta uma atividade antitumoral impedindo de forma significativa a formação de tumor *in vitro*, enquanto o enantiômero R(+) mostrou-se inativo nas mesmas condições.

Estamos utilizando técnicas de modelagem molecular: cálculos quânticos e simulações computacionais, para estudar possíveis diferenças nas rotas de hidrólise dos enantiômeros R(+) e

S(-) de derivados da N,N-dimetil-1-fenetilamina em meio biológico, que possam fornecer subsídios para elucidar a enantioselectividade desses compostos e conseqüentemente um melhor entendimento de sua atividade biológica.

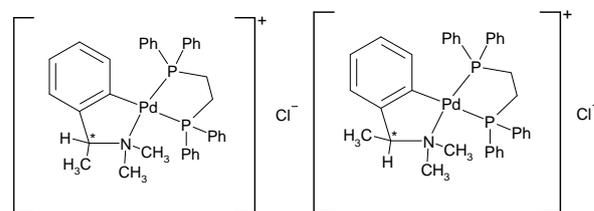


Figura1: Representação esquemática dos enantiômeros que serão estudados na forma iônica:  $[Pd(S(-), C^2, N-dmpa)](dppe)Cl$  e  $[Pd(R(+), C^2, N-dmpa)](dppe)Cl$ . O asterisco identifica o carbono quiral e Ph representa, por simplificação, o grupo fenil.

## Metodologia

Para estudarmos as rotas de hidrólise dos compostos paladaciclos, estamos utilizando métodos híbridos que utilizam mecânica quântica e simulações computacionais, conhecidos como QM/MM. Em particular o método S-QM/MM proposto em nosso grupo de pesquisa (COUTINHO et al., 1997) e que vêm obtendo bons resultados quando aplicados no estudos de propriedades eletrônicas e estruturais de líquidos moleculares (RIVELINO et al., 2005). Esse método utiliza seqüencialmente o método Monte Carlo (ALLEN et al., 1987) para simulação de líquidos e cálculos quânticos para determinar as propriedades eletrônicas.

O método utilizado para a simulação é o Monte Carlo com amostragem de Metropolis, implementado no programa DICE (COUTINHO et al., 2000). O potencial intermolecular entre duas moléculas *a* e *b* é representado pela equação 1 e recebe o nome de potencial de Lennard-Jones (LJ) e Coulomb. Esse potencial foi escolhido por ser o mais utilizado para descrever as interações das partículas em sistemas líquidos:

$$U_{ab} = \sum_{i \in a} \sum_{j \in b} 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j e^2}{r_{ij}}$$

onde *i* são os sítios de interação da molécula *a* e *j* da molécula *b*,  $\epsilon_{ij} = (\epsilon_i \epsilon_j)^{1/2}$ ,  $\sigma_{ij} = (\sigma_i \sigma_j)^{1/2}$  e  $\epsilon_i$ ,  $\sigma_i$  e  $q_i$  são três parâmetros associados a cada sítio de interação intermolecular. A parametrização do composto paladacilo utilizará os parâmetros LJ do campo de força OPLS (JORGENSEN et al., 1996) e as cargas calculadas por método quântico em nível Hartree Fock (HF) e função base 6-31G (que é um método padrão para gerar cargas desse campo de força) para os todos os átomos, com exceção do paládio que utilizaremos os parâmetros desenvolvidos por LIENKE et al. (2001).

Para a análise da estabilidade das rotas de hidrólise será necessário utilizar um método que nos permita calcular variações de energia livre, levando em conta não só os aspectos energéticos, mas também os aspectos entrópicos. No caso do estudo de sistemas em solução, um método possível para o cálculo de energia livre é a Teoria de Perturbação Termodinâmica (JORGENSEN, 1985). Nesse método utiliza-se a definição de energia livre como  $A = -kT \ln(Z)$ , onde  $kT$  é a energia térmica,  $Z$  é a função de partição e  $A$  é a energia livre de Helmholtz no ensemble  $NVT$  e a energia livre de Gibbs no ensemble  $NPT$ . Juntamente com a utilização de um potencial perturbativo  $U(\lambda) = U_0 + \lambda(U_1 - U_0)$ , onde  $\lambda$  é o parâmetro perturbativo,  $U_0$  é o potencial do sistema no estado inicial 0 e  $U_1$  é o potencial do sistema no estado final 1. Assim a variação da energia livre pode ser escrita pela equação 2:

$$\begin{aligned} \Delta A(0 \rightarrow \lambda) &= -kT \ln \left( \frac{Z_\lambda}{Z_0} \right) = -kT \ln \left( \frac{\int e^{-U_\lambda/kT} d\Gamma}{\int e^{-U_0/kT} d\Gamma} \right) \\ &= -kT \ln \left( \frac{\int (e^{-\lambda \Delta U/kT}) e^{-U_0/kT} d\Gamma}{\int e^{-U_0/kT} d\Gamma} \right) \\ \Delta A_{0,\lambda} &= -kT \ln \left( \left\langle e^{-\lambda \Delta U/kT} \right\rangle_0 \right) \end{aligned}$$

Então a variação da energia livre pode ser calculada numa simulação do sistema no estado

inicial 0, onde é calculada a média do exponencial do termo  $-\lambda \Delta U/kT$ .

Da forma como a Teoria de Perturbação Termodinâmica foi implementada no programa DICE, a energia potencial é separada nas interações soluto-soluto,  $U^{ss}$ , e soluto-solvente,  $U^{sx}$ . Então  $U = U^{ss} + U^{sx}$  e a molécula perturbada (soluto) é mantida fixa durante toda a simulação, daí  $U^{ss}$  permanece constante. Adicionalmente, em cada simulação a perturbação deve ser suficientemente pequena a ponto de podermos fazer em um único passo o cálculo do  $\Delta G_{i,i+1}$  entre dois estados sucessivos *i* e *i+1*. Assim, pode-se

$$\begin{aligned} \Delta A(0 \rightarrow 1) &= \Delta U_{01}^{ss} + \Delta A_{01}^{sx} \\ &= \sum_{i=0}^n \Delta U_{i,i+1}^{ss} - kT \sum_{i=0}^n \ln \left( \left\langle e^{-\Delta U_{i,i+1}^{sx}/kT} \right\rangle_i \right) \end{aligned}$$

re-escrever a equação 2 como:

onde *n* é o número de simulações necessárias para levar o sistema do estado 0 para o estado 1, através de pequenas perturbações.

Na obtenção de todos os resultados que apresentaremos a seguir utilizamos no cálculo quântico o programa GAUSSIAN 98 (FRISCH et al., 1998) e nas simulações computacionais o programa DICE.

## Resultados

Estudamos a estrutura eletrônica e geométrica dos enantiômeros *R*(+) e *S*(-) em fase gasosa, através da mecânica quântica. Nessa fase as moléculas são consideradas isoladamente como mostra Figura 2. Devido à complexidade das moléculas estudadas, substituímos os 4 grupos fenil da molécula por hidrogênio.

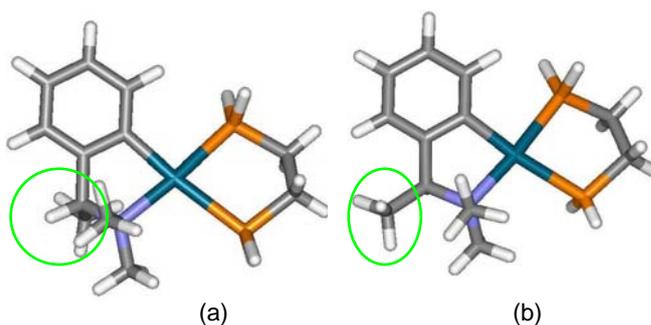


Figura 2: Geometrias estáveis para os enantiômeros: (a) enantiômero *R*(+)dmpa (b) enantiômero *S*(-)dmpa. Os círculos indicam a quiralidade.

De forma análoga, analisamos o processo de hidrólise envolvendo as quatro ligações do paládio e para cada uma foram estudadas duas possibilidades: quando o próton da água se liga ao paládio e quando a hidroxila se liga ao paládio. Desta forma, foi possível analisarmos as

diferenças dos complexos hidrolizados e calcularmos a variação da energia de hidratação de cada complexo hidrolizado através da Equação 4:

$$\Delta E = E_{EW} - (E_E + E_{H_2O})$$

onde,  $E_E$  é a energia do enantiômero;  $E_{H_2O}$  é a energia da água e  $E_{EW}$  é a energia do enantiômero hidrolizado.

Com a análise dos resultados, encontramos quebra desfavoráveis do ponto de vista energético para as quebras Pd-P e Pd-N, e quebra favorável apenas para a ligação Pd-C como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Dados da energia de hidratação, na quebra da ligação Pd-C, dos complexos isolados, obtidos com nível de cálculo HF/6-31G.

Composto	$\Delta E_{\text{interna}}$	Composto	$\Delta E_{\text{interna}}$
R(+)/W	(kcal/mol)	S(-)/W	(kcal/mol)
Pd-H	6.4	Pd-H	4.1
<b>Pd-OH</b>	<b>-3.1</b>	<b>Pd-OH</b>	<b>-6.4</b>

## Discussão

Várias reações são interpretadas facilmente fazendo análise dos orbitais de fronteira, isto é, o orbital molecular de maior energia, habitualmente designado pela sigla HOMO, de "highest occupied molecular orbital" e o orbital molecular virtual de menor energia, habitualmente designado pela sigla LUMO, de "lowest unoccupied molecular orbital".

Em reações que moléculas atuam como doadoras de elétrons é importante analisar o HOMO delas, porém quando atuam como aceitadoras de elétrons é importante analisar o LUMO. Como a molécula de nosso estudo é carregada positivamente ela atua com um aceitador de elétrons, logo o nosso orbital de interesse é o LUMO, ilustrada na Figura 3.

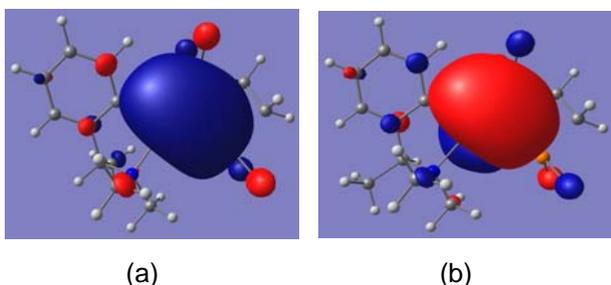


Figura 3: Orbitais LUMO dos enantiômeros: (a) enantiômero R(+)-dmpa com energia de  $-1.015\text{eV}$  (b) enantiômero S(-)-dmpa com energia de  $-1.092\text{eV}$ .

Analisando a Figura 3(a) e 3(b), podemos observar que o LUMO sobrepõe o elemento paládio, isto significa que em uma possível captação de elétrons, ocorrerá um aumento da população eletrônica do LUMO e em seguida ocorrerá uma ruptura na ligação envolvendo o átomo de paládio originando uma nova estrutura.

Portanto, através de uma análise dos orbitais moleculares, podemos concluir que as ligações suscetíveis a uma possível quebra são os quatros ligantes ao paládio, ou seja, os átomos de fósforo; o átomo de carbono e o átomo de nitrogênio.

Tratando os dados da Tabela 1, observamos que as diferenças das energias encontradas para os complexos hidrolizados são superiores à energia térmica ( $\sim 0.6\text{ kcal/mol}$ ), portanto para esta quebra de ligação encontramos diferenças com relação à quiralidade das moléculas.

Identificamos nas ligações Pd-N e Pd-C diferenças marcantes com relação à quiralidade. Na quebra dessas ligações do S(-), observamos que a hidroxila da água pode interagir com os átomos de hidrogênio ligados ao grupo metil (ligantes do átomo de N) e também ao átomo de hidrogênio ligado ao carbono quiral, porém no R(+) esse átomo está do lado oposto à hidroxila como mostra as Figuras 4. Portanto numa possível quebra dessas ligações, no S(-) existe uma possibilidade maior de ocorrer mais interações intermoleculares, comparado ao R(+), o que nos indica a possibilidade de explicarmos a enantioseletividade.

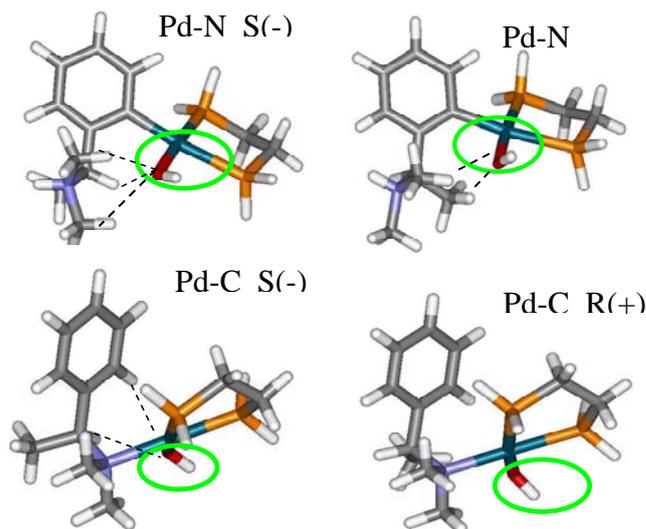


Figura 4: Geometrias estáveis das moléculas formadas na quebra da ligação Pd-N e Pd-C dos enantiômeros S(-) e R(+). Em destaque a hidroxila ligada ao paládio depois da reação com a água.

## Conclusão

Desta forma, concluímos que as ligações Pd-N e Pd-C foram as que indicaram diferenças marcantes com relação à quiralidade presente nas moléculas estudadas. Ainda analisando a ligação Pd-C, a energia de hidratação encontrada foi de -6.4 kcal/mol para o S(-) sendo, portanto uma quebra favorável. Este resultado pode ser um fator importante para a explicação da atividade biológica do enantiômero S(-) ser mais ativa em células antitumorais comparada ao enantiômero R(+).

Nossa próxima etapa neste trabalho será a análise das energias de hidratação em meio aquoso, onde o efeito do solvente será explicitamente considerado no processo de hidrólise.

## Referências

- ALLEN, M. P.; TILDESLEY, D. J.; Computer Simulation of Liquids, **Claredon Press.**, New York 1987.
- CAIRES, A. C. F.; ALMEIDA, E. T.; MAURO, A. E.; HEMERLY, J. P.; VALENTINI, S. R.; Síntese e Atividade Citotóxica de Alguns Azido-Ciclopaladados Estabilizados com Ligantes Bifosfínicos. **Química Nova**. V.22, p. 329-334, 1995.
- COUTINHO, K.; CANUTO, S.; ZERNER, M. C. Calculation of the Absorption Spectrum of Benzene in Condensed Phase. A Study of the Solvent Effects. **Int. J. Quantum Chem**. V.65, p. 885-91 (1997).
- COUTINHO, K.; CANUTO, S. DICE (v 2.8): A MonteCarlo program for molecular liquid simulation. **University of São Paulo.**, Brazil, 2000.
- DREHER, S. Síntese e Aplicação de Paladaciclos Contendo o Ligante 1,2 Bis (Difenilfosfina) Etano – Dppe como Agentes Antitumorais 2004. 159f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, 2004.
- FRISCH, M. J.; TRUSCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J.R.; ZAKRZEWSKI, V. G.; MONTGOMERY, J.A, Jr.; STRATMAN, R. E.; BURANT, J. C.; DAPPRICH, S.; MILLAM, J. M.; DANIELS, A. D.; KUDIN, K. N.; STRAIN, M. C.; FARKAS, O.; TOMASI, J.; BARONE, V.; COSSI, M.; CAMMI, R.; MENNUCCI, B.; POMELLI, C.; ADAMO, C.; CLIFFORD, S.; OCHTERSKI, J.; PETERSSON, G. A.; AYALA, P. Y.; CUI, Q.; MOROKUMA, K.; MALICK, D. K.; RABUCK, A.D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J.B.; CIOSLOWKI, J.; ORTIZ, J.V.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; GOMPERTS, R.; MARTIN, R.L.; FOX, D.J.; Keith, T.; AL-LAHAM, M. A.; PENG, C. Y.; NANAYAKKARA, A.; GONZALEZ, C.; CHALLACOMBE, M.; GILL, P. M. W.; JOHSON, B.G.; CHEN, W.; WONG, M. W.; ANDRES, J. L.; HEAD-GORDON, M.; REPLOGLE, E. S.; POPLE, J. A. Gaussian 98; Gaussian, Inc.: **Pittsburgh**, PA, 1998.
- IADOCICCO, K. Estudos Teóricos de Propriedades Estruturais e Eletrônicas de Complexos Paladaciclos Derivados dos Enantiômeros da N,N-dimetil-1-fenilamina que Apresentam Atividade Anti-tumoral Diferenciada 2005. 135f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes, 2005.
- JORGENSEN, W.L.; MAXWELL, D. S.; TIRADO-RIVES, J. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. **J. Am. Chem. Soc.** V.118, p.11225-11236, 1996.
- JORGENSEN, W. L. Monte Carlo simulation of differences in free energies of hydration C. Ravimohan, **J. Chem. Phys.** V.83, p. 3050 – 3054, 1985.
- LIENKE, A.; KLATT, G.; ROBINSON, D. J.; KOCH, K. R.; NAIDOO, K. J.; Modeling platinum group metal complexes in aqueous solution. **Inorg. Chem.** V.40, p. 2352 - 2357, 2001.
- RIVELINO, R.; CABRAL, B. J C.; COUTINHO, K.; CANUTO, S. Electronic polarization in liquid acetonitrile: A sequential Monte Carlo/quantum mechanics investigation. **Chem. Phys. Lett.** 407, p.13-17, 2005.