



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

***MODELAGEM DE PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E
ELETRÔNICAS PARA A OTIMIZAÇÃO DA
BIODISPONIBILIDADE DE N-PIRIDILPORFIRINAS ATUANDO
COMO MODULADORES REDOX***

RAFAEL FARIAS DE OLIVEIRA

JOÃO PESSOA – PB – BRASIL
SETEMBRO 2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MODELAGEM DE PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ELETRÔNICAS PARA A OTIMIZAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE N-PIRIDILPORFIRINAS ATUANDO COMO MODULADORES REDOX

RAFAEL FARIAS DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada como
requisito para obtenção do título de
Mestre em Química pela
Universidade Federal da Paraíba

Orientador(a): Profa. Dra. Karen Cacilda Weber

Co-orientador: Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças

JOÃO PESSOA – PB – BRASIL
SETEMBRO 2013

O48m Oliveira, Rafael Farias de.
Modelagem de propriedades estruturais e eletrônicas para a otimização da biodisponibilidade de *N*-piridilporfirinas atuando como moduladores redox / Rafael Farias de Oliveira.– João Pessoa, 2013.
75f. : il.
Orientadora: Karen Cacilda Weber
Coorientado: Júlio Santos Rebouças
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN
1. Química. 2. *N*-piridilporfirinas. 3. Lipofilicidade.
4. Métodos fragmentais. 5. Cálculos DFT.

UFPB/BC

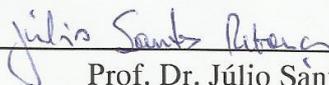
CDU: 54(043)

“Modelagem de propriedades estruturais e eletrônicas para otimização da biodisponibilidade de N- piridilporfirinas atuando como moduladores Redox”.

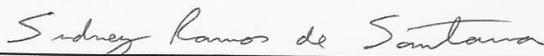
Dissertação de Mestrado de Rafael Farias de Oliveira aprovada pela banca examinadora em 30 de agosto de 2013:



Profa. Dra. Karen Cacilda Weber
Orientadora/Presidente



Prof. Dr. Júlio Santos Rebouças
2º. Orientador



Prof. Dr. Sidney Ramos de Santana
Examinador



Prof. Dr. Gerd Bruno da Rocha
Examinador

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem ele nada é possível.

À minha orientadora professora Karen C. Weber, pela paciência, comprometimento e principalmente por me mostrar como um pesquisador de química deve ser.

Ao Professor Júlio S. Rebouças, pela co-orientação.

Aos Professores Sidney Santana e Wallace Fragoso pela grande ajuda durante todo o período de Mestrado.

Aos professores que ministraram as disciplinas cursadas durante o mestrado, pelos ensinamentos transmitidos.

A todo o pessoal do LQQC pela ajuda e gentileza durante todo esse tempo.

Ao CENAPAD-SP, CENAPAD-PE e CENAPAD-UFC pelos recursos computacionais para a realização dos cálculos deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFPB.

À Capes, pela bolsa concedida.

RESUMO

OLIVEIRA, R. F. **Modelagem de propriedades estruturais e eletrônicas para a otimização da biodisponibilidade de *N*-piridilporfirinas atuando como moduladores redox.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

O estresse oxidativo é uma condição biológica na qual há um desequilíbrio entre a liberação de espécies reativas e a sua captação pelos sistemas biológicos, podendo provocar a produção de peróxidos e radicais livres que danificam diferentes componentes celulares, incluindo proteínas, lipídios e o DNA. As porfirinas e seus complexos metálicos podem ser usados como mímicos da enzima superóxido dismutase (SOD) na modulação do estresse oxidativo. A eficácia *in vivo* das porfirinas está relacionada, entre outros fatores, com sua biodisponibilidade, que é fortemente influenciada pela lipofilicidade e pode também ser relacionada a diferentes propriedades estruturais e eletrônicas dessas moléculas. Neste contexto, o presente trabalho teve o intuito de analisar a influência de determinadas propriedades moleculares na lipofilicidade de uma série de *N*-piridilporfirinas, por meio de cálculos teóricos, visando fornecer informações úteis para o planejamento de novos derivados de porfirinas. Inicialmente, o logaritmo do coeficiente de partição octanol/água ($\log P$) dessas moléculas foi estimado utilizando diferentes programas computacionais livres, bem como com base na diferença de energia livre de solvatação octanol/água, empregando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT), com diferentes funcionais híbridos (B3LYP, M06 e M062X). A partir dos cálculos DFT foram obtidas, ainda, propriedades eletrônicas e estruturais, tais como cargas parciais atômicas, orbitais moleculares, momento de dipolo, polarizabilidade, área superficial e volume molecular. Os dados obtidos foram comparados à medida experimental de lipofilicidade disponível para esta série de porfirinas, o fator de retenção cromatográfica (R_f). Os resultados mostram que métodos tradicionais e bem estabelecidos de cálculo do $\log P$, como os métodos fragmentais, não fornecem resultados confiáveis para as porfirinas estudadas, ao contrário dos cálculos baseados na energia livre de solvatação, que forneceram tendências semelhantes aos valores experimentais de $\log P$ de porfirinas de manganês análogas às estudadas. Além disso, os resultados obtidos sugerem que a distribuição de cargas na estrutura das porfirinas pode estar relacionada com as diferenças observadas na lipofilicidade e, conseqüentemente, com a passagem destas moléculas através da membrana celular. Também ficou evidente que o volume molecular está fortemente relacionado à lipofilicidade, uma vez que se observa um maior relaxamento da estrutura na fase *n*-octanol devido ao caráter lipofílico das longas cadeias alquílicas ligadas ao grupo piridil. Baixas correlações entre os valores de R_f e as demais propriedades moleculares calculadas foram obtidas, indicando que a lipofilicidade das porfirinas pode ser modulada apenas pelo tamanho das cadeias alquílicas e pela introdução de grupos que alterem favoravelmente a distribuição de cargas.

Palavras-chave: *N*-piridilporfirinas; lipofilicidade; métodos fragmentais; cálculos DFT.

ABSTRACT

OLIVEIRA, R. F. **Modeling of structural and electronic properties to the optimization of bioavailability of *N*-pyridylporphyrins acting as redox modulators.** Dissertation (Master's Degree) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

Oxidative stress is a biological condition in which there is an imbalance between the release of reactive species and their reuptake by biological systems, leading to the production of peroxides and free radicals that damage different cellular components, including proteins, lipids and DNA. Porphyrins and their metal complexes can be used as mimics of the enzyme superoxide dismutase (SOD) in the modulation of oxidative stress. The *in vivo* efficacy of porphyrins is related, among other factors, to their bioavailability, which is strongly influenced by lipophilicity and can also be related to different structural and electronic properties of these molecules. In this context, the present work has the aim of analyzing the influence of certain molecular properties on the lipophilicity of a series of *N*-pyridylporphyrins, by means of theoretical calculations, intending to provide useful information for the design of new porphyrin derivatives. Initially, the logarithm of the octanol/water partition coefficient ($\log P$) of these molecules was estimated by using different free software, as well as based on the difference of octanol/water free energy of solvation, employing the Density Functional Theory (DFT), with different hybrid functionals (B3LYP, M06 and M062X). From DFT calculations, electronic and structural properties were also obtained, such as atomic partial charges, molecular orbitals, dipole moment, polarizability, surface area and molecular volume. The obtained data were compared to the available experimental measure of lipophilicity to this series of porphyrins, the chromatographic retention factor (R_f). The results show that traditional and well established methods for $\log P$ calculation, such as fragmental methods, do not provide reliable results for the studied porphyrins, unlike the calculations based on free energy of solvation, which have provided similar trends to the experimental $\log P$ of manganese porphyrins analogous to the studied ones. Furthermore, the obtained results suggests that charge distribution on the porphyrin structure may be related to the observed differences in lipophilicity and, consequently, with the passage of these molecules across the cellular membrane. It also became evident that the molecular volume is strongly related to lipophilicity, since a larger relaxation of the structures in the *n*-octanol phase is observed due to the lipophilic character of the long alkyl chains attached to the pyridyl group. Low correlations between R_f values and the other molecular properties calculated were obtained, indicating that the lipophilicity of porphyrins can only be modulated by the size of alkyl changes and the introduction of groups that favorably alter the charge distribution.

Keywords: *N*-pyridylporphyrins; lipophilicity; fragmental methods; DFT calculations.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Estrutura geral das Mn-porfirinas comumente utilizadas como mímicos de SOD.....11
- Figura 2. Estrutura geral dos isômeros orto e meta das N-alkilpiridilporfirinas de manganês.....13
- Figura 3. Ciclo termodinâmico para a determinação da energia livre em solução.....25
- Figura 4. Representação dos diferentes atropoisômeros das porfirinas estudadas.....35
- Figura 5. Ciclo termodinâmico utilizado no cálculo do coeficiente de partição octanol/água.....39
- Figura 6. Correlação Linear entre o log P calculado a partir do ΔG de solvatação (B3LYP) e o log P experimental.....43
- Figura 7. Comparação entre a variação dos valores de R_f experimental com a estrutura das porfirinas base livre e metaladas.....44
- Figura 8. Comparação entre o log P calculados para a mesma série de porfirinas base-livre e log P determinados experimentalmente para as análogas metaladas com Mn.....47
- Figura 9. Correlação linear entre o Log P_{metalada} e o Log $P_{\text{base-livre}}$ calculado para a “série de porfirinas.....48
- Figura 10. Correlação entre os valores dos log P obtidos experimentalmente e calculados pela equação 45, para a mesma série log P de porfirinas metaladas.....48
- Figura 11. Relação entre energia de Gibbs de solvatação e a natureza da cadeia n-alkil ligada aos *meso*-piridis.....50
- Figura 12. Relação entre a posição do oxigênio e sua influência nas cargas parciais a medida que se aproxima do nitrogênio da piridila.....52
- Figura 13. Posições dos nitrogênios e oxigênios alfa e beta.....56
- Figura 14. Mapa do Potencial Eletrostático de algumas porfirinas.....56

Figura 15. Orbitais de Fronteira HOMO (esquerda) e LUMO (direita).....	57
Figura 16. Correlação Linear entre o R_f experimental e a Polarizabilidade calculada com o funcional B3LYP em (a) água e (b) n-octanol.....	60
Figura 17. Correlação Linear entre o R_f experimental e o Volume em (a) água e (b) n-octanol, resultados do funcional B3LYP.....	61
Figura 18. Correlação entre os valores dos log P obtidos experimentalmente e calculados pela equação acima, para a mesma série log P de porfirinas metaladas.....	62
Figura 19. Estruturas químicas das porfirinas (a) $H_2TMOHex-3-PyP$ e (b) $H_2TnHex-3-PyP$ otimizadas em água (esquerda) e em n-octanol (direita).....	64-65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Estruturas moleculares das porfirinas da “Série logP”	32
Tabela 2.	Estruturas moleculares das porfirinas da “Série Gibbs”	33
Tabela 3.	Programas utilizados na determinação do log P	36
Tabela 4.	Valores de log P das porfirinas obtidas por diferentes programas	39
Tabela 5.	Valores de log P das porfirinas obtidas a partir do ΔG de solvatação calculado com diferentes funcionais	42
Tabela 6.	Correlação entre os valores dos log P obtidos experimentalmente e calculados pela equação acima, para a mesma série log P de porfirinas metaladas	48
Tabela 7.	Valores das energias de solvatação calculados pelo método B3LYP em função da natureza da cadeia alquílica nas porfirinas da “Série Gibbs”	49
Tabela 8.	Cargas parciais NBO das porfirinas	54
Tabela 9.	Valores das Polarizabilidades das porfirinas	59
Tabela 10.	Valores do volume molecular das porfirinas	60
Tabela 11.	Valores dos log P experimentais e dos preditos calculados pela equação acima das porfirinas metaladas utilizando o volume das porfirinas base-livre em n-octanol	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SOD – Superóxido Dismutase

MnP – Porfirinas de manganês

Mn(III)TE-2-PyP5+ - 5,10,15,20-tetraquis(*N*-etilpiridinium-2-il)porfirinatomanganês(III)

MnTHex-2-PyP5+ - 5,10,15,20-tetraquis(*N*-hexilpiridinium-2-il)porfirinatomanganês(III)

MnTE-3-PyP5+ - 5,10,15,20-tetraquis(*N*-etilpiridinium-3-il)porfirinatomanganês(III)

SCF – Self Consistent Field

PM6 – Parametric Method 6

HOMO – Highest Occupied Molecular Orbital

LUMO – Lowest Unoccupied Molecular Orbital

MOPAC – Molecular Package

DFT – Density Functional Theory

HK – Hohenberg-Kohn

KS – Kohn-Sham

LDA – Local Density Approximation

LSDA – Local Spin Density Approximation

GGA – Generalized Gradient Approximation

NPA – Natural Populational Analysis

NAO – Natural Atomic Orbitals

NBO – Natural Bond Orbitals

MEP – Molecular Electrostatic Potential

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	10
1.1. PORFIRINAS COMO MODULADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO.....	10
1.2. AS N-ALQUILPIRIDILPORFIRINAS DE MANGANÊS.....	12
2 - OBJETIVOS	15
2.1. OBJETIVOS GERAIS.....	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1. MÉTODOS COMPUTACIONAIS PARA O CÁLCULO DE LOG P.....	17
3.1.1. MÉTODO FRAGMENTAL	17
3.1.2. MÉTODO BASEADO NO ÁTOMO.....	17
3.1.3. MÉTODO BASEADO EM DESCRITORES TOPOLÓGICOS	18
3.1.4. MÉTODOS BASEADOS EM PROPRIEDADES.....	19
3.2. A TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE.....	20
3.2.1. TEOREMAS DE HOHENBERG E KOHN	18
3.2.2. O MÉTODO DE KOHN-SHAM	20
3.2.3. FUNCIONAIS DE TROCA E CORRELAÇÃO.....	21
3.3. MÉTODOS DE SOLVATAÇÃO.....	22
3.4. NBO	28
3.3.1. SOLVATAÇÃO IMPLÍCITA	24
3.3.2. O MODELO SMD.....	26
3.3.3. DETERMINAÇÃO DA LIPOFILICIDADE DE PORFIRINAS NA LITERATURA.....	27
4 - METODOLOGIA.....	34
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1. CÁLCULO DE LOG P COM MÉTODOS BASEADOS NA ESTRUTURA	40
5.2. CÁLCULO DO LOG P A PARTIR DO ΔG DE SOLVATAÇÃO	42
5.3. RELAÇÃO ENTRE ΔG E A NATUREZA DA CADEIA ALQUÍLICA	51
5.4. PROPRIEDADES MOLECULARES E LIPOFILICIDADE	53
5.4.1. CARGAS PARCIAIS NBO.....	54
5.4.2. ORBITAIS DE FRONTEIRA NBO	58
5.4.3. POLARIZABILIDADE	61

5.4.4. VOLUME MOLECULAR.....	62
6 - CONCLUSÕES.....	66
7 - PERSPECTIVAS.....	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

1 INTRODUÇÃO

1.1 PORFIRINAS COMO MODULADORES DO ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo é uma condição biológica na qual há um desequilíbrio entre a liberação de espécies reativas (tais como OONO^- e O_2^-) e a sua captação pelos sistemas biológicos. Todos os organismos vivos possuem um ambiente intracelular de natureza redutora, existindo um equilíbrio entre as formas oxidada e reduzida de moléculas. Perturbações neste equilíbrio redox podem provocar a produção não-fisiológica de peróxidos e radicais livres que danificam todos os componentes celulares, incluindo proteínas, lipídios e o DNA.

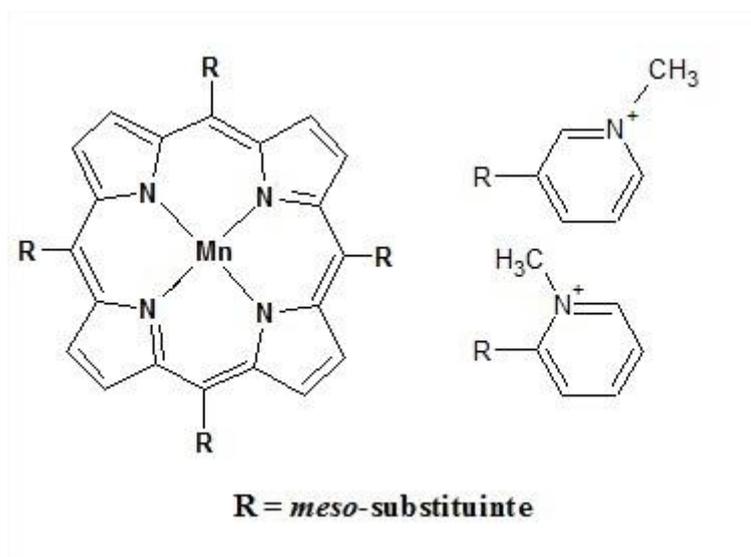
Existem indícios que apontam o estresse oxidativo como tendo um papel importante em doenças neurodegenerativas, tais como a doença de Parkinson e a doença de Alzheimer. Existe também alguma correlação entre estresse oxidativo e certas doenças cardiovasculares. As espécies reativas de oxigênio também podem agir de forma benéfica no organismo, quando usadas pelo sistema imunológico para atacar e aniquilar agentes patogênicos ou quando atuam como moléculas mensageiras em vias de sinalização celular (também designada sinalização redox). Algumas enzimas são capazes de produzir superóxido como a xantina oxidase, NADPH oxidases e citocromo P450 oxidase. Os antioxidantes enzimáticos mais bem estudados são as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase e glutationaperoxidase.

O papel essencial das superóxido dismutases (SOD) é manter o bom funcionamento do metabolismo e proteger as células contra os efeitos primários e secundários do radical superóxido. O controle do estresse oxidativo mostra ser a chave para o tratamento de diversas doenças e tem papel importante no metabolismo celular das mitocôndrias. Assim, a síntese de mímicos de SOD sintéticos, principalmente aqueles que têm a mitocôndria como alvo, se faz necessária.

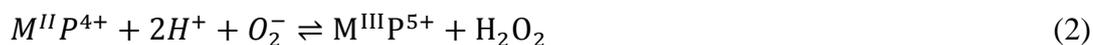
A diversidade estrutural e eletrônica dos complexos a base de porfirinas possibilita que alguns dos compostos se enquadrem bem nos critérios para que uma molécula seja considerada como um mímico da SOD. Tendo um metal redox no centro do sítio ativo,

assim como as enzimas SOD, metaloporfirinas sintéticas podem atuar como excelentes doadores e aceitadores de elétrons, podendo assim catalisar reações de oxidação e redução de espécies reativas. Uma porfirina é caracterizada por um macrociclo tetrapirrólico (Fig. 1), onde os pirróis são conectados por grupos metinos (=CH-), e que possui no seu centro quatro átomos de nitrogênio e um espaço apropriado para acomodar um íon metálico. Nas porfirinas sintéticas utilizadas como mímicos de SOD, esses grupos metinos se conectam, geralmente, a anéis piridilas (Figura 1) com cadeias n-alquílicas ligadas aos nitrogênios do piridil.

Figura 1. Estrutura geral das Mn-porfirinas comumente utilizadas como mímicos de SOD.



Nos anos 1970, foram descobertas ferro-porfirinas (Fe-porfirinas) capazes de promoverem a dismutação catalítica de O_2^- via dois processos redox, de modo semelhante ao das enzimas SOD (Eqs. (1) e (2), sendo M o metal).



As Fe-porfirinas são bastante ativas como catalisadores de remoção do O_2^- . O uso biológico limitado destes sistemas a base de Fe tem sido comumente associado à possibilidade de liberação de Fe “livre”, que pode resultar na tóxica reação de Fenton (Eq. 3), levando à formação do radical OH^\bullet .



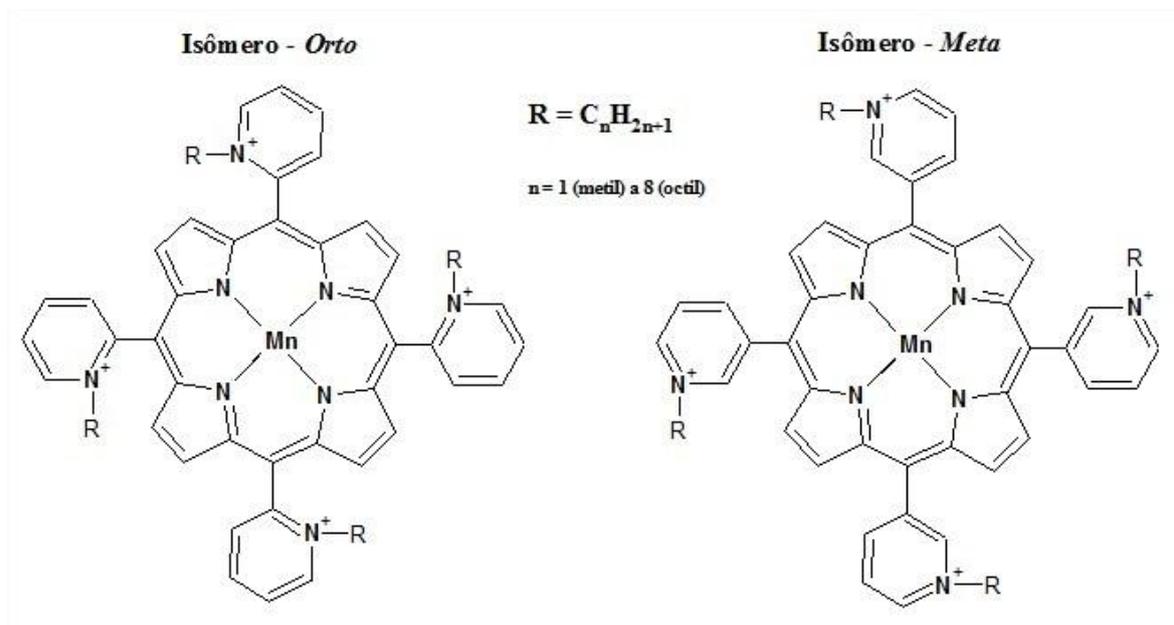
Por outro lado, as Mn-porfirinas (MnPs), por terem alta estabilidade metal-ligante, diversidade estrutural do anel porfirínico e constantes de velocidade para dismutação de superóxido (k_{cat}) próximas das SOD, são boas candidatas a mímicos de SOD. As MnPs têm sido extensivamente estudadas e são consideradas potentes mímicos de SOD. MnPs que atuam como mímicos de SOD foram projetadas de forma que sua carga catiônica e cadeias alquílicas forneçam tanto sua notável potência SOD, bem como permitissem a entrada na mitocôndria. Dentro da classe das MnPs, análogos lipofílicos são particularmente eficazes para o tratamento de lesões do sistema nervoso central onde os tecidos são mais lipofílicos e as mitocôndrias desempenham papel-chave.

1.2 AS N-ALQUILPIRIDILPORFIRINAS DE MANGANÊS

Desenvolvidas a partir de estudos da relação estrutura-atividade entre a habilidade das MnPs em remover superóxido e o potencial de redução do par redox Mn(III)P/Mn(II)P, as *N*-alquilpiridilporfirinas de Mn(III), cuja estrutura geral é mostrada na Figura 2, estão entre os mais potentes mímicos da SOD, além de atuarem como removedores catalíticos de peroxinitrito e moduladores da atividade redox de transcrição celular (GAUTER-FLECKENSTEIN et al., 2008).

Por meio da remoção de espécies reativas, as *orto-N*-alquilpiridilporfirinas de Mn(III) suprimem não apenas o evento oxidativo primário, mas também a atividade de transcrição celular mediante a inibição dos fatores HIF-1 α , NF- κ B, e AP-1 (JACKSON et al., 2007) e, conseqüentemente, as respostas inflamatórias e imunes secundárias, bem como os níveis das citocinas relacionadas (BATINIC-HABERLE et al., 2009). Além disso, as MnPs, como a MnTE-2-PyP, MnTnHex-2-PyP e MnTDE-2-ImP atenuam efetivamente o estresse oxidativo em modelos animais de câncer (MOELLER et al., 2005; RABBANI et al., 2009; ZHAO et al., 2005), disfunções do sistema nervoso central, lesões por radiação, diabetes e tolerância à morfina (BATINIC-HABERLE et al., 2010), entre outros.

Figura 2. Estrutura geral dos isômeros orto e meta das N-alkilpiridilporfirinas de manganês.



O efeito *in vivo* das MnPs é influenciado pela capacidade antioxidante, pela biodisponibilidade e pela toxicidade dessas moléculas. Por sua vez, a biodisponibilidade é dependente do tamanho, carga, forma (flexibilidade conformacional e geometria) e da lipofilicidade. Em consequência dos diferentes níveis de acumulação nos compartimentos celulares, alguns fármacos podem ser eficazes em determinados modelos, mas falharem completamente ou serem menos eficazes em outro (GILES et al., 2005).

Na tentativa de aumentar a biodisponibilidade (quantidade do fármaco que realmente chegou ao local a ser tratado) e diminuir a toxicidade das MnPs, diferentes estratégias foram empregadas. Um aumento de cerca de dez vezes na lipofilicidade foi obtido para cada carbono adicionado à cadeia alquílica, ou para a troca de cadeias alquílicas de mesmo tamanho da posição *orto* para *meta* do anel piridínico (ver Fig. 2). Assim, as porfirinas *meta* são dez vezes mais lipofílicas do que as *orto*, além de serem menos volumosas. Desse modo, sua menor capacidade antioxidante é compensada por essas características, o que as torna igualmente efetivas *in vivo* (KOS et al., 2009a).

Estas porfirinas altamente lipofílicas foram planejadas de modo a melhorar as propriedades de transporte através da barreira hematoencefálica para, assim, serem eficazes contra lesões do sistema nervoso central. A título de exemplo, a porfirina MnTnHex-2-PyP⁵⁺ é 120 vezes mais eficaz do que a MnTE-2-PyP⁵⁺, além de atravessar a barreira

hematoencefálica 12 vezes mais (SPASOJEVIC et al., 2008) e se acumular na mitocôndria em maior quantidade (SPASOJEVIC et al., 2010).

Entretanto, as porfirinas mais lipofílicas possuem um caráter surfactante e podem danificar a membrana celular em concentrações mais altas. Por isso, modificações estruturais foram realizadas com o objetivo de diminuir sua toxidez, porém mantendo ainda a atividade semelhante às SODs. A estratégia empregada com este intuito foi a introdução de um grupo metóxi nos substituintes piridínicos, o que resultou em diminuição da toxidez, aumento da eficácia e melhora no transporte através da parede celular (TOVMASYAN et al., 2011).

Apesar dos avanços alcançados, algumas questões ainda necessitam ser melhor exploradas: quais são os parâmetros estruturais que poderiam explicar as variações observadas na lipofilicidade? Por que a introdução de um átomo de oxigênio na cadeia alquílica leva a uma redução tão drástica na lipofilicidade? Como é possível planejar novas moléculas de modo a manter a atividade semelhante à SOD e, ao mesmo tempo, otimizar a eficácia e diminuir a toxidez?

Neste contexto, o presente trabalho contribui por meio do cálculo de propriedades moleculares de *N*-piridilporfirinas relacionadas a sua biodisponibilidade *in vivo*, a fim de obter informações que possam ser úteis para o planejamento de novas porfirinas apresentando uma melhor biodisponibilidade e, conseqüentemente, uma maior eficácia como moduladoras da atividade redox.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como intuito analisar a influência das propriedades moleculares de uma série de *N*-alquilpiridilporfirinas em sua lipofilicidade, visando obter informações importantes para a otimização da biodisponibilidade e da eficácia desses compostos como moduladores redox.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Comparar os resultados de diferentes métodos de cálculo do coeficiente de partição octanol/água ($\log P$) das porfirinas estudadas;
- b) Testar diferentes funcionais híbridos para essas porfirinas com o intuito de identificar aqueles que fornecessem uma maior correlação entre os dados experimentais e os calculados;
- c) Calcular descritores estruturais e eletrônicos que possam explicar o efeito de modificações estruturais na lipofilicidade e biodisponibilidade das *N*-alquilpiridilporfirinas;
- d) Avaliar as diferenças estruturais e energéticas entre as *N*-piridilporfirinas em água e *n*-octanol como solventes, de modo a simular os ambientes hidrofílicos e lipofílicos e obter explicações sobre os efeitos do aumento do número de carbonos e da introdução do grupo metóxi na cadeia alquílica sobre a lipofilicidade das *N*-alquilpiridilporfirinas.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 MÉTODOS COMPUTACIONAIS PARA O CÁLCULO DE LOG P

3.1.1 MÉTODO FRAGMENTAL

Este método divide a molécula em fragmentos e aplica fatores de correção para compensar as interações intramoleculares, de acordo com a Eq.(1), onde o primeiro termo considera a contribuição do fragmento constante, f_i , e a incidência deste fragmento, a_i (MANNHOLD & REKKER, 2000). O segundo termo considera a contribuição do fator de correção, F_j , e sua frequência, b_j :

$$\log P = \sum_{i=1}^n a_i f_i + \sum_{j=1}^m b_j F_j \quad (4)$$

Definindo grandes fragmentos ao invés de simples átomos, garante-se que importantes interações eletrônicas estejam compreendidas dentro do fragmento. No entanto, fragmentos arbitrários e perdidos são as principais desvantagens.

3.1.2 MÉTODO BASEADO EM ÁTOMO

Neste método, corta-se a molécula em simples átomos e geralmente não se aplicam regras de correção. O cálculo do log P se dá como o resultado de um somatório do produto do número de átomos de um tipo i , n_i , com a contribuição deste tipo de átomo, a_i , como é mostrado na equação 5:

$$\log P = \sum n_i a_i \quad (5)$$

Entretanto o coeficiente de partição não é uma simples propriedade aditiva. O caráter constitutivo é protegido por uma enorme quantidade de tipos de átomos classificados de acordo o ambiente estrutural. A vantagem do método baseado em átomos é

que ambiguidades são evitadas, a desvantagem é que falha para interações de longo alcance.

3.1.3 MÉTODO BASEADO EM DESCRITORES TOPOLÓGICOS

Os métodos baseados nos descritores topológicos tem como principal vantagem a velocidade de cálculo, o que os torna importantes ferramentas para a previsão de um grande conjunto de dados. Para obter melhores resultados, alguns programas como o ALOGPs utilizam modelos baseados nos descritores de Estado-E, que unem o modelo de descritores topológicos com os estados de valência dos átomos. Este modelo obteve sucesso quando usado para construir modelos QSAR para diferentes propriedades biológicas e físico-químicas, inclusive na predição da lipofilicidade (MANNHOLD et al., 2008). Assim, o ALOGPs combina as correlações lineares com o método de redes neurais, para diversos descritores e bancos de dados com milhares de moléculas.

3.1.4 MÉTODOS BASEADOS EM PROPRIEDADES

Para dois solventes relativamente imiscíveis, o log P pode ser considerado proporcional à energia livre de Gibbs molar de transferência entre as fases octanol e água (MANNHOLD et al., 2009):

$$-2,303RT \log P = \Delta G_{oct} - \Delta G_w = \Delta G_{ow} = \Delta G_{ow}^{el} + \Delta G_{ow}^{nel} \quad (6)$$

onde ΔG_w e ΔG_{oct} são as energias livres de solvatação do soluto em água e octanol, e $\Delta G_{ow}^{el}, \Delta G_{ow}^{nel}$ correspondem ao termo eletrostático e ao termo não-polar (formação de cavidade e dispersão de van der Waals) das interações soluto-solvente.

Para calcular as energias de Gibbs da Eq. (6), aproximações empíricas podem ser feitas, considerando os efeitos físicos que influenciam a partição de moléculas entre as duas fases e obter um conjunto restrito de parâmetros experimentais que governam este processo. Entretanto, parâmetros que podem ser calculados por métodos computacionais, tais como tamanho molecular ou cargas atômicas podem ser capazes de fornecer modelos

confiáveis para a predição da energia de Gibbs. Certos modelos de solvatação simplificam o problema considerando o solvente como um meio contínuo.

A fim de garantir a obtenção de resultados bons e confiáveis é necessário conhecer os fundamentos teóricos de todos os principais métodos e modelos envolvidos no cálculo das propriedades estruturais e eletrônicas utilizadas neste trabalho, os quais serão apresentados a seguir.

3.2 A TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE

Na mecânica quântica, o estado de um sistema pode ser descrito pela equação de Schrödinger, cuja forma dependente do tempo é expressa como (LEVINE, 2000):

$$i\hbar \frac{\partial \Psi(x,y,z)}{\partial t} = -\frac{\hbar^2}{2m} \left[\frac{\partial^2 \Psi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial z^2} \right] + V(x,y,z) \Psi(x,y,z,t) \quad (7)$$

onde \hbar (h cortado) é um símbolo simplificado para $h/2\pi$, onde h é a constante de Planck, Ψ corresponde à função de onda e V corresponde a energia potencial.

Muitas aplicações da mecânica quântica para a química não necessitam desta equação, de modo que uma forma mais simplificada, a equação de Schrödinger independente do tempo, é usada. A partir da equação dependente do tempo se obtém a nova equação independente do tempo (Eq. 8)

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \left[\frac{\partial^2 \Psi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \Psi}{\partial z^2} \right] + V(x,y,z) \Psi(x,y,z) = E \Psi(x,y,z) \quad (8)$$

A equação de Schrödinger só possui solução analítica exata para átomos monoelétrônicos e para modelos simples como por exemplo rotor rígido e partícula na caixa. Para moléculas polieletrônicos a solução dessa equação torna-se impossível sem o uso de aproximações como a de Born e Oppenheimer. Esta aproximação resolve a equação de Schrödinger desacoplando o movimento eletrônico do movimento dos núcleos, levando a uma dependência paramétrica da função de onda eletrônica com as coordenadas dos núcleos. O desenvolvimento do método Hartree-Fock e dos métodos pós-Hartree-Fock, fazendo uso da aproximação de Born e Oppenheimer, permitiu o tratamento da estrutura

eletrônica de moléculas maiores e de sólidos, embora demandando altos tempos computacionais (SZABO & OSTLUND, 1989).

Thomas e Fermi (GOODISMAN, 1971) propuseram um modelo diferente para o tratamento desses sistemas baseado na densidade eletrônica, $\rho(r)$. Com isso, torna-se mais simples a solução da equação de Schrödinger para sistemas maiores, uma vez que a complicada função de onda de N elétrons na equação de Schrödinger é substituída pela densidade eletrônica, que é mais simples. Neste modelo, a energia dos sistemas moleculares pode ser escrita como:

$$E_{el}^{TF}(\rho) = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{2/3} \int \rho(r)^{5/3} dr + \sum_A \int \rho(r) v(r) dr + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_2-r_1|} dr_1 dr_2 \quad (9)$$

onde o primeiro termo é a energia cinética, o potencial na ausência de um campo externo, o segundo termo representa a energia potencial nuclear e o terceiro termo, a repulsão intereletrônica.

3.2.1 TEOREMAS DE HOHENBERG E KOHN

Hohenberg e Kohn consideraram a densidade eletrônica, ρ , como variável básica, fornecendo os fundamentos para o primeiro teorema de Hohenberg e Kohn (DUARTE & ROCHA; 2007). O Hamiltoniano não relativístico na aproximação de Born-Oppenheimer para um sistema com N elétrons é dado por:

$$\hat{H}^{BO} = \hat{T} + \hat{V}_e + \hat{U} \quad (10)$$

$$\begin{aligned} \hat{T} &= - \sum_i^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 & \hat{U} &= - \sum_A^M \sum_i^N \frac{Z_A}{|R_A - r_i|} \\ \hat{V}_e &= \sum_{i<j}^N \sum_j^N \frac{1}{|r_i - r_j|} & \hat{E}_{rep} &= \sum_{B<A}^M \sum_A^M \frac{Z_A Z_B}{|R_A - R_B|} \end{aligned}$$

onde i e j e A e B representam, respectivamente, os elétrons e os núcleos atômicos, r e R correspondem às coordenadas dos elétrons e dos núcleos e Z o número atômico. O termo \hat{T} é o operador energia cinética, \hat{V}_e é operador de repulsão elétron-elétron que inclui os termos de repulsão Coulombiana, \hat{E}_{rep} , os termos não clássicos (troca-correlação) e \hat{U}

representa o potencial externo relacionado aos elétrons, geralmente devido às cargas dos núcleos Z_A .

A energia total do sistema não degenerado pode ser dada por

$$E_0 = \int \Psi \hat{H}^{BO} \Psi^* dr_1 dr_2 \dots dr_n = \langle \Psi | \hat{H}^{BO} | \Psi \rangle \quad (11)$$

O potencial externo pode ser separado em um funcional da densidade eletrônica, assim:

$$E_0 = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_e | \Psi \rangle + \int \rho(r) v(r) dr \quad (12)$$

onde a densidade eletrônica é definida por

$$\rho(r) = \int \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N) \Psi(r_1, r_2, \dots, r_N)^* dr_2, dr_3, \dots, dr_n \quad (13)$$

e $\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N)$ é a solução do estado fundamental do Hamiltoniano. O número total de elétrons N e o potencial externo v no qual os elétrons se deslocam, define o hamiltoniano do sistema.

De acordo com o primeiro teorema de Hohenberg-Kohn, o potencial externo é um funcional único da densidade eletrônica $\rho(r)$. A partir da densidade eletrônica definimos o potencial externo para N elétrons e conseqüentemente o Hamiltoniano do sistema. Assim como a energia é calculada resolvendo a equação de Schrödinger, a energia de um sistema eletrônico é determinada pela densidade eletrônica:

$$E = E_v[\rho] \quad (14)$$

onde v explicita a dependência com o potencial externo $v(r)$.

O segundo teorema de Hohenberg-Kohn diz respeito ao princípio variacional da densidade eletrônica $\rho(r)$. Para um densidade qualquer $\rho(r)'$ de forma que $\rho(r)' > 0$ e tenha $\int \rho(r)' dr = N$, a energia é dada pela equação 14:

$$E_0 \leq E[\rho'] \quad (15)$$

onde $E[\rho']$ é a energia do funcional da densidade. A partir destas informações é possível correlacionar a densidade eletrônica $\rho(r)'$, o Hamiltoniano H' e a função de onda do estado fundamental Ψ' .

$$\rho(r)' \rightarrow H' \rightarrow \Psi' \quad (16)$$

$$E_0 \equiv E[\rho] \leq E[\rho'] = \langle \Psi' | H | \Psi' \rangle = \int \rho'(r)v(r)dr + T[\rho'] + V_{ee}[\rho']$$

$$\int \rho'(r)v(r)dr + F_{HK}[\rho'] \quad (17)$$

Onde $F_{HK}[\rho']$ é o funcional universal, definido como a soma $T[\rho'] + V_{ee}[\rho']$ e é independente do potencial externo e $\rho(r)$ é a verdadeira densidade eletrônica do estado fundamental deste sistema real.

3.2.2 O MÉTODO DE KOHN-SHAM

O método de Hohenberg e Kohn não desenvolve um procedimento prático para a construção do funcional $F_{HK}[\rho]$, visto que o funcional universal embora exista é desconhecido. A principal falha dos funcionais nos modelos de Thomas-Fermi e Thomas-Fermi-Dirac era a deficiência em descrever a contribuição cinética $T[\rho]$. O método Kohn-Sham (KS) mudou essa situação drasticamente, pois introduziu a ideia dos orbitais monoelétrônicos, os quais podem ser construídos de modo rigoroso. Com essa ideia, a descrição da contribuição da energia cinética pode ser representada mais apropriadamente.

O esquema de KS tem suas raízes nos métodos de Hartree, porém, o método de Kohn-Sham inclui os efeitos de troca e correlação eletrônica explicitamente. De acordo com o primeiro teorema de Hohenberg e Kohn, existe um único funcional da energia para o qual o princípio variacional produz a densidade $\rho(r)$ exata do estado fundamental, correspondendo ao Hamiltoniano do sistema. $F_{HK}[\rho]$ denota o funcional universal (no sentido que não depende do potencial externo) da energia cinética para o sistema de partículas não interagentes.

O esquema de KS afirma que para qualquer sistema de partículas interagentes, existe um potencial monoelétrônico local $v_s(r)$ (potencial fictício), tal que a densidade exata do estado fundamental $\rho(r)$ do sistema não interagente é:

$$\rho(r) = \rho_s(r) \quad (18)$$

onde $\rho(r)$ representa a densidade de carga real do gás de elétrons não homogêneo. O Hamiltoniano referente a este sistema de referência de elétrons não interagentes segue a seguinte fórmula

$$\hat{H}_s = \sum_{i=1}^n \left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_s(r_i) \right] \equiv \sum_{i=1}^n h_i^{KS} \quad (19)$$

Onde h_i^{KS} é o Hamiltoniano de Kohn-Sham de um elétron.

A N-representatividade (densidade obtida a partir de uma função de onda antissimétrica) e v-representatividade (garantia de que o potencial externo obtido a partir de uma densidade tentativa é verdadeiro) são condições que devem ser satisfeitas [MORGON & COUTINHO, 2007].

Kohn-Sham utilizou uma função de onda Ψ^{KS} de um sistema não interagente de elétrons num determinante de Slater (produto anti-simetrizado de N funções de um elétron), obtendo os orbitais de Kohn-Sham da equação de Schrödinger de um elétron.

$$h_i^{KS} \psi_i^{KS} = \varepsilon_i \psi_i^{KS} \quad (20)$$

O sistema de referência se conecta ao sistema real através da escolha do potencial externo que represente a densidade eletrônica do sistema real. Assim KS desenvolveram um processo autoconsistente KS-SCF (Kohn Sham – Self Consistent Field), onde a partir de uma densidade tentativa, é encontrado um potencial externo, deste um função de onda que gera uma nova densidade eletrônica e assim por diante até ser encontrado o potencial externo que represente a densidade eletrônica do sistema real.

KS reescreveram as equações de HK, definindo a diferença média na energia cinética $\Delta T[\rho]$ do estado fundamental entre a molécula e o sistema de referência de elétrons não interagentes com densidade eletrônica igual à da molécula [LEVINE, 2000], pela equação

$$E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + T[\rho'] + \frac{1}{2} \iint \rho(r_i)\rho(r_j)r_{ij}^{-1}dr_i dr_j + \Delta T[\rho] + \Delta V_{ee}[\rho] \quad (21)$$

$$\Delta T[\rho] \equiv T[\rho] - T[\rho'] \quad \Delta V_{ee}[\rho] \equiv V_{ee}[\rho] - \frac{1}{2} \iint \rho(r_i)\rho(r_j)r_{ij}^{-1}dr_i dr_j$$

Onde o termo $\frac{1}{2} \iint \rho(r_i)\rho(r_j)r_{ij}^{-1} dr_i dr_j$ é a expressão da energia de repulsão intereletrônica sobre uma distribuição contínua de cargas com densidade eletrônica ρ . O funcionais $\Delta T[\rho]$ e $\Delta V_{ee}[\rho]$ são desconhecidos.

A energia do Funcional de troca-correlação é definida pela equação abaixo

$$E_{xc}[\rho] \equiv \Delta T[\rho] + \Delta V_{ee}[\rho] \quad (22)$$

Assim,

$$E_0 = E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + T[\rho'] + \frac{1}{2} \iint \rho(r_i)\rho(r_j)r_{ij}^{-1} dr_i dr_j + E_{xc}[\rho] \quad (23)$$

A chave para o cálculo de boas propriedades pelo método KS-SCF está na escolha do melhor funcional de troca-correlação.

3.2.3 FUNCIONAIS DE TROCA E CORRELAÇÃO

Quando adicionamos o efeito de correlação eletrônica no modelo do gás uniforme de elétrons, surge uma aproximação mais geral chamada LDA (do inglês, *Local Density Approximation*). Esta aproximação é válida para sistemas onde a densidade de carga varia lentamente em uma escala atômica, ou seja, cada região se comporta como um gás uniforme de elétrons. A energia de troca-correlação é obtida pela integração do espaço total do sistema,

$$E_{XC}^{LDA} = \int \rho(r)\varepsilon_{xc}(\rho)dr \quad (24)$$

onde $\varepsilon_{xc}(\rho)$ é a energia de troca-correlação do gás de elétrons associado ao potencial LDA

$$V_{XC}^{LDA}(r) = \varepsilon_{xc}[\rho(r)] + \rho(r) \frac{\partial \varepsilon_{xc}[\rho(r)]}{\partial \rho(r)} \quad (25)$$

Quando aplicado a sistemas reais que não se comportam como gás homogêneo, o funcional LDA superestima a energia de correlação por exemplo. Para melhorar esta aproximação as chamadas correções não-locais são introduzidas (ZIEGLER, 1991).

Outra aproximação que procura corrigir o potencial LDA e que fornece erros menores que 1% para energia de troca, aparece no trabalho de Perdew e Yue (1986) e utiliza uma expressão simples e precisa para o gradiente:

$$E_x^{GGA}[\rho] = -\frac{3}{4}\left(\frac{3}{\pi}\right)^{1/3} \int \rho(r)^{4/3} F(s) dr \quad (26)$$

Os funcionais de correlação pelo gradiente de uso mais comum incluem o de Lee-Yang-Parr (LYP), o funcional de correlação de Perdew (P86 ou Pc86), o funcional de correlação de Perdew-Wang 1991 (PW91 ou PWc91) e os funcionais de Becke (BECKE, 1988), conhecidos como Bc96 ou B96. O funcional híbrido B3LYP (o número 3 indica que esse funcional possui três parâmetros) é uma das aproximações mais populares aplicadas a grandes sistemas, misturando termos de troca vindos da metodologia HF com parâmetros empíricos.

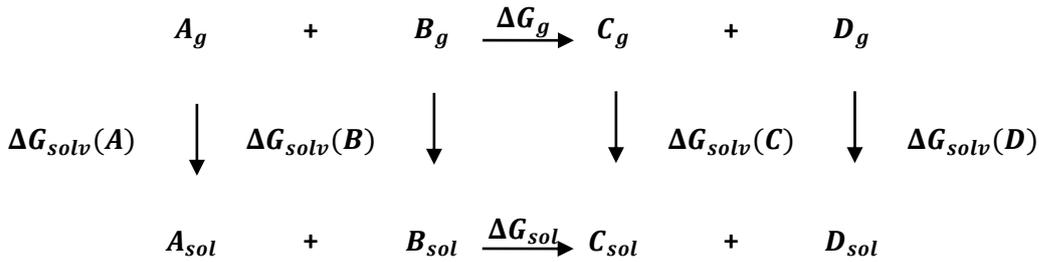
Os funcionais M06 e M062X são funcionais híbridos meta-GGA de troca-correlação (ZHAO & TRUHLAR, 2008). Comparados a outros 14 funcionais e ao método Hartree-Fock, fazendo uso de diversos bancos de dados de termoquímica, espectroscopia, cinética, interações não-covalentes, ligações de metais de transição, energias de excitações atômicas de metais, energias de excitações de moléculas, comprimentos de ligação, frequências vibracionais e energias vibracionais do ponto-zero. Dentre esses, o M06 foi parametrizado de modo a incluir metais de transição e não-metais e o M062X é um funcional não-local parametrizado apenas para não-metais. O M06 destes é considerado o melhor funcional para o estudo termoquímico de compostos organometálicos e inorganometálicos. O M062X e M06 são funcionais muito bons para estudo das interações não covalentes, sendo p M062X um funcional recomendado no estudo dos principais grupos cinéticos e termoquímicos.

3.3 MÉTODOS DE SOLVATAÇÃO

A solvatação pode ser entendida como o processo de transferência de uma molécula em meio gasoso para um meio condensado (MANNHOLD et al., 2009). A importância de estudar o efeito do solvente deve-se ao fato de que a maioria dos processos químicos

ocorrem em solução. Na solvatação, o soluto é transferido de uma posição fixa na fase gasosa, para uma posição fixa em solução, mantendo-se constantes a pressão, a temperatura e a composição do solvente. A energia livre de solvatação ΔG_{solv} é o trabalho necessário para realizar essa transferência. Para um processo geral, a energia livre em solução do processo é calculada através do ciclo termodinâmico mostrado na Figura 3.

Figura 3. Ciclo termodinâmico para a determinação da energia livre em solução



A expressão para o cálculo da energia livre em solução é:

$$\Delta G_{sol} = \Delta G_g + [\Delta G_{solv}(C) + \Delta G_{solv}(D) + \dots] - [\Delta G_{solv}(A) + \Delta G_{solv}(B) + \dots] \quad (27)$$

A energia livre de solvatação é definida da mesma maneira através dos termos de cavitação, interações de repulsão e dispersão e contribuições eletrostáticas:

$$\Delta G_{solvatação} = G_{cav} + G_{ele} + G_{disp-rep} \quad (28)$$

O termo de cavitação G_{cav} é uma cavidade criada para envolver e acomodar o soluto, englobando tanto o trabalho necessário para criar a cavidade como também interações solvente-solvente geradas após a criação da cavidade.

Para simular o processo de solvatação podem ser usados dois tipos de modelos: explícito ou implícito. O modelo implícito é usado quando o sistema estudado contém muitos centenas de átomos e fica inviável adicionar mais centenas ou milhares de átomos de solvente. Em vez disso, a inserção do solvente é feita na forma de um meio contínuo. Nos modelos explícitos, tais como os utilizados em simulações de Dinâmica Molecular ou Monte Carlo, diversas moléculas de solvente são colocadas em volta do sistema, interagindo diretamente com o mesmo. Neste trabalho, visto o tamanho dos sistemas

estudados, o modelo de solvatação implícita se apresenta como o mais indicado e será brevemente descrito a seguir.

3.3.1 SOLVATAÇÃO IMPLÍCITA

Nos modelos de solvatação implícita ou modelos contínuos, o solvente é representado implicitamente por um contínuo polarizável que interage eletrostaticamente com o soluto (CRAMER, 2002).

Born definiu que o soluto poderia ser representado por cargas pontuais, enquanto Kirkwood fez generalizações da aproximação de Born, transformando a distribuição de cargas do soluto numa representação de multipolos, trazendo à tona o conceito de cavidade na qual se encontra o soluto. Onsager definiu a distribuição de cargas como o momento de dipolo do soluto e descreveu a cavidade esférica, introduzindo o conceito de campo de reação (R) descrito na equação 26:

$$R = (2(\varepsilon - 1))/(2\varepsilon + 1) \mu/r \quad (29)$$

onde ε é a constante dielétrica do meio, μ o momento de dipolo do soluto e r o raio da esfera do soluto.

A distribuição de cargas do soluto agora é representada pelo seu momento de dipolo que gera um campo elétrico que polariza o meio dielétrico. O solvente passa então a ser representado como dipolos pontuais. A fim de encontrar o potencial eletrostático gerado da interação entre os dipolos pontuais do solvente e o soluto faz-se uso da equação de Poisson (Eq. 30):

$$\nabla\phi(r) = (-4\pi\rho(r))/\varepsilon \quad (30)$$

onde $\phi(r)$ é o potencial eletrostático, $\rho(r)$ é a densidade de carga e $\varepsilon(r)$ é a constante dielétrica dependente da posição.

A adição das contribuições positivas e negativas para distribuição da densidade de carga de íons em torno do contínuo, conduz a uma alteração na equação 30, levando à equação de Poisson-Boltzmann (JENSEN, 2007).

$$\nabla[\varepsilon(r)\nabla\phi(r)] - \left(\frac{8\pi q^2 I}{k_B T}\right)^2 \left(\frac{k_B T}{q}\right) \text{sen}\left(\frac{q\phi(r)}{k_B T}\right) = -4\pi\rho(r) \quad (31)$$

$$\rho_{\pm}^{\pm} = \pm q c e^{\pm q\phi/k_B T}$$

Onde k_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura, q é a magnitude da carga do eletrólito iônico, o termo $\left(\frac{8\pi q^2 I}{k_B T}\right)^2$ é um parâmetro de Debye-Hückel, ρ_{\pm}^{\pm} é a distribuição de cargas para íons positivos (+) e íons negativos (-) e I é a força iônica da solução dada pela equação abaixo:

$$I = \frac{1}{2} \sum_i z_i^2 \zeta_i \quad (32)$$

onde z é a carga do íon i e ζ a concentração deste íon na solução.

A energia livre dada pelo potencial eletrostático é descrita pela equação:

$$\Delta G_{elec} = 1/2 \int \rho(r) \phi(r) dr \quad (33)$$

O campo de reação auto-consistente, SCRf (*Self-Consistent Reaction Field*) é a união do SCF (*Self-Consistent Field*) usado na descrição da melhor função de onda para sistemas atômicos e moleculares e o método do Campo de Reação de Onsager (TOMASI, MENNUCCI & CAMMI, 2005).

O modelo contínuo de solvatação mais popular é o PCM (*Polarizable Continuum Model*) ou Modelo do Contínuo Polarizável (MIERTUS, SCROCCO & TOMASI, 1981), no qual o soluto é representado por uma distribuição de cargas e o solvente continua sendo representado por um dielétrico contínuo. A distribuição de cargas do soluto polariza o dielétrico ao seu redor e induz novas cargas aparentes sobre a superfície da cavidade que envolve o soluto. Essas cargas induzidas geram o campo de reação que é introduzido no hamiltoniano molecular do soluto como uma perturbação.

A criação de cavidades é realizada através da criação de esferas sobrepostas centradas nos átomos descritas pelos raios de van der Waals. A energia livre de solvatação é descrita através das contribuições de cavitação (G_{cav}), eletrostática (G_{elec}), dispersão e repulsão (G_{d-p}), de acordo como a equação abaixo:

$$G_{solv} = G_{elec} + G_{d-p} + G_{cav} \quad (34)$$

A área superficial do soluto que será exposta ao solvente é formada por pequenas porções de área, completando toda a área superficial, chamadas de *Tesserae*. Cada *Tesserae* é construída para abrigar um ponto de carga e definir a superfície da cavidade que envolve o soluto.

A contribuição da energia de Gibbs de dispersão-repulsão depende da distribuição de solvente ao redor da cavidade do soluto, considerando uma média da energia de interação soluto-solvente, o G_{d-p} representa esta contribuição como uma soma das interações soluto-solvente separadas por uma distância $r_{soluto-solvente}$. Podemos escrever essas interações como

$$\Delta G_{d-p} = \sum_{soluto} \sum_{i=1}^N \sum_{solvente} \vartheta(r_{soluto-solvente}) \quad (35)$$

onde $\vartheta(r_{soluto-solvente})$ é o potencial de Lennard-Jones, com diferentes contribuições deste potencial para o soluto e para o solvente.

O método PCM permite ainda a criação de cavidades mais flexíveis à simetria da molécula e o controle da distância de interação soluto-solvente através de modificações nos raios de Van der Waals, o que aumenta sua aplicabilidade. Existem outros métodos de solvatação implícita, que se diferenciam pela criação da cavidade e pela descrição do potencial eletrostático de interação soluto-solvente.

3.3.2 O MODELO SMD

O modelo de solvatação implícita chamado de SMD (*Solvation Model - Density*) foi desenvolvido para prever a energia livre de solvatação de solutos neutros e iônicos em água e em solventes não aquosos. Para solventes não aquosos, o SMD usa um pequeno conjunto de descritores do solvente que caracterizam suas propriedades (MARENICH; CRAMER & TRUHLAR; 2009).

O modelo SMD é baseado no tratamento do campo de reação auto-consistente da densidade eletrostática que envolve uma integração da equação não homogênea de Poisson

e do protocolo dispersão-cavidade-solvente-estrutura para a contribuição não eletrostática da energia livre de solvatação.

A energia livre padrão de solvatação, que é a energia livre no estado padrão da transferência da fase gasosa para fase condensada, podendo ser particionado de acordo com um novo modelo contínuo de solvatação dado por:

$$\Delta G_s^\circ = \Delta G_{ENP} + G_{CDS} + \Delta G_{conc}^\circ \quad (36)$$

onde o subscrito ENP representa as componentes da energia livre eletrônica (E), nuclear (N), e de polarização (P). O componente de relaxação nuclear do termo ENP é igual à diferença entre a energia total calculada da geometria em equilíbrio na fase gasosa e da geometria em equilíbrio na fase condensada. Se assumirmos que a geometria no equilíbrio nas duas fases é a mesma, então o termo ENP se torna apenas o termo (EP) de polarização eletrônica. O subscrito CDS representa as componentes associadas a mudanças na energia livre, cavitação do solvente (C), variação na dispersão da energia (D), e mudanças na estrutura local do solvente (S). O termo final representa a variação de concentração entre o estado padrão na fase gasosa e na fase líquida.

3.4 Orbitais Naturais de Ligação (NBO)

Löwdin (WEINHOLD & LANDIS; 2005) mostrou que a completa informação contida no operador densidade de primeira e segunda ordem $\hat{\gamma}$ pode ser obtida dos autovetores θ_i (Orbitais naturais), e seus correspondentes autovalores n_i , pela diagonalização da matriz de densidade, obtendo informações sobre as ligações químicas a partir de dois átomos (WEINHOLD & LANDIS, 2005), tal como mostrado na Eq. 35:

$$\hat{\gamma}\theta_i = n_i\theta_i \quad (37)$$

onde $n_i = \langle \theta_i | \hat{\gamma} | \theta_i \rangle$ é o número de ocupação dos orbitais naturais θ_i .

Orbitais naturais localizados são obtidos como autovalores dos blocos formados por funções de base na matriz de densidade. O autovalor localizado satisfaz propriedades de máxima ocupação pela representação da densidade eletrônica associada com o bloco.

Os NBOs podem ser descritos como orbitais moleculares localizados nas ligações químicas. Este conceito de orbitais naturais é usado para distribuir elétrons dentro de orbitais atômicos e moleculares, de modo a descrever cargas atômicas e orbitais de ligação a partir da densidade eletrônica entre átomos. Assim, é possível avaliar quantitativamente o efeito eletrofílico exercido pelos grupos através da interação entre orbitais ligantes e orbitais antiligantes.

3.4 DETERMINAÇÃO DA LIPOFILICIDADE DE PORFIRINAS NA LITERATURA

A lipofilicidade de porfirinas pode ser determinada diretamente pela medida do log P ou estabelecendo uma relação entre o log P e o R_f (coeficiente de retenção cromatográfico), tal como feito para uma série de Mn(III) meso-tetrakis-N-alquilpiridilporfirinas tetracatiônicas através de uma variação do método *shake-flask* (KOS et al., 2009a; KOS et al., 2009b, SPASOJEVIC et al., 2011). Este método determina o coeficiente de partição n-butanol/água e posteriormente é convertido em log P (coeficiente de partição n-octanol/água) (IMLAY, 2003).

Já o cálculo do log P de moléculas em geral se faz a partir de estudos QSPR (relação quantitativa entre estrutura-propriedade), usando um banco de dados contendo informações experimentais e correlacionando com propriedades estruturais e eletrônicas através de regressão linear múltipla para predizer propriedades específicas como log P.

Quase não há trabalhos sobre obtenção do log P em porfirinas catiônicas. Pode-se destacar o trabalho de (ENGELMANN et al., 2007) na determinação da relação entre o coeficiente de partição octanol/água de 20 porfirinas catiônicas, dentre elas algumas N-piridilporfirinas semelhantes às estudadas neste trabalho. O coeficiente de partição octanol/água foi determinado a partir de uma variação do método “*shake-flask*”. O coeficiente foi obtido em n-butanol/água, onde as porfirinas são mais solúveis, e então

correlacionadas com os correspondentes valores do sistema n-octanol/água usando uma curva de calibração utilizando o programa Pallas 3.1.

Diversos trabalhos utilizam DFT para determinar propriedades de interesse, dependendo do tamanho e substituições das porfirinas. Destaca-se o uso de DFT na determinação da energia dos orbitais de fronteira, a fim de entender a interação entre as porfirinas tetra catiônicas e o DNA (PING et al., 2008), bem como estudos teórico-espectroscópicos de porfirinas tetracatiônicas ligadas a diversos ânions (LAN-FEN, XIAN-WEI & FANG-QIONG, 2010), onde o autor aplicou DFT na determinação de estruturas otimizadas, propriedades eletrônicas e frequências vibracionais, entre outras.

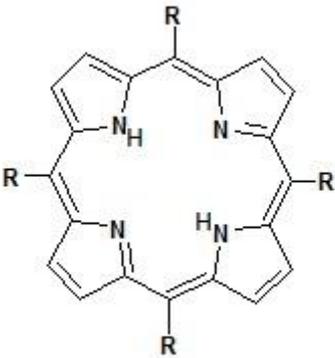
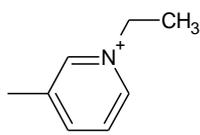
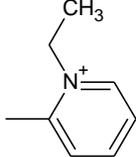
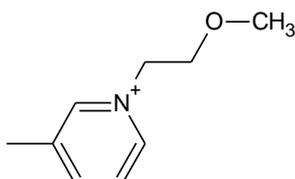
No entanto, cálculos para a determinação de log P de porfirinas a partir da diferença de energia livre de Gibbs de solvatação em n-octanol e água não foram encontrados para porfirinas tetracatiônicas.

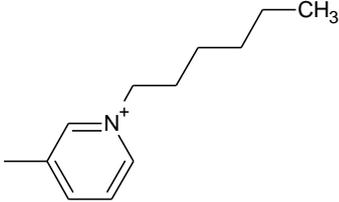
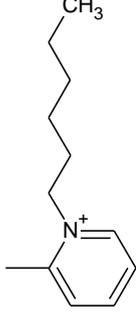
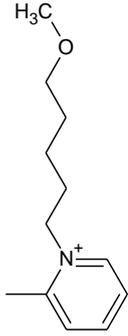
4 METODOLOGIA

A fim de atingir os objetivos deste trabalho, duas séries de porfirinas *meso*-tetra-*N*-aquilpiridilporfirinas e *meso*-tetra-*N*-metoxialquilpiridilporfirinas foram estudadas, cujas estruturas estão representadas nas Tabelas 1 e 2.

Na Tabela 1 estão representadas as estruturas químicas de uma série de porfirinas aqui chamadas de “Série log P”, para as quais foram comparados os valores de log P, calculados por diferentes métodos, com os valores de coeficiente de retenção cromatográfica (R_f) experimentais (TOVMASYAN et al., 2011).

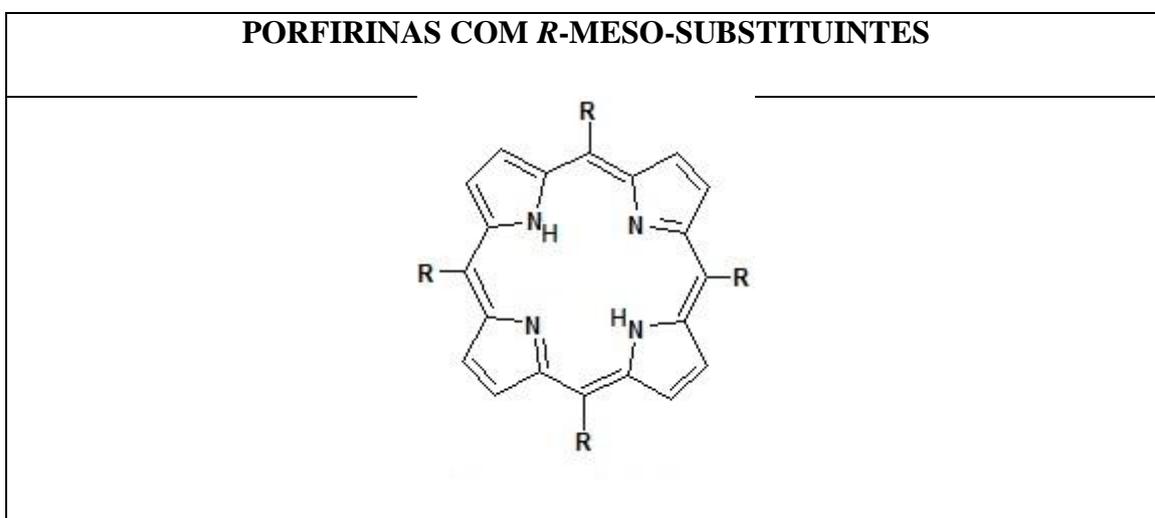
Tabela 1. Estruturas moleculares das porfirinas da “Série log P”.

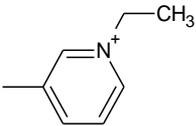
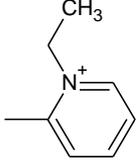
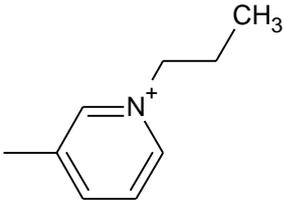
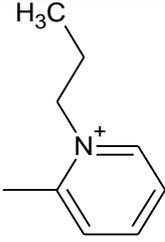
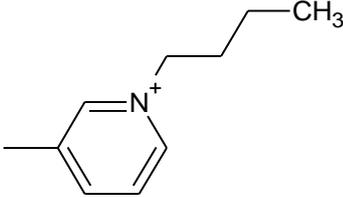
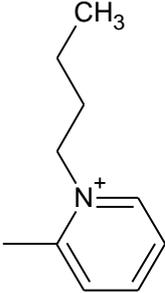
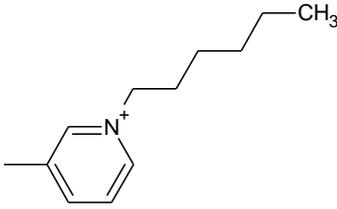
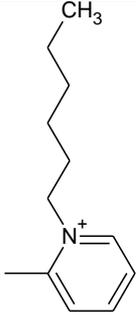
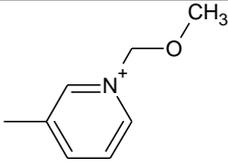
PORFIRINAS COM R-MESO-SUBSTITUINTES	
	
ISÔMEROS <i>meta</i>	ISÔMEROS <i>orto</i>
 H₂TE-3-PyP	 H₂TE-2-PyP
 H₂TMOE-3-PyP	<p>-----</p>

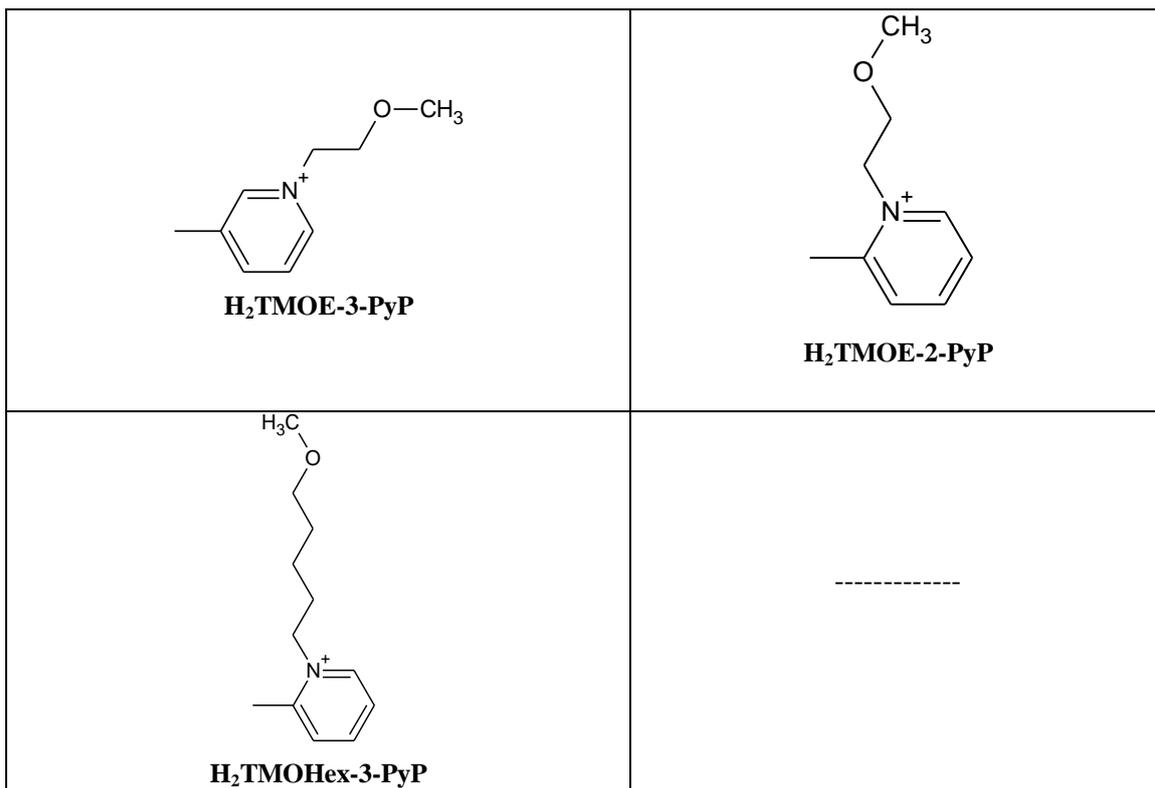
 <p style="text-align: center;">H₂TnHex-3-PyP</p>	 <p style="text-align: center;">H₂TnHex-2-PyP</p>
 <p style="text-align: center;">H₂TMOHex-3-PyP</p>	<p style="text-align: center;">-----</p>

A segunda série, que está representada na Tabela 2, foi chamada “Série Gibbs”. Seu objetivo é verificar a relação entre o aumento do número de carbonos na cadeia alquílica e as energias livres de solvatação.

Tabela 2. Estruturas moleculares das porfirinas da “Série Gibbs”.

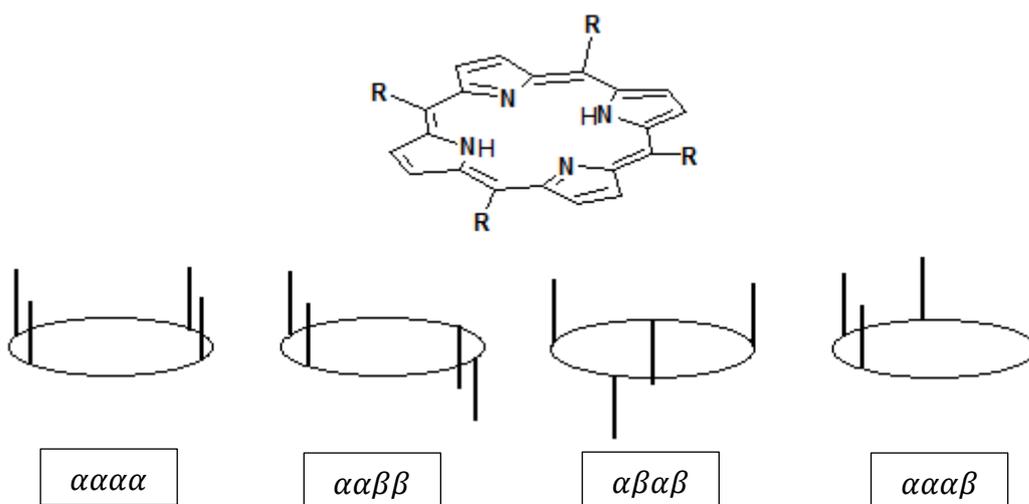


ISÔMERO <i>meta</i>	ISÔMERO <i>orto</i>
 <p data-bbox="475 495 624 524">H₂TE-3-PyP</p>	 <p data-bbox="1054 501 1203 530">H₂TE-2-PyP</p>
 <p data-bbox="453 837 643 866">H₂TnPr-3-PyP</p>	 <p data-bbox="1034 844 1224 873">H₂TnPr-2-PyP</p>
 <p data-bbox="448 1214 651 1243">H₂TnBut-3-PyP</p>	 <p data-bbox="1027 1249 1230 1279">H₂TnBut-2-PyP</p>
 <p data-bbox="453 1626 641 1655">H₂TnHex-3-PyP</p>	 <p data-bbox="1032 1671 1222 1700">H₂TnHex-2-PyP</p>
 <p data-bbox="453 1917 646 1946">H₂TMOE-3-PyP</p>	<p data-bbox="1062 1821 1190 1832">-----</p>



As porfirinas *orto* e *meta* possuem quatro isômeros rotacionais, $\alpha\alpha\alpha\alpha$, $\alpha\alpha\alpha\beta$, $\alpha\alpha\beta\beta$ e $\alpha\beta\alpha\beta$, conhecidos como atropoisômeros (Fig. 4), dependendo da orientação relativa dos grupos *orto* ou *meta* do anel arila (R) em relação ao plano porfirínico.

Figura 4. Representação dos diferentes atropoisômeros das porfirinas estudadas.



Destes atropoisômeros, apenas o $\alpha\alpha\alpha\beta$ foi utilizado neste trabalho, visto que este possui a maior contribuição (50%) na distribuição estatística da mistura dos quatro isômeros rotacionais ($\alpha\alpha\alpha\alpha:\alpha\alpha\alpha\beta:\alpha\alpha\beta\beta:\alpha\beta\alpha\beta = 1:4:2:1$) após a síntese das porfirinas (DATTA; QUINTAVALLA & GROVES, 2006).

Durante o estudo foram utilizados para realização dos cálculos os softwares GAUSSIAN 09 (Gaussian09, 2009), MOPAC 2009 (STEWART, 2009) e NWCHEM 5.5 (Nwchem, 2010). Inicialmente, as moléculas estudadas foram desenhadas usando o software Gaussview (2009) a partir da estrutura cristalográfica de uma das porfirinas estudadas, H₂TM-2-PyP (SPASOJEVIC et al., 2002). Esta estrutura cristalográfica foi alterada pela adição de mais carbonos ligados ao nitrogênio do grupo piridila meso substituinte e rotação de um anel piridila, pois a estrutura cristalográfica é do atropisomero $\alpha\beta\alpha\beta$ e os cálculos são feitos no atropisomero $\alpha\alpha\alpha\beta$.

A etapa seguinte foi a otimização das estruturas com o método PM6, no vácuo e em solução, pois o mesmo apresentou boa concordância das estruturas otimizadas com as estruturas cristalográficas para porfirinas análogas de base livre (não metaladas) (CALVACANTI, 2011). No entanto, devido às baixas correlações obtidas entre os valores de log P calculados com base nos valores de ΔG de solvatação e os valores experimentais dos fatores de retenção R_f , todos os cálculos foram refeitos utilizando o método DFT, com os funcionais B3LYP (BECKE, 1993), M06 (ZHAO & TRUHLAR, 2008) e M062X (ZHAO & TRUHLAR, 2008) e o conjunto de bases 6-311G(d,p) (MCLEAN & CHANDLER, 1980) para os três funcionais.

O cálculo de otimização da geometria em fase gasosa foi realizado a fim de obter uma melhor descrição da geometria das moléculas. Nesta etapa também foram feitos cálculos de frequência. As moléculas cujas geometrias apresentaram alguma frequência imaginária foram reotimizadas. Ao final destas duas etapas os mesmos cálculos foram feitos em solução com os solventes água e octanol, com o método de solvatação PCM, modelo SMD (MARENICH; CRAMER & TRUHLAR, 2009). Verificadas ausências de frequências imaginárias, as propriedades químicas e termoquímicas de interesse foram analisadas.

Inicialmente, estas estruturas foram utilizadas para estimar os valores de log P utilizando os seguintes programas disponíveis gratuitamente (Tabela 3):

Tabela 3. Programas utilizados na determinação do log P

Programa	Tipo	Referência
ALOGPs	Descritores Topológicos	TETKO & TANCHUK, 2002.
ACD logP	Método fragmental	PETRAUSKAS & KOLOVANOV, 2000.
MLOGP^b	Método fragmental	MORIGUCHI et al., 1992.
KOWWIN	Método fragmental	MEYLAN & HOWARD, 1995.
ALOGP	Contribuição dos Átomos	MAURI; CONSONNI; PAVAN & TODESCHINI, 2006.
XLOGP2	Contribuição dos Átomos	WANG; FU & LAI, 1997.
XLOGP3	Contribuição dos Átomos	CHENG et al., 2007.
OCHEM	Método fragmental	SUSHKO et al., 2011.
milogP	Método fragmental	http://www.molinspiration.com
MarvinSketch	Contribuição dos Átomos	VISWANADHAN et al., 1989.

Além disso, os valores de ΔG de solvatação em água e n-octanol calculados com DFT foram utilizados para estimar os valores de log P por meio da equação 6:

$$\log P = -\frac{(\Delta G_{oct} - \Delta G_{\acute{a}gua})}{2,303 RT} \quad (6)$$

Finalmente, diferentes propriedades moleculares foram analisadas e comparadas com os valores de R_f obtidos experimentalmente (TOVMASYAN et al., 2011) a fim de obter possíveis explicações sobre as características estruturais que determinam as diferenças observadas nas lipofilicidades das porfirinas estudadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CÁLCULO DE LOG P COM MÉTODOS BASEADOS NA ESTRUTURA

Atualmente, os modelos teóricos baseados na estrutura são bastante utilizados para prever algumas propriedades químicas de moléculas como o log P, solubilidade, entre outras. Todos esses métodos possuem uma boa precisão para moléculas semelhantes às usadas no banco de dados do programa. Com a finalidade de determinar se esses métodos, que são bem estabelecidos na determinação de propriedades de moléculas menores, podem ser utilizados para prever o log P de uma série de porfirinas tetracatiônicas, foram feitas análises correlacionando os valores de log P obtidos pelos métodos mais conhecidos com medidas experimentais de lipofilicidade baseadas no coeficiente de retenção cromatográfica, R_f .

A Tabela 4 contém os resultados dos cálculos de log P realizados a partir das estruturas da série Gibbs, a Tabela 5 lista apenas um único valor de log P para cada combinação porfirina/programa, uma vez que se para uma dada porfirina e um dado programa, todas as 6 estruturas de mínimo obtidas por qualquer dos 3 métodos DFT (seja em água ou n-octanol) resultaram em uma mesma estimativa de log P já que os programas da Tabela 4 não levam em conta diferenças na estrutura das moléculas. A comparação entre a medida indireta da lipofilicidade (R_f) e o log P calculado é feita abaixo.

Tabela 4. Valores de log P das porfirinas obtidas por diferentes programas.

Programas	log P calculados para as porfirinas						R ² ^c
	H ₂ TE- 3-PyP	H ₂ TE- 2-PyP	H ₂ TMOE- 3-PyP	H ₂ TnHex- 3-PyP	H ₂ TnHex- 2-PyP	H ₂ TMOHex- 3-PyP	
ALOGPs	1,70	2,15	1,10	4,90	4,81	4,09	0,343
ACD logP	3,82	4,33	1,82	11,24	11,61	9,24	0,737
KLOGP^a	2,78	3,95	0,85	-----	-----	-----	-----
MLOGP^b	3,89	3,81	1,60	-----	-----	-----	-----
KOWWIN	6,92	7,61	3,86	14,78	14,78	11,71	0,343
XLOGP2	7,75	8,26	5,30	14,75	15,40	11,03	0,343
XLOGP3	5,90	6,34	3,85	13,77	14,44	9,56	0,343
Average logP	4,68	5,29	2,63	11,89	12,21	9,13	0,343
OCHEM	2,05	4,00	1,23	4,96	5,38	3,94	0,343
milogP	6,56	7,19	4,99	10,06	10,12	9,44	0,343
MarvinSketch	4,44	6,00	2,82	11,86	13,43	8,69	0,615
Valores de R_f	0,22	0,12	0,27	0,54	0,45	0,42	

^a O programa ALOGP não determinou o log P das porfirinas H₂TnHex-3-PyP, H₂TnHex-2-PyP e H₂TMOHex-3-PyP.

^b O programa MLOGP não determinou o log P das porfirinas H₂TnHex-3-PyP, H₂TnHex-2-PyP e H₂TMOHex-3-PyP.

^c Coeficiente de correlação linear entre os valores calculados de log P e os valores experimentais de R_f.

A Tabela 4 mostra que os valores de R² foram baixos para a maioria dos programas, à exceção do ACD logP e do MarvinSketch. Os programas baseados nos métodos fragmentais (KOWWIN, ACD LogP, KLOGP, MLOGP, milogP, OCHEM), baseados na contribuição dos átomos (XLOGP2, XLOGP3, ALOGP, MarvinSketch) e baseado em descritores topológicos (ALOGPs), forneceram o mesmo valor de R² = 0,343, embora não forneçam valores iguais de log P para porfirinas iguais. As baixas correlações lineares encontradas entre os valores calculados por esses métodos e o R_f experimental indicam que os programas utilizados não são recomendáveis para o cálculo de log P de porfirinas

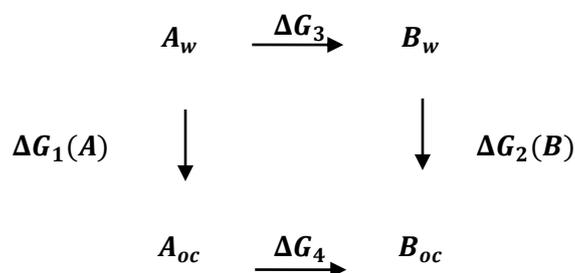
catiônicas. Essa informação é de suma importância e fica de aviso para os colegas pesquisadores que por não ter informação técnica ou recursos computacionais na necessidade de obter resultados sobre a lipofilicidade das porfirinas fazem uso destes programas. O objetivo nesta parte do trabalho é mostrar que os log P obtidos por esses programas para prever a lipofilicidade não devem ser usados pois não traduzem a real lipofilicidade das porfirinas. Esta discussão de resultados vem com um tom de crítica mas principalmente como um alerta para evitar novos e futuros erros.

5.2 CÁLCULO DO LOG P A PARTIR DO ΔG DE SOLVATAÇÃO

O processo de obtenção do log P a partir da diferença da energia de Gibbs de partição entre duas fases é uma teoria já bem fundamentada (BEN-NAIM, 1987). Para descrever o efeito do solvente, é necessário definir parâmetros que representem o grau de interação soluto-solvente. A definição que melhor descreve a interação soluto-solvente foi proposta por Ben-Naim (1987), sendo chamada simplesmente de energia livre de solvatação e representada como ΔG_{solv} .

A Figura 5 mostra o ciclo termodinâmico usado na obtenção do coeficiente de partição octanol/água (log P). O $\Delta G_1(A)$ e $\Delta G_2(B)$ são as energias livres de transferência dos solutos A e B de fase aquosa para a fase octanol (BEST et al., 1998).

Figura 5. Ciclo termodinâmico utilizado no cálculo do coeficiente de partição octanol/água.



$$\Delta G_1 = -RT \ln P_A \quad (39)$$

$$\Delta G_2 = -RT \ln P_B \quad (40)$$

As equações 39 e 40 podem ser usadas para calcular o log P através da energia livre de solvatação calculada a partir de modelos contínuos de solvatação. Assim, a equação 41, baseada na energia livre do ciclo, pode ser utilizada:

$$\Delta G_4 - \Delta G_3 = \Delta G_2 - \Delta G_1 \quad (41)$$

A energia livre de solvatação relativa de A e B pode ser usada para calcular a energia livre relativa de transferência $\Delta G_4 - \Delta G_3$. A equação 40 mostra a relação direta entre a energia livre de transferência e o log P.

$$\Delta G_4 - \Delta G_3 = -2,303RT \log P_{ow} \quad (42)$$

Neste trabalho, a equação 40 foi usada para determinar o log P das porfirinas estudadas a partir dos valores de ΔG de solvatação calculados com os funcionais B3LYP, M06 e M062X, cujos resultados são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores de log P das porfirinas obtidas a partir do ΔG de solvatação calculado com diferentes funcionais.

B3LYP				
PORFIRINAS	$\Delta G_{\text{oct}}^{\text{a}}$ (kcal/mol)	$\Delta G_{\text{água}}^{\text{b}}$ (kcal/mol)	Log P_{calc}^c	R_f^d
H₂TE-3-PyP	-1439,50328	-1439,521542	-9,19	0,22
H₂TE-2-PyP	-1439,48435	-1439,505662	-10,73	0,12
H₂TMOE-3-PyP	-1726,94124	-1726,959356	-9,12	0,27
H₂TnHex-3-PyP	-1834,6798	-1834,075899	-3,98	0,54
H₂TnHex-2-PyP	-1834,05060	-1834,060174	-4,82	0,45
H₂TMOHex-3-PyP	-2121,52463	-2121,512817	-5,95	0,42
R^{2e}	0,98			
M06				
PORFIRINAS	$\Delta G_{\text{oct}}^{\text{a}}$ (kcal/mol)	$\Delta G_{\text{água}}^{\text{b}}$ (kcal/mol)	Log P_{calc}^c	R_f^d
H₂TE-3-PyP	-1438,40675	-1438,42533	-9,35	0,22
H₂TE-2-PyP	-1438,40184	-1438,42213	-1,21	0,12
H₂TMOE-3-PyP	-1725,69181	-1725,71086	-9,58	0,27
H₂TnHex-3-PyP	-1832,63726	-1832,64574	-4,27	0,54
H₂TnHex-2-PyP	-1832,62993	-1832,64198	-6,07	0,45
H₂TMOHex-3-PyP	-2119,91610	-2119,92150	-2,71	0,42
R²	0,75			
M062X				
PORFIRINAS	$\Delta G_{\text{oct}}^{\text{a}}$ (kcal/mol)	$\Delta G_{\text{água}}^{\text{b}}$ (kcal/mol)	Log P_{calc}^c	R_f^d
H₂TE-3-PyP	-1438,89974	-1438,91676	-8,56	0,22
H₂TE-2-PyP	-1438,88673	-1438,90862	-11,02	0,12
H₂TMOE-3-PyP	-1726,23015	-1726,25503	-12,52	0,27
H₂TnHex-3-PyP	-1833,24613	-1833,25518	-4,56	0,54
H₂TnHex-2-PyP	-1833,24251	-1833,25561	-6,59	0,45
H₂TMOHex-3-PyP	-2120,57660	-2120,58777	-5,63	0,42
R²	0,69			

^a Energia Livre de Gibbs em n-octanol.

^b Energia Livre de Gibbs em água.

^c $\log P_{ow}$ calculado segundo a equação 6

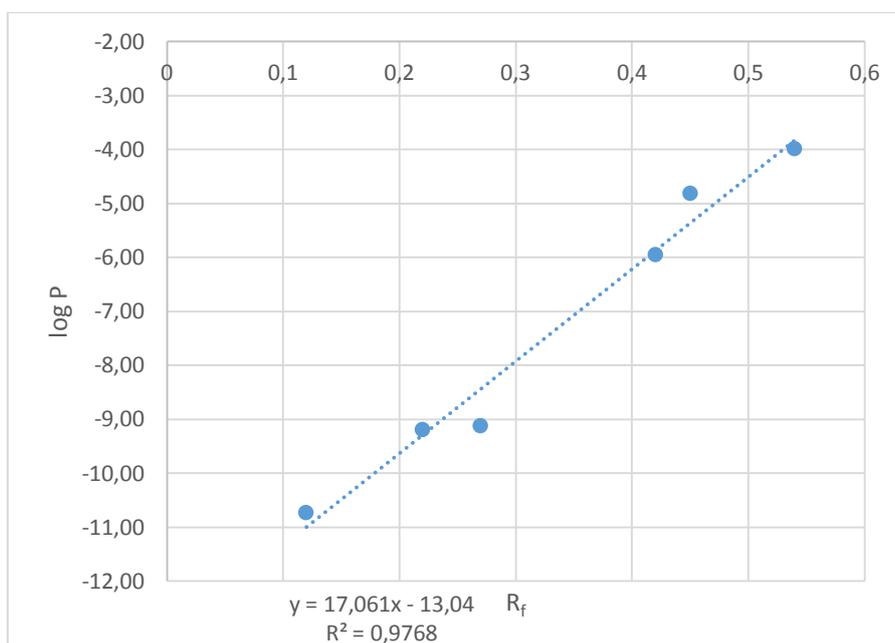
^d Coeficiente de Retenção Cromatográfica experimental [TOVMASYAN et al., 2010].

^e Coeficiente de correlação linear entre os valores calculados de log P e os valores experimentais de R_f.

Comparando os resultados obtidos para os diferentes funcionais, observa-se que o funcional B3LYP apresenta uma maior habilidade de correlação dos valores calculados de log P com a medida experimental de lipofilicidade, tendo sido portanto utilizado para o cálculos das demais propriedades moleculares das porfirinas. O gráfico da correlação linear

entre o log P calculado e o valor de (R_f) é mostrado na Figura 6, indicando que há uma boa correlação entre o log P calculado pela diferença entre as energias de solvatação das porfirinas em água e em n-octanol, significativamente maior do que a obtida pelos programas da Tabela 3.

Figura 6. Correlação Linear entre o log P calculado a partir do ΔG de solvatação (B3LYP) e o R_f experimental.



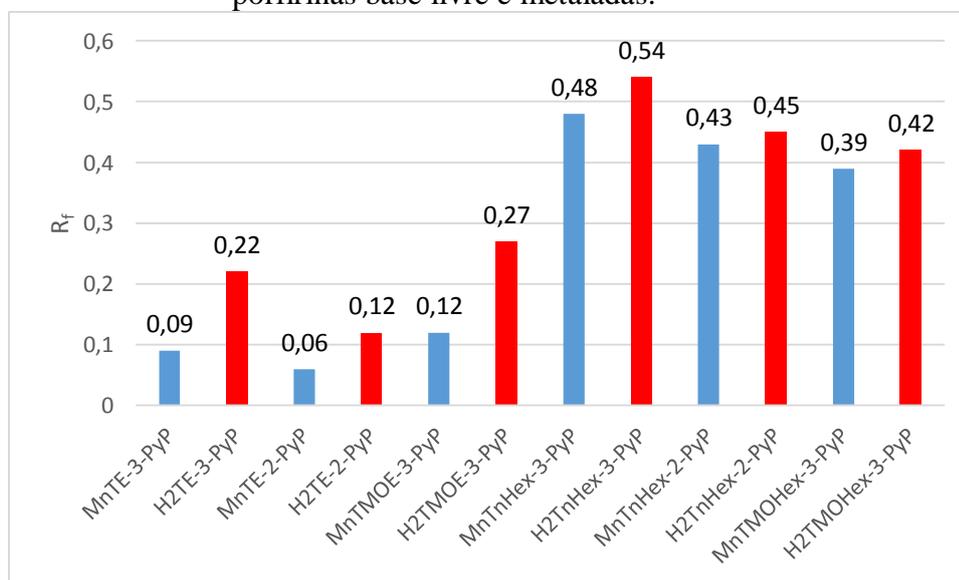
$$\log P_{base-livre} = 17,061R_{f(base-livre)} - 13,04 \quad (43)$$

Os valores experimentais de Log P a partir dos valores medidos do R_f para as porfirinas metaladas (TOVMASYAN et al., 2011), que apresentam um íon manganês em seus centros foram obtidos por meio da equação 43:

$$\log P_{metaladas} = 12,207R_{f(metaladas)} - 8,521 \quad (44)$$

Para as mesmas porfirinas da Série log P, as porfirinas base livre e as metaladas com Mn(III) apresentam as mesmas tendências com relação a alterações estrutural-lipofilicidade, como demonstrado na Figura 7 (TOVMASYAN et al., 2011). Isso indica que os resultados do $R^2=0,98$ para a correlação entre os valores de R_f experimentais e aqueles de log P calculadas com método DFT/B3LYP/6-311(d,p) corroboram a afirmativa de que os valores relativos calculados são confiáveis.

Figura 7. Comparação entre a variação dos valores de R_f experimental com a estrutura das porfirinas base livre e metaladas.



No entanto, os valores calculados para as bases-livres, comparados com os resultados de R_f e log P experimentais das Mn(III)-porfirinas, indicariam que as porfirinas base-livre seriam menos lipofílicas que os complexos de Mn(III) e isso não é o que se observa experimentalmente. Dados de R_f das porfirinas base-livre tetracatiônicas H_2P^{4+} são consistentemente maiores que aqueles dos complexos de Mn(III)P pentacatiônicos correspondentes (BATINIC-HABERLE et al., 2002), indicando que a lipofilicidade das base-livre, H_2P^{4+} , diminui com a metalação com Mn(III).

A redução das Mn(III)-porfirinas com ascorbato resultou na formação dos complexos tetracatiônicos correspondentes $Mn(II)P^{4+}$, os quais apresentaram valores de R_f (e, conseqüentemente, lipofilicidade) maiores que os complexos $Mn(III)P^{3+}$ de partida (SPASOJEVIC et al., 2011). Estas observações experimentais estão de acordo com a intuição química de que um aumento da carga total do composto deveria reduzir a

lipofilicidade do sistema. Tomando-se os valores experimentais de lipofilicidade das Mn(III)-porfirinas $Mn(III)P^{5+}$ como referência, a menor lipofilicidade calculada neste trabalho para as porfirinas base-livre H_2P^{4+} pareceria, à primeira vista, inconsistentes. Enquanto uma análise superficial do problema poderia indicar a inclusão de algum fator de correção ou ajuste no cálculo para sanar essa discrepância, uma análise minuciosa pode revelar algumas peculiaridades importantes do sistema que podem estar sendo ignoradas e que justificariam a diferença entre os resultados experimentais e os teóricos.

A aparente divergência entre os valores experimentais de lipofilicidade para $Mn(III)P^{5+}$ e aqueles calculados para H_2P^{4+} poderia ser perfeitamente acomodada se houver espaço para se questionar a natureza das espécies químicas em solução durante as medidas experimentais da lipofilicidade e que dariam origem aos valores de “referência”. Enquanto as porfirinas base-livre e os correspondentes complexos de Mn(III) são isolados como sais tetra e pentacatiônicos, respectivamente, não se pode garantir que cátions e ânions nestes compostos estejam completamente dissociados, isto é, que se comportem verdadeiramente como eletrólitos 1:4 ou 1:5, respectivamente.

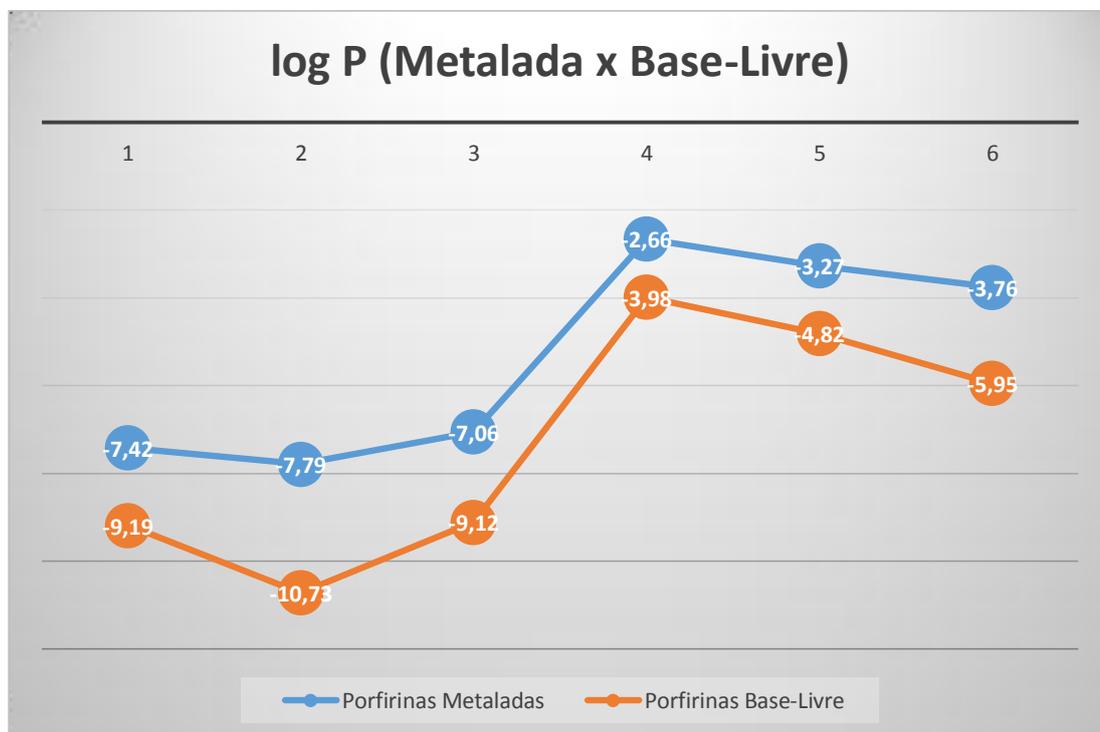
A formação de pares iônicos, em alguma extensão (por exemplo, $\{[H_2P]^{4+}Cl^{-}\}^{3+}$ e $\{[MnP]^{5+}Cl^{-}\}^{4+}$) reduziria a carga total do composto levando a uma lipofilicidade “aparente” menor que aquela esperada para um composto de carga total maior. Existem, inclusive, alguns experimentos em que a formação de par iônico nestes sistemas é explorada, como, por exemplo, na aquisição de espectros de massas com ionização por electrospray (ESI-MS), onde o ânion heptafluorobutirato ($HFBA^{-}$) é adicionado ao sistema em análise para formação de pares iônicos do tipo $[MnP^{5+} + HFBA^{-}]^{4+}$, $[MnP^{5+} + 2 HFBA^{-}]^{3+}$ e $[MnP^{5+} + 3 HFBA^{-}]^{2+}$ (REBOUÇAS et al., 2008). É importante ressaltar ainda que inclusive as medidas de lipofilicidade, a partir dos valores de R_f de cromatografia de camada delgada, são efetuadas usando uma solução de alta força iônica ($KNO_{3(sat)}:CH_3CN:H_2O$, 1:1:8 v/v/v) como eluente (KOS et al., 2009a, 2009b).

Portanto, não se pode excluir, neste momento, que os valores experimentais reportados na literatura para lipofilicidade não sejam, de fato, estes valores “aparentes” resultantes de pares iônicos, mas que são tomados (inapropriadamente) como referência para as espécies completamente dissociadas. No presente estudo, foram efetuados cálculos unicamente para as espécies completamente dissociadas, as quais podem guardar alguma relação de semelhança com as espécies/pares iônicos experimentais, o que poderia justificar o fato de que, embora a tendência geral observada para o efeito dos substituintes

sobre a lipofilicidade seja apropriadamente descrita e concordante com a tendência experimentalmente observada, os valores absolutos entre os resultados teóricos e experimentais deveriam necessariamente divergir.

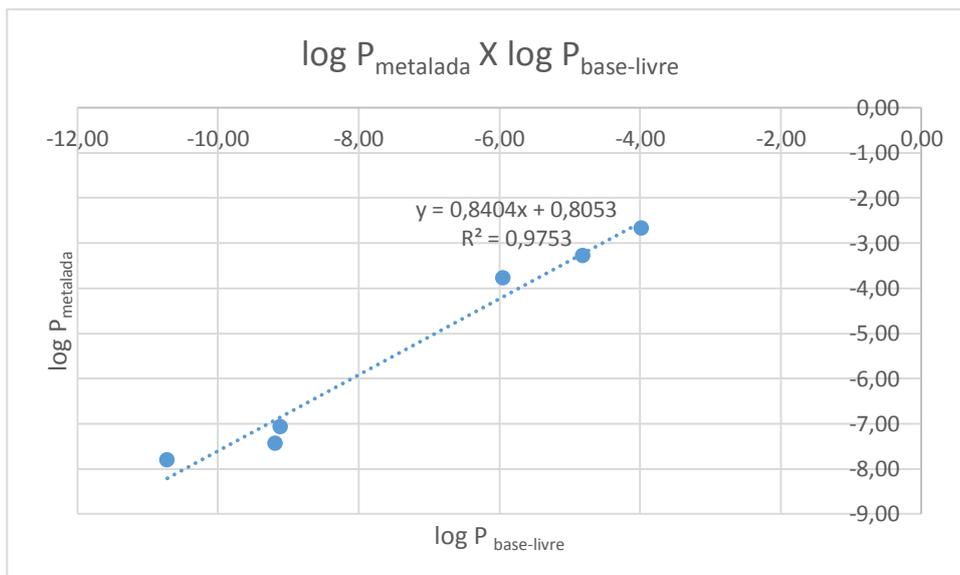
A Figura 8 mostra a correlação entre os log P experimentais das porfirinas metaladas e o log P calculado neste trabalho das porfirinas base-livre.

Figura 8. Comparação entre o log P calculados para a mesma série de porfirinas base-livre e log P determinados experimentalmente para as análogas metaladas com Mn.



A Figura 8 mostra que as tendências com respeito à lipofilicidade (log P) são bem próximas entre a série de porfirinas estudadas para metaladas e base-livre. Em conjunto com os dados de R_f justificam o uso de porfirinas base-livre para o estudo e planejamento de novas porfirinas metaladas com a lipofilicidade desejada. O uso das porfirinas base-livre são uma vantagem em relação às porfirinas metaladas, visto que as base-livres são menos custosas computacionalmente.

Figura 9. Correlação linear entre o $\text{Log } P_{\text{metalada}}$ e o $\text{Log } P_{\text{base-livre}}$ calculado para a “série Log P” de porfirinas.



$$\log P_{\text{metalada}} = 0,8404 \log P_{\text{base-livre}} + 0,8053 \quad (45)$$

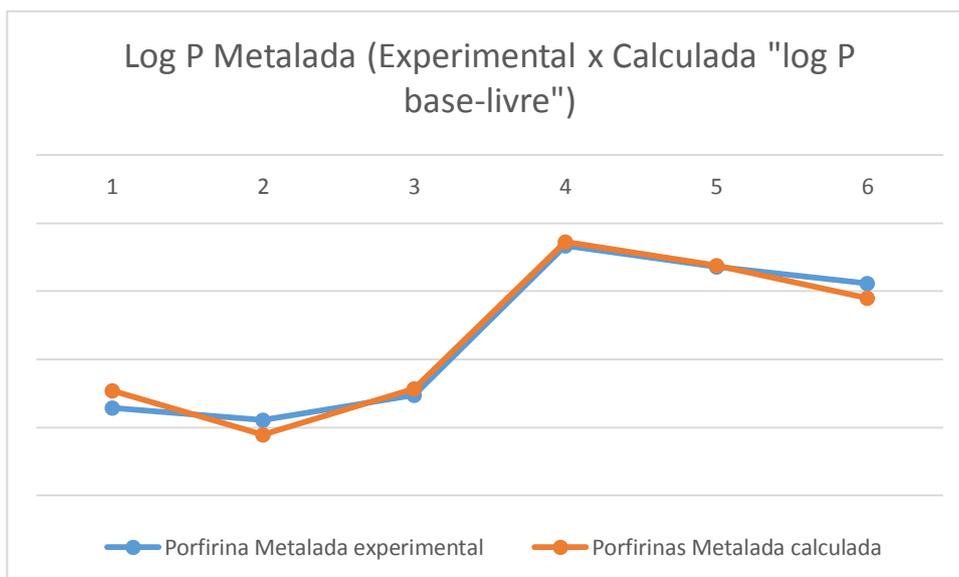
A excelente correlação linear ($R^2 = 0,97$) entre o $\log P_{\text{metalada}}$ e $\log P_{\text{base-livre}}$ demonstra a possibilidade de que a partir de cálculos de teóricos das porfirinas base-livre estimar os valores do $\log P$ experimentais para porfirinas metaladas com manganês pela equação (45).

A tabela 6 mostra a série $\log P$, para as porfirinas de manganês obtida a partir da equação (45).

Tabela 6. Correlação entre os valores dos $\log P$ obtidos experimentalmente e calculados pela equação acima, para a mesma série $\log P$ de porfirinas metaladas.

PORFIRINAS	Log P_{base-livre}	Log P_{metalada}	Log P_{metalada-calculado}
H₂TE-3-PyP	-9,19	-7,42	-6,91 ± 0,3
H₂TE-2-PyP	-10,73	-7,79	-8,20 ± 0,3
H₂TMOE-3-PyP	-9,12	-7,06	-6,85 ± 0,3
H₂TnHex-3-PyP	-3,98	-2,66	-2,54 ± 0,3
H₂TnHex-2-PyP	-4,82	-3,27	-3,24 ± 0,3
H₂TMOHex-3-PyP	-5,95	-3,76	-4,19 ± 0,3

Figura 10. Correlação entre os valores dos $\log P$ obtidos experimentalmente e calculados pela equação 45, para a mesma série $\log P$ de porfirinas metaladas.



A Figura acima mostra a correlação entre os log P experimentais e obtidos a partir da equação (45) para a série log P, devido à alta correlação linear entre os log P das porfirinas com manganês (metaladas) e das porfirinas sem manganês (base-livre) é viável o uso da equação acima como um meio para a predição da lipofilicidade de porfirinas de manganês das séries estudadas este trabalho.

5.3 RELAÇÃO ENTRE ΔG E A NATUREZA DA CADEIA ALQUÍLICA

Uma análise da variação nos valores de ΔG de solvatação, e sua consequente influência na lipofilicidade, foi feita aumentando-se sistematicamente o número de carbonos ou introduzindo oxigênios na cadeia alquílica das porfirinas, compondo-se assim a Série Gibbs. A Tabela 7 mostra os valores de ΔG de solvatação em água e n-octanol calculados.

Tabela 7. Valores das energias de solvatação calculados pelo método B3LYP em função da natureza da cadeia alquílica nas porfirinas da “Série Gibbs”.

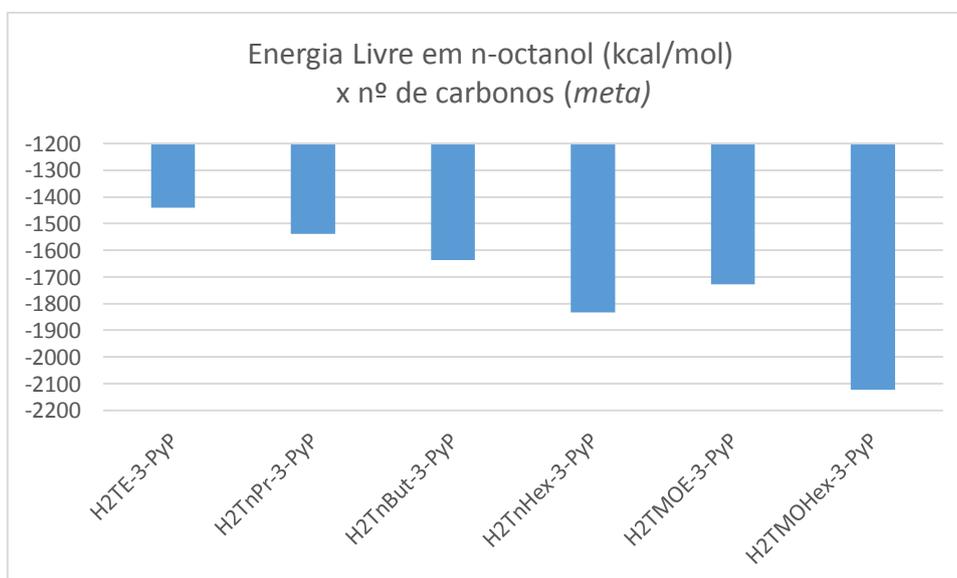
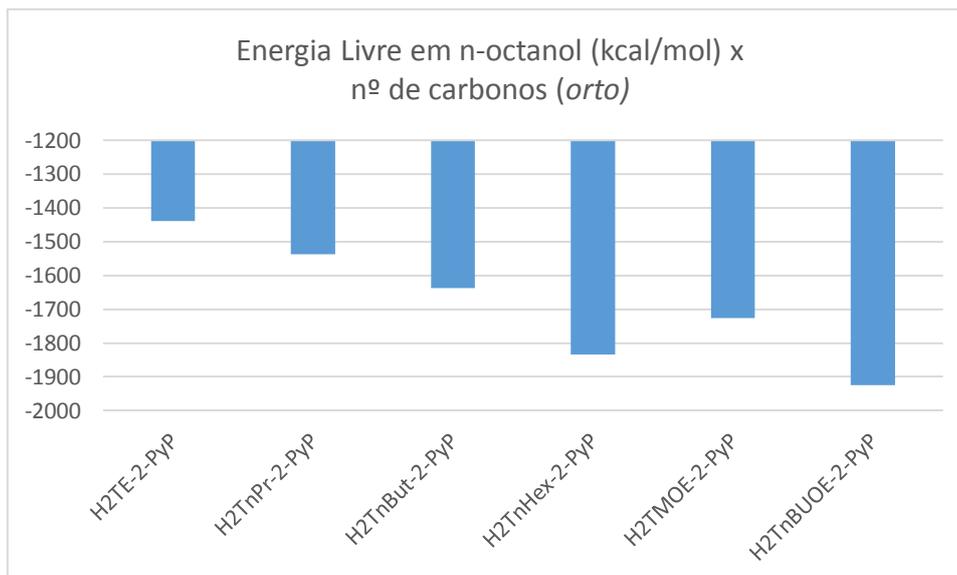
PORFIRINA	B3LYP	
	ΔG_{oct} (kcal/mol)	$\Delta G_{\text{água}}$ (kcal/mol)
H ₂ TE-2-PyP	-1439,48169	-1439,50052
H ₂ TnPr-2-PyP	-1538,12619	-1538,13874
H ₂ TnBut-2-PyP	-1636,76440	-1636,78323
H ₂ TnHex-2-PyP	-1834,04712	-1834,05967
H ₂ TMOE-2-PyP	-1726,92563	-1726,94881

H₂TnBUOE-2-PyP	-1924,21397	-1924,23374
H₂TE-3-PyP	-1439,50052	-1439,51934
H₂TnPr-3-PyP	-1538,13874	-1538,15756
H₂TnBut-3-PyP	-1636,78323	-1636,79578
H₂TnHex-3-PyP	-1834,06594	-1834,07222
H₂TMOE-3-PyP	-1726,93752	-1726,96262
H₂TMOHex-3-PyP	-2121,52177	-2121,50922

Os dados da Tabela 7 demonstram que à medida que se aumenta um carbono na cadeia n-alquil ligada ao nitrogênio do piridil, a energia livre de Gibbs de solvatação vai ficando cada vez mais negativa, corroborando o fato de que o aumento no número de carbono torna a molécula mais lipofílica (KOS et al., 2009). Já as porfirinas *meta* estudadas apresentam energia livre de Gibbs de solvatação mais negativas em n-octanol do que em água, e mais negativas do que suas análogas *orto*, o que está de acordo com o fato de que os isômeros *meta* são mais lipofílicos que os isômeros *orto* (comparação realçada em verde na Tabela 6). Seguindo o mesmo raciocínio, os valores para a porfirina oxigenada *H₂TMOE-3-PyP* estão de acordo com os dados experimentais, pois observa-se um ΔG mais negativo que sua análoga *meta* (realçadas em amarelo na Tabela 7).

Por outro lado, a porfirina *H₂TnHex-3-PyP*, que apresenta um maior valor de R_f do que sua correspondente oxigenada *H₂TMOHex-3-PyP* e é portanto mais lipofílica do que esta última, apresenta uma tendência contrária nos valores de ΔG de solvatação (ΔG mais positivo, quando deveria ser mais negativo – comparação realçada em lilás na Tabela 7). Isso indica que a lipofilicidade está relacionada a outras propriedades moleculares e não somente ao ΔG de solvatação. Esses resultados são sumarizados na Figura 11.

Figura 11. Relação entre energia de Gibbs de solvatação e a natureza da cadeia n-alquil ligada aos *meso*-piridis.



5.4 PROPRIEDADES MOLECULARES E LIPOFILICIDADE

Grande parte das moléculas é transportada através da membrana celular por difusão passiva. A difusão simples é o tipo de transporte que ocorre pela diferença no gradiente de concentração do soluto, ou seja, de uma área de alta concentração para uma área de baixa concentração sem gasto de energia. A taxa de difusão é diretamente proporcional a esse gradiente e depende da solubilidade em lipídios, grau de ionização, carga, tamanho da

molécula e área de superfície de absorção. Naturalmente, essas propriedades influenciam a biodisponibilidade das moléculas, que é um fator determinante para a eficácia *in vivo* das porfirinas em estudo, juntamente com sua capacidade antioxidante e toxicidade.

Assim, um estudo da relação entre algumas destas propriedades e a medida da lipofilicidade experimental disponível (R_f) foi realizado, a fim de estimar qual delas teria influência na absorção das porfirinas através da membrana celular e, conseqüentemente, na biodisponibilidade das porfirinas estudadas.

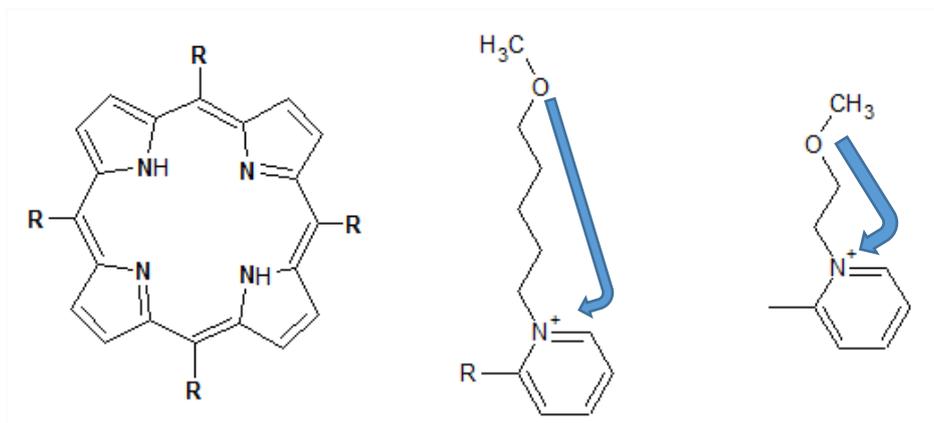
5.4.1 CARGAS PARCIAIS NBO

Devido à bicamada lipídica celular ser formada por fosfolipídios com carga, o estudo das cargas das tetra *N*-alquilpiridil porfirinas é de fundamental importância, pois uma interação entre as cargas dos fosfolipídios e das porfirinas pode facilitar ou dificultar a passagem através da membrana celular, o que influencia diretamente na biodisponibilidade do composto.

As análises populacionais dos orbitais naturais de ligação (NBO) foram efetuados em nível DFT/B3LYP/6-311(d,p), utilizando o programa NBO 5 que se encontra implementado no pacote GAUSSIAN 09.

Os resultados desses cálculos são mostrados na Tabela 8. A análise das cargas parciais NBO das tetra-*N*-alquilporfirinas revelou que a presença de um átomo de oxigênio na cadeia lateral da *meta N*-metoxietilpiridilporfirina ($H_2TMOE-3-PyP$) aumenta as cargas parciais nos nitrogênios, quando comparados aos nitrogênios das porfirinas análogas que não possuem oxigênio. Por outro lado, no análogo *meta n*-hexil ($H_2TMOHex-3-PyP$), o oxigênio, por estar mais distante do grupo piridila, apresenta pouco ou nenhum efeito na carga parcial dos nitrogênios. As cargas parciais do nitrogênio das piridilas estão diretamente relacionadas a posição do oxigênio na cadeia *n*-alquil, cargas estas que possuem grande impacto na biodisponibilidade das porfirinas no organismo e conseqüentemente quando impacto nos valores da lipofilicidade.

Figura 12. Relação entre a posição do oxigênio e sua influência nas cargas parciais a medida que se aproxima do nitrogênio da piridila.



Carga do Nitrogênio ↓

Carga do Oxigênio ↑

Quando se comparam as análogas *orto* e *meta*, a carga parcial no nitrogênio é sempre mais alta nas porfirinas *meta*, o que indica uma possível melhora na interação eletrostática com os grupos fosfato da membrana celular, resultando numa melhor absorção *in vivo*, como pode ser observado na Tabela 8.

Tabela 8. Cargas parciais NBO das porfirinas.

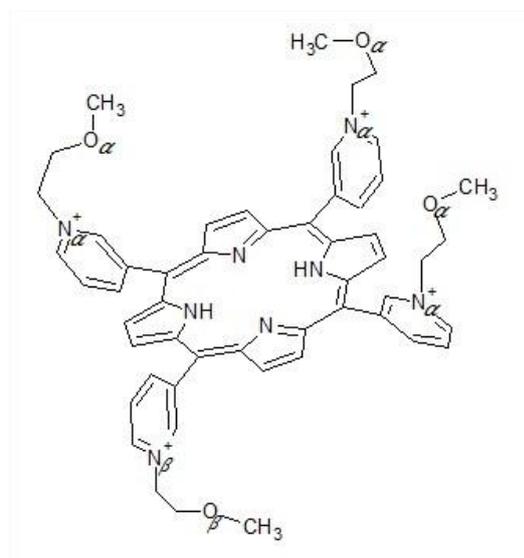
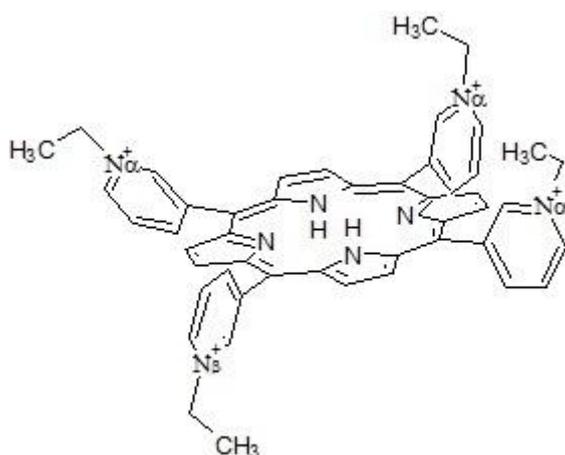
PORFIRINAS	Cargas Parciais (NBO)							
	N _α ^a	N _α	N _α	N _β	O _α	O _α	O _α	O _β
H₂TE-3-PyP	-0,29482	-0,29484	-0,29489	-0,29473	-----	-----	-----	-----
	-0,29347	-0,29392	-0,29369	-0,29377	-----	-----	-----	-----
H₂TE-2-PyP	-0,29892	-0,30264	-0,30258	-0,2987	-----	-----	-----	-----
	-0,29617	-0,30024	-0,30028	-0,29624	-----	-----	-----	-----
H₂TMOE-3-PyP	-0,29612	-0,29592	-0,29599	-0,29604	-0,60004	-0,59807	-0,59832	-0,59969
	-0,29549	-0,29511	-0,29523	-0,29529	-0,60593	-0,60504	-0,60607	-0,60573
H₂TnHex-3-PyP	-0,29071	-0,29068	-0,2906	-0,29073	-----	-----	-----	-----
	-0,28979	-0,28949	-0,28983	-0,28972	-----	-----	-----	-----
H₂TnHex-2-PyP	-0,3008	-0,29998	-0,30077	-0,29948	-----	-----	-----	-----
	-0,29739	-0,29698	-0,2974	-0,29748	-----	-----	-----	-----
H₂TMOHex-3-PyP	-0,29071	-0,29039	-0,29053	-0,29029	-0,60187	-0,60126	-0,60169	-0,60129
	-0,2898	-0,28977	-0,28981	-0,28971	-0,61572	-0,61497	-0,61473	-0,61588

^a Cargas parciais em n-octanol e água dos nitrogênios no anel pirimídico, respectivamente nesta ordem, primeiro a carga em n-octanol e depois em água.

^{b, c} Cargas parciais em n-octanol e água do nitrogênio que está ligado ao hidrogênio no centro da porfirina.

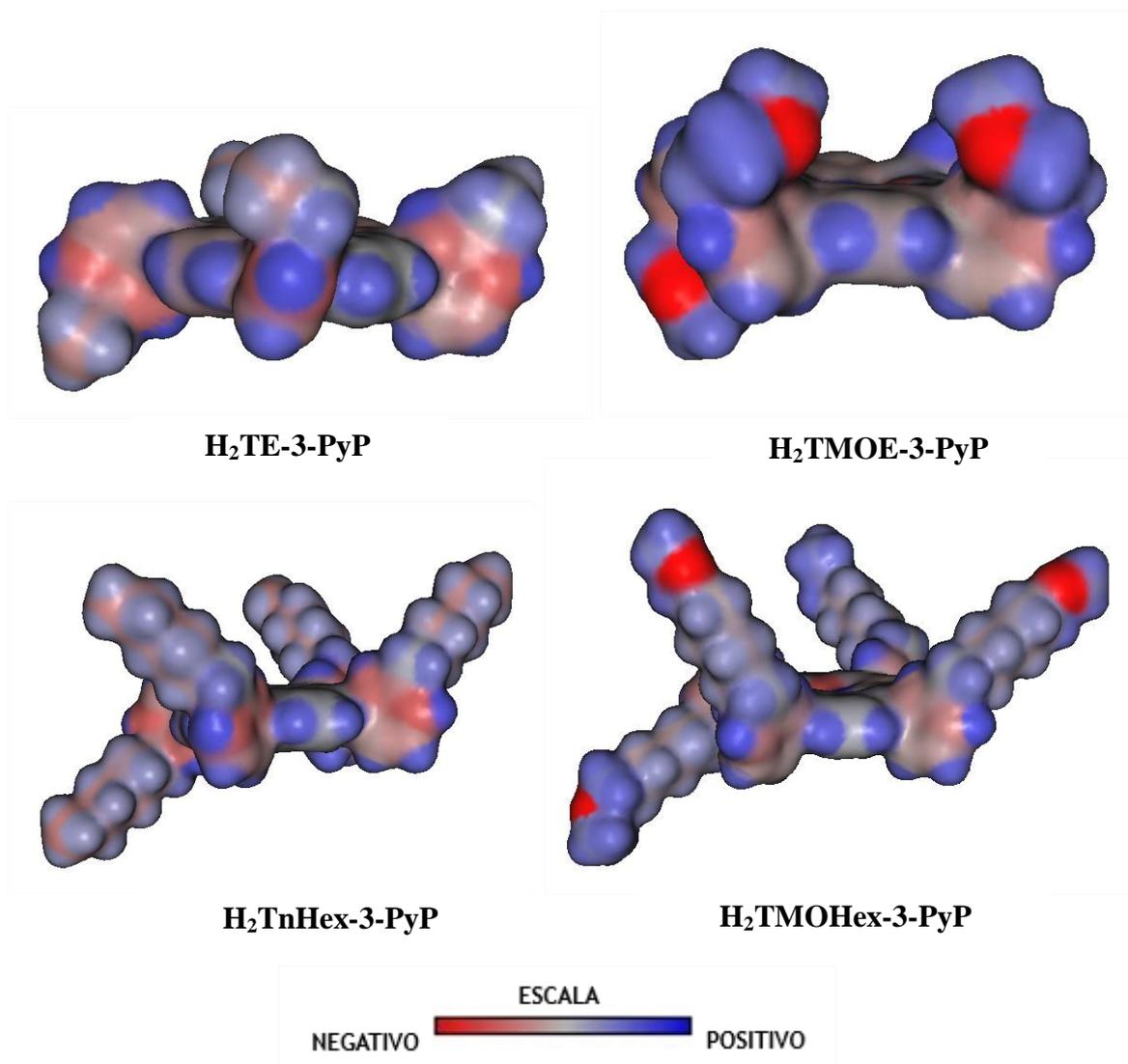
Além do aumento nas cargas dos nitrogênios nos anéis piridilas, houve também uma diminuição das cargas parciais dos oxigênios com o aumento do número de carbonos entre o oxigênio na ponta da cadeia alquílica e o nitrogênio da piridila (ver Figura 12).

Figura 13. Posições dos nitrogênios e oxigênios alfa e beta.



Este resultado mostrou que a proximidade do oxigênio influencia na distribuição de cargas da porfirina. A carga do nitrogênio piridílico se torna maior à medida que a distância em relação ao oxigênio se torna maior, aumentando, à primeira vista, a capacidade de interação eletrostática da porfirina com grupos carregados negativamente e seu caráter eletro-aceptor. Esses resultados podem ser visualizados na Figura 14, que mostra o mapa do potencial eletrostático para as porfirinas análogos (oxigenadas e não oxigenadas).

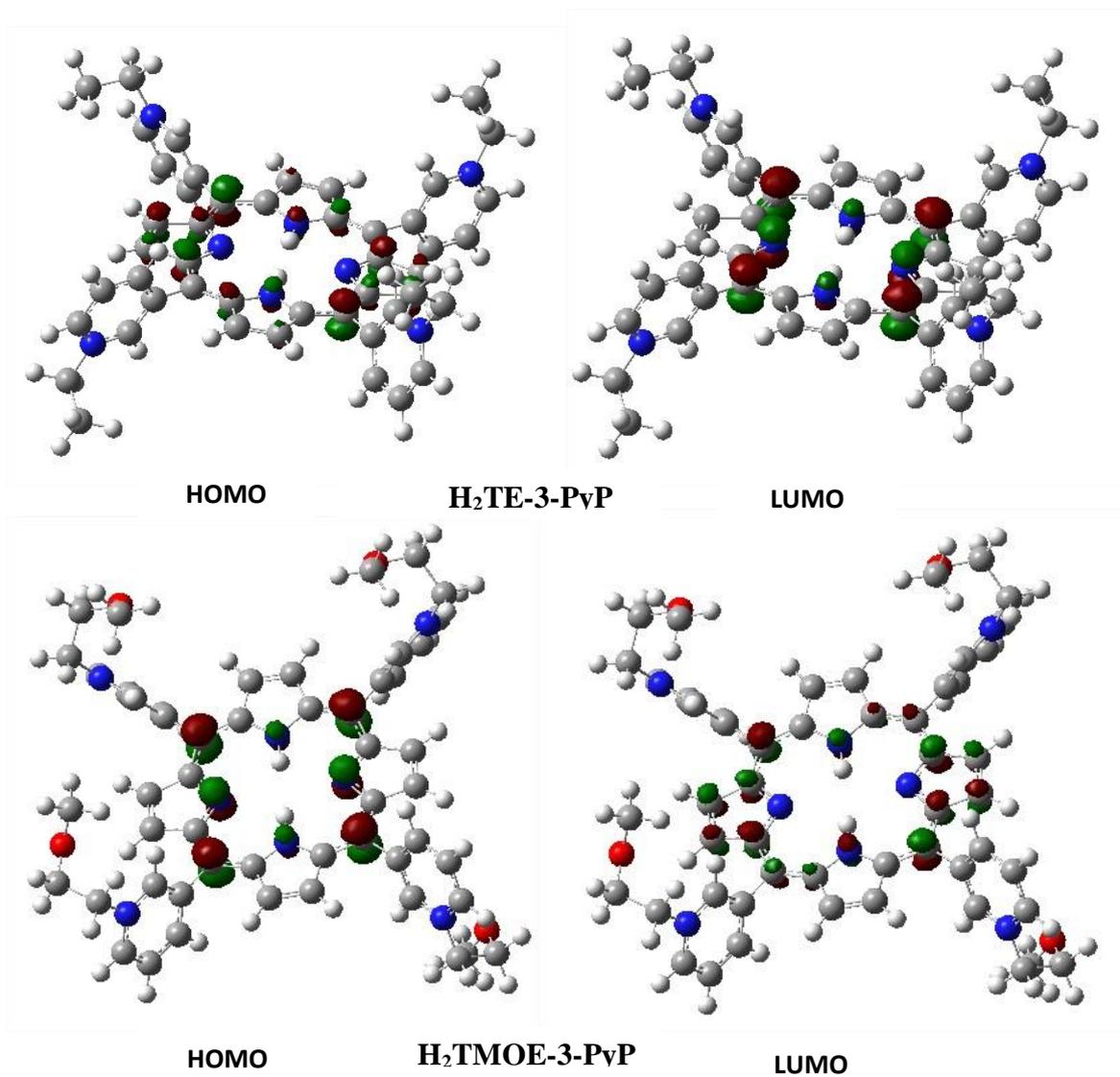
Figura 14. Mapa do Potencial Eletrostático de algumas porfirinas

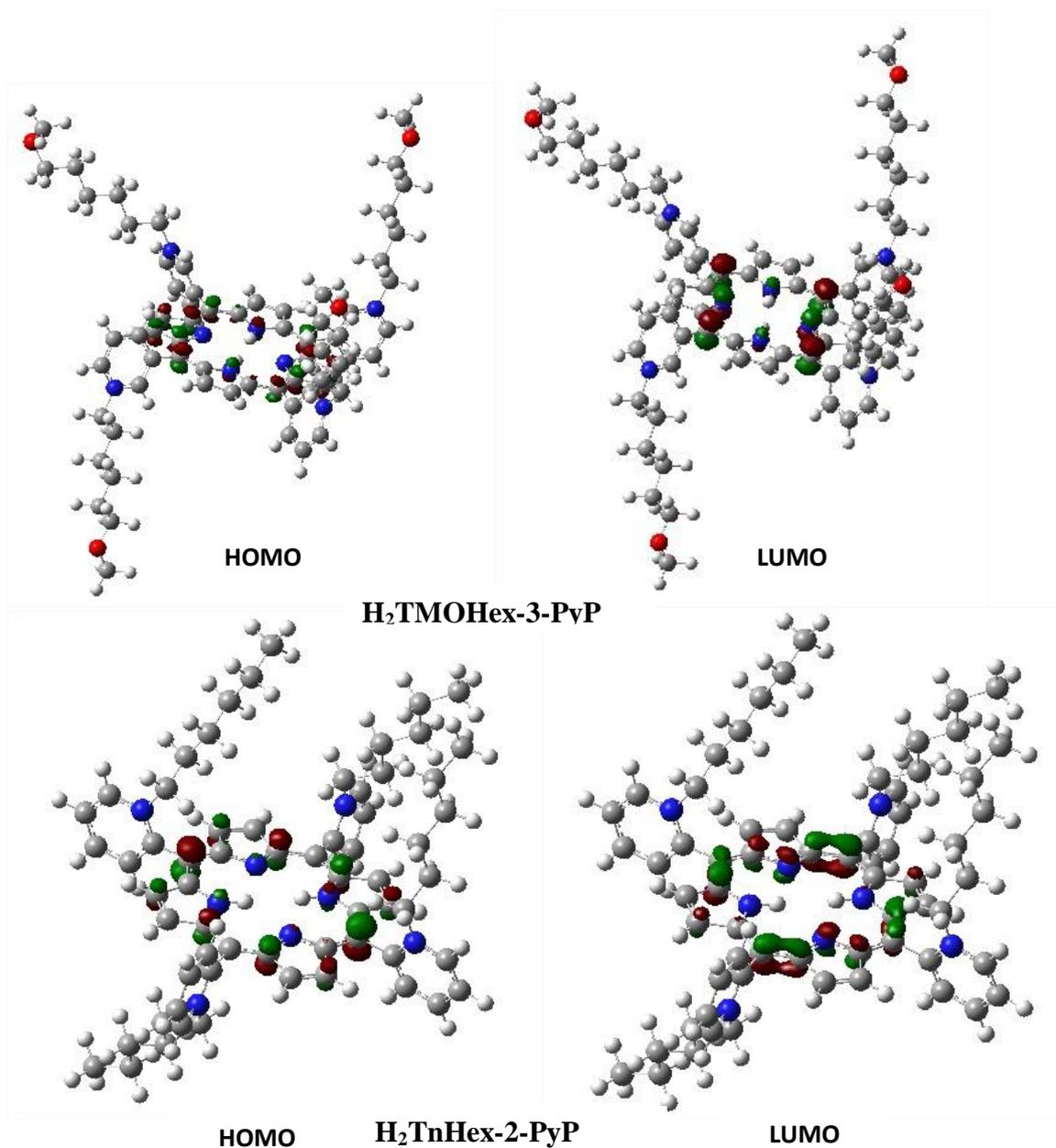


5.4.2 ORBITAIS DE FRONTEIRA NBO

A análise dos orbitais de fronteira foi feita a partir do HOMO (do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (do inglês *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Quando falamos de orbitais de fronteira, queremos dizer, orbitais de Kohn-Sham, uma vez que estes orbitais foram obtidos a partir de cálculos em nível DFT. Os orbitais de Kohn-Sham HOMO e LUMO para algumas porfirinas são mostrados na Figura 15.

Figura 15. Orbitais de Fronteira HOMO (esquerda) e LUMO (direita).





A análise dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO deixa evidente que a presença do oxigênio na cadeia alquílica não influencia na localização dos orbitais moleculares, que se apresentam concentrados no plano central das porfirinas, o que indica que ligações químicas entre os oxigênios da cadeia alquílica e outros átomos não é favorecida, não estando envolvidos na lipofilicidade dessas moléculas.

5.4.3 POLARIZABILIDADE

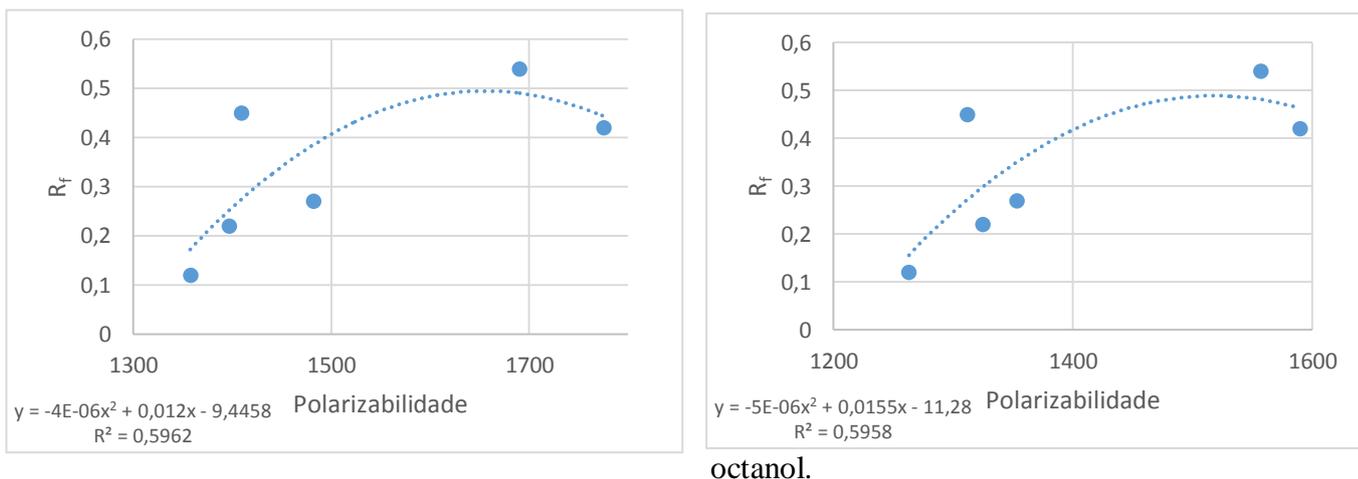
A polarizabilidade mede a capacidade que um átomo ou molécula tem de mudar sua distribuição eletrônica em resposta a um campo elétrico externo (E). Quanto maior a polarizabilidade, mais facilmente sua densidade eletrônica se distorce e gera um dipolo momentâneo. Esta é uma propriedade molecular importante na descrição de uma grande quantidade de fenômenos, desde interações intermoleculares (MAITLAND et al., 1987) até processos ópticos lineares e não lineares. A Tabela 9 mostra os valores das polarizabilidades calculados a partir das estruturas otimizadas das porfirinas com o programa GAUSSIAN 09, a partir das frequências estáticas (RICE & HANDY, 1992).

Tabela 9. Valores das Polarizabilidades das porfirinas.

PORFIRINAS	Polarizabilidade (Bohr ³)						R _f
	B3LYP		M06		M062X		
	água	n-octanol	água	n-octanol	água	n-octanol	
H ₂ TE-3-PyP	1396,87	1324,90	1447,887	1350,887	1364,91	1277,44	0,22
H ₂ TE-2-PyP	1357,72	1262,90	1374,898	1276,834	1304,68	1215,63	0,12
H ₂ TMOE-3-PyP	1482,09	1353,20	1553,317	1454,589	1473,45	1383,64	0,27
H ₂ TnHex-3-PyP	1689,79	1556,86	1686,206	1582,779	1571,32	1479,06	0,54
H ₂ TnHex-2-PyP	1409,23	1311,77	1425,111	1335,327	1327,25	1244,33	0,45
H ₂ TMOHex-3-PyP	1774,86	1590,02	1685,708	1583,813	1584,38	1492,79	0,42
R²	0,48	0,52	0,48	0,50	0,39	0,41	

Os resultados da tabela 9 mostra os R² referentes a correlações lineares entre o R_f e a polarizabilidade, estas correlações lineares de apresentaram muito baixas, com muitos “outliers”. As Figuras 16a e 16b mostram uma melhora nas correlações quando não-lineares (polinomial) entre as polarizabilidades em água e n-octanol. As correlações polinomiais embora sejam mais promissoras ainda estão incompletas, sendo necessário um maior número de porfirinas para ter certeza se a polarizabilidade é relevante ou não como um bom descritor para a análise das lipofilicidades desta série de porfirinas.

Figura 16. Correlação Linear entre o R_f experimental e a Polarizabilidade calculada com o funcional B3LYP em (a) água e (b) n-



(a)

(b)

5.4.4 VOLUME MOLECULAR.

A Tabela 10 mostra os valores dos volume moleculares das porfirinas, obtidos com o programa GAUSSIAN 09 em água e n-octanol, determinado pela integração de Monte-Carlo a partir do volume dentro de um contorno de $0,001 \text{ electrons/Bohr}^3$ da densidade eletrônica.

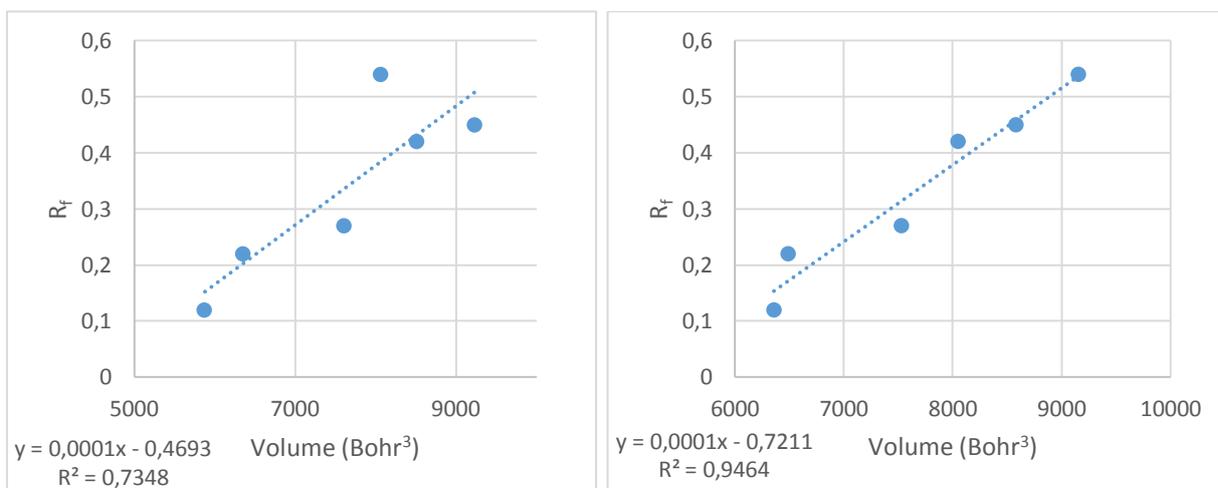
Tabela 10. Valores do volume molecular das porfirinas.

PORFIRINAS	Volume (Bohr^3/mol)						R_f
	B3LYP		M06		M062X		
	água	octanol	água	octanol	água	octanol	
H₂TE-3-PyP	6354,68	6487,140	5444,33	5497,70	6698,23	5646,45	0,22
H₂TE-2-PyP	5873,04	6358,914	6417,75	5299,06	5299,60	6697,29	0,12

H₂TMOE-3-PyP	7610,12	7530,861	7677,58	5910,52	7542,12	7011,82	0,27
H₂TnHex-3-PyP	8065,44	9155,590	8360,30	8065,23	8572,05	9177,14	0,54
H₂TnHex-2-PyP	8235,35	8581,517	7910,87	8747,60	7812,28	8494,90	0,45
H₂TMOHex-3-PyP	8515,01	8047,830	8073,48	9786,04	10202,87	7618,14	0,42
R²	0,73	0,94	0,65	0,70	0,62	0,76	

A Figura 17 mostra que as correlações lineares do volume em água não foram tão significativas, ao contrário do volume em n-octanol, que mostrou ter uma boa correlação linear com o R_f experimental (Figura 17b).

Figura 17. Correlação Linear entre o R_f experimental e o Volume em (a) água e (b) n-octanol, resultados do funcional B3LYP.



(a)

$$R_f = 0,0001Volume - 0,4693 \quad (46)$$

(b)

$$R_f = 0,0001Volume - 0,7211 \quad (47)$$

O volume em n-octanol mostrou ser um descritor importante para a elucidação das diferentes lipofilicidades das porfirinas estudadas. Essa diferença na correlação pode ser resultado da maior flexibilidade da *H₂TnHex-3-PyP* em n-octanol, como mostrado na Figura 19b, devido as interações com o solvente apolar, o que permite um maior

relaxamento da estrutura. Em solução aquosa (caráter pouco lipofílico), os “grandes braços” das cadeias n-alquila (hidrofóbicas) ligadas aos grupos piridila fazem com que a *H₂TnHex-3-PyP* se contraia, diminuindo seu volume, como é mostrado na Figura 19a. O mesmo não acontece com o isômero *orto*, visto que nesta posição os “grandes braços” são mais rígidos que no isômero *meta*, assim, não permitindo um relaxamento do volume em n-octanol. As porfirinas oxigenadas *H₂TMOE-3-PyP* e *H₂TMOHex-3-PyP* tem comportamento contrário devido ao oxigênio mais eletronegativo na cadeia n-alquílica, os dados mostram que água essas porfirinas tendem a relaxar (interações com as águas) expondo os oxigênios carregados negativamente e em n-octanol se contraem tentando esconder esses mesmos oxigênios e expor as partes hidrofóbicas, tendo assim comportamento contrário as suas análogas sem oxigênio.

Combinando as equações (45) e (47) obtidas a partir das melhores correlações lineares obteve-se a equação (48) que correlaciona diretamente o volume das porfirinas base-livre e o log P das porfirinas metaladas.

$$\text{Log } P_{\text{metalada}} = 0,00193292\text{Volume}_{\text{base-livre}} - 20,322356 \quad (48)$$

Figura 18. Correlação entre os valores dos log P obtidos experimentalmente e calculados pela equação acima, para a mesma série log P de porfirinas metaladas.

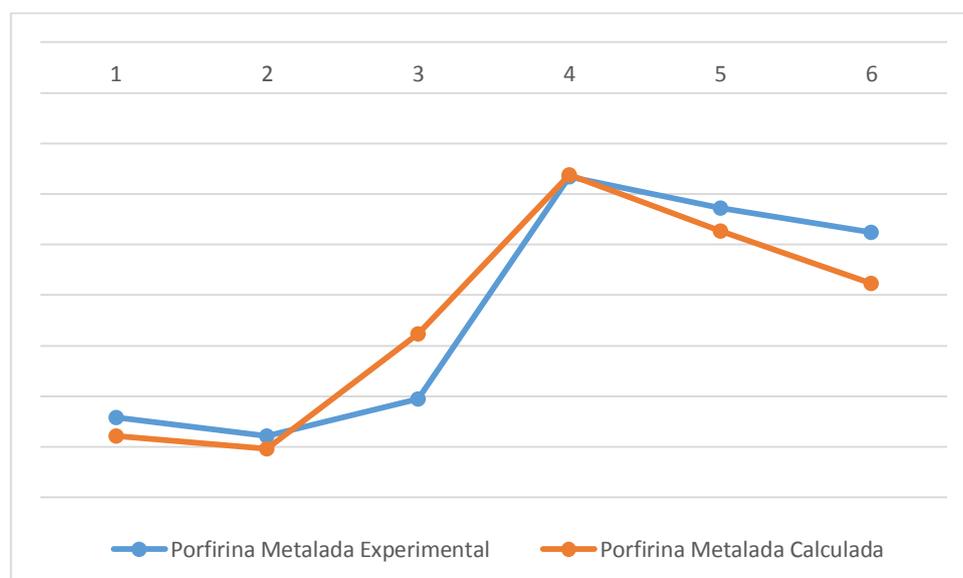


Tabela 11. Valores dos log P experimentais e dos preditos calculados pela equação acima das porfirinas metaladas utilizando o volume das porfirinas base-livre em n-octanol.

PORFIRINAS	log P_{metalada}	log P_{metalada-calculado}	Volume_{octanol}
H₂TE-3-PyP	-7,42	-7,78 ± 0,5	6487,14
H₂TE-2-PyP	-7,79	-8,03 ± 0,5	6358,91
H₂TMOE-3-PyP	-7,06	-5,77 ± 0,5	7530,86
H₂TnHex-3-PyP	-2,66	-2,63 ± 0,5	9155,59
H₂TnHex-2-PyP	-3,27	-3,73 ± 0,5	8581,51
H₂TMOHex-3-PyP	-3,76	-4,77 ± 0,5	8047,83

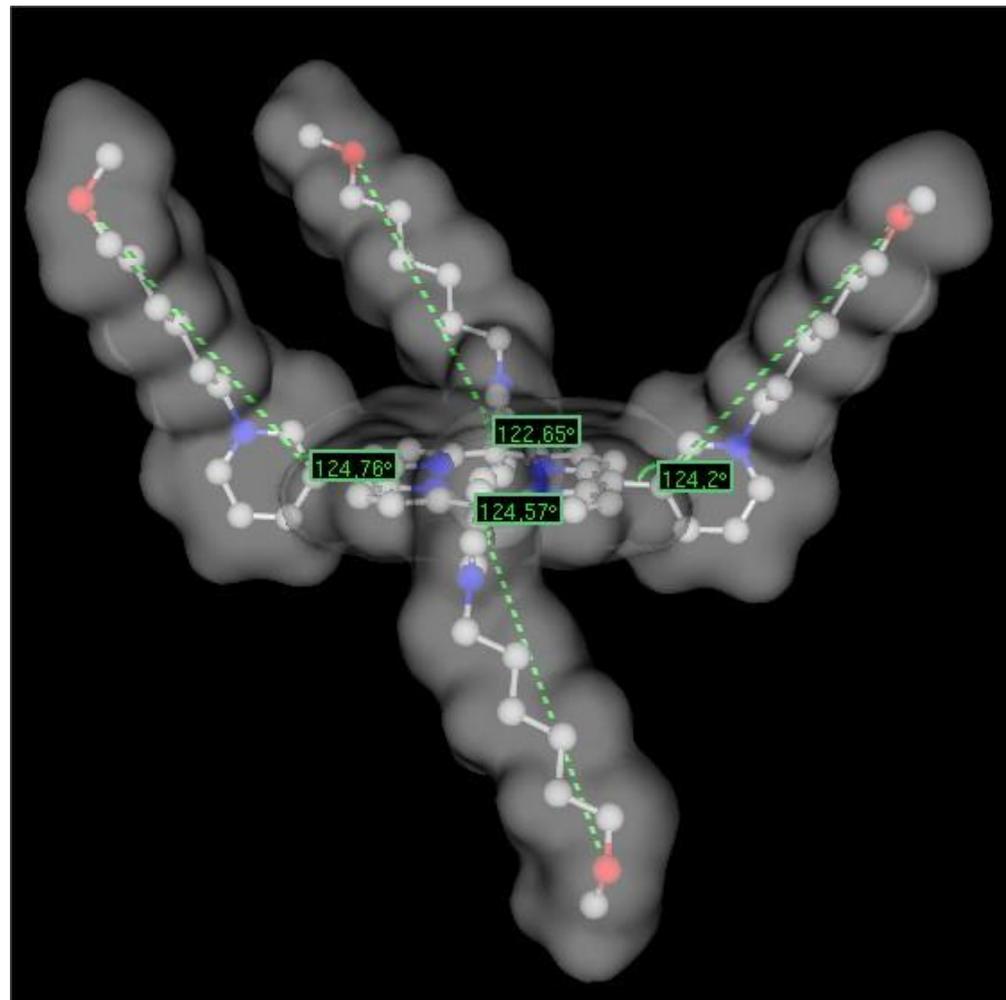
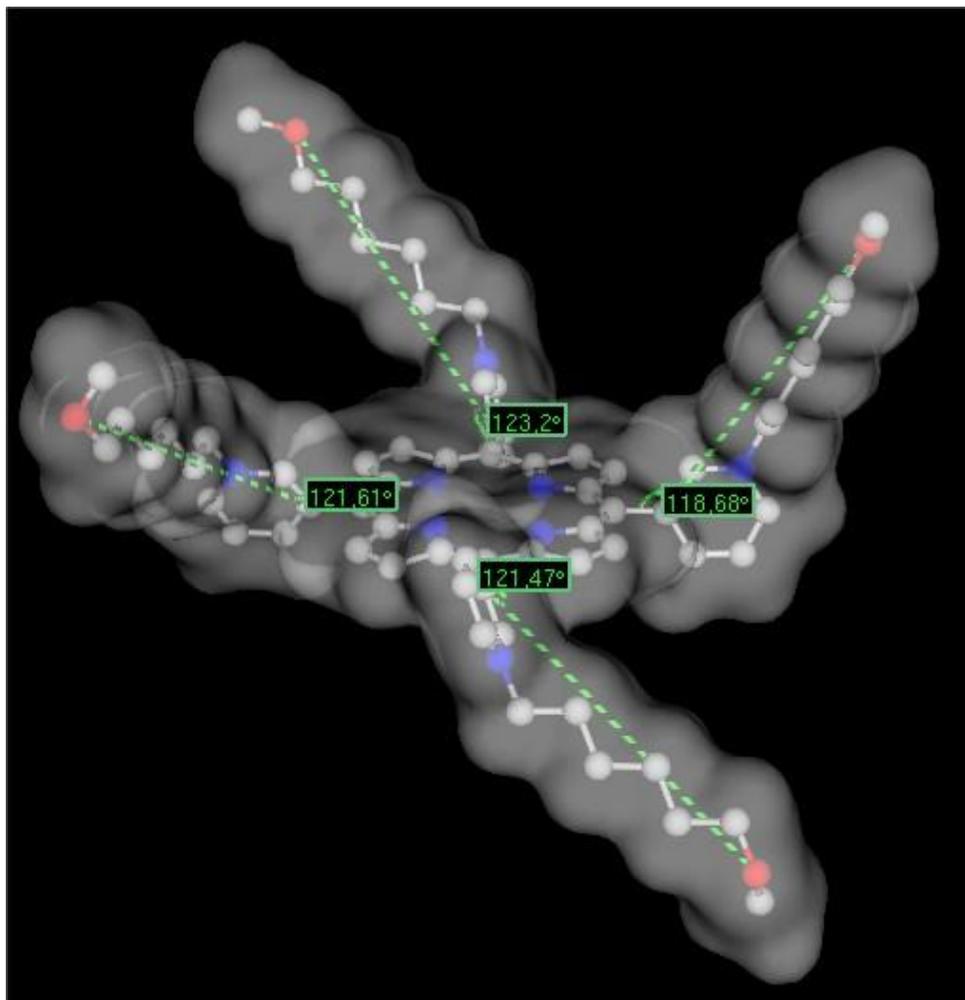
A Figura 18 mostra a diferença entre os valores experimentais e os calculados a partir da equação (45) e da equação (47) dos log P de uma mesma série de porfirinas metaladas com manganês. Como é de se esperar, usar equações com correlações que não são tão próximas induz a um somatório de erros, porém mesmo com algum erro as previsões utilizando a equação (48) mantém a tendência vista para a lipofilicidade desta série.

Na ausência de uma expressão que traduza ao comportamento das porfirinas da série log P em relação a sua lipofilicidade, a equação acima pode ser um bom método para se estimar inicialmente a lipofilicidade de porfirinas metaladas com manganês a partir de cálculos quanto-químicos de volume das mesmas porfirinas base-livre em solução de n-octanol antes de partir para sínteses experimentais.

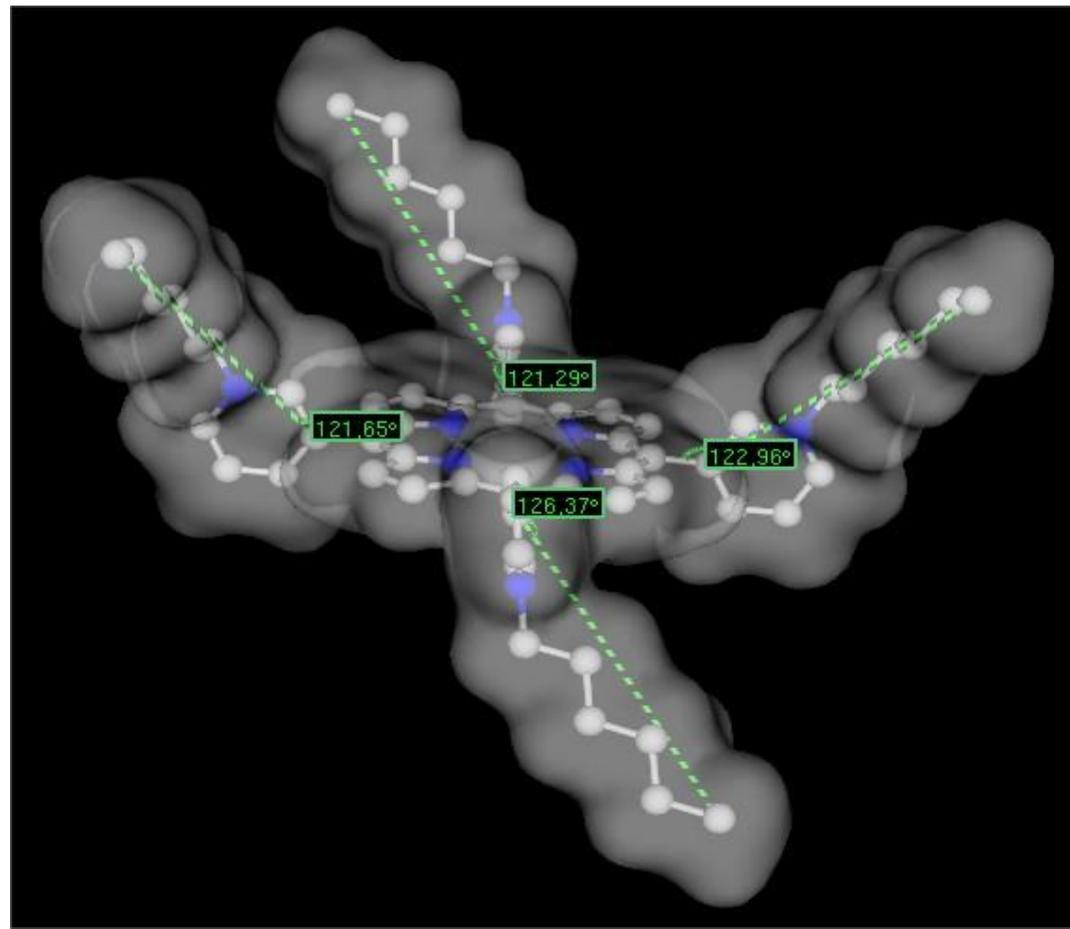
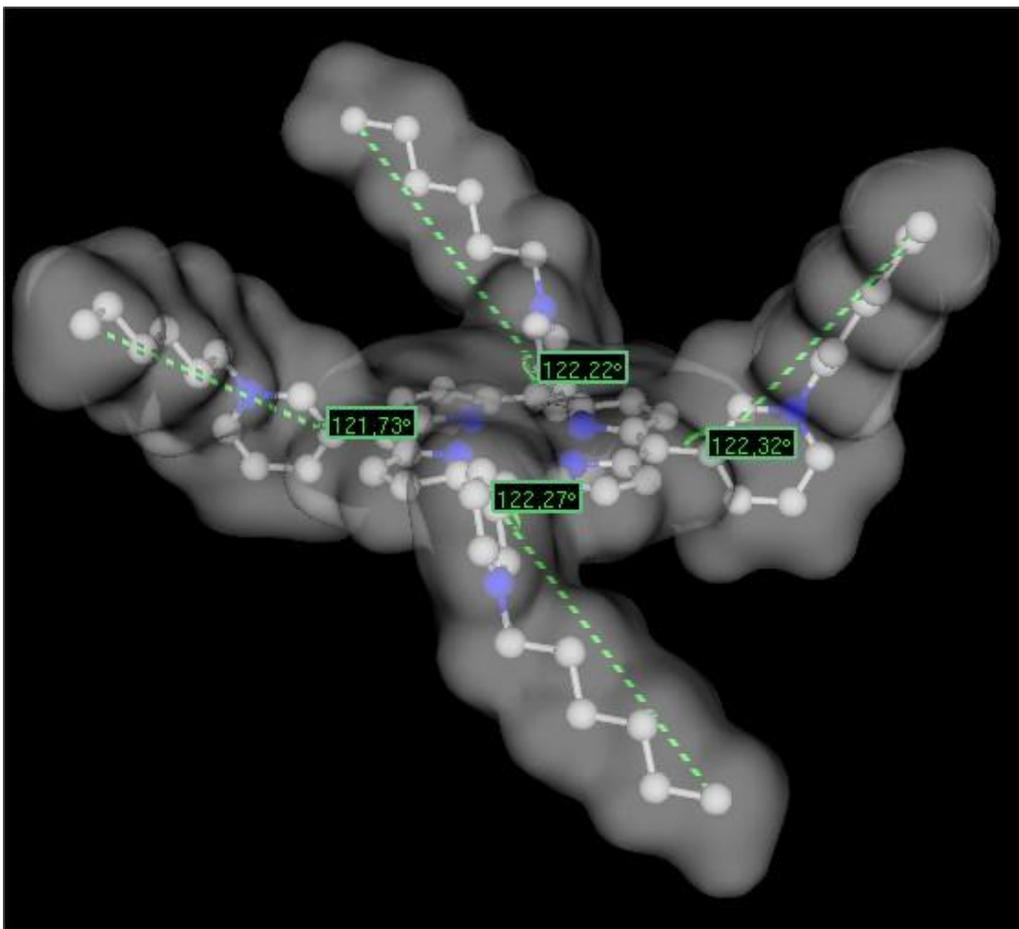
Diferente da equação (45) que usa a diferença entre a energia livre de solvatação para estimar o log P da porfirina base-livre, o cálculo quanto-químico do volume em n-octanol é bem menos custoso computacionalmente, porém, ainda é preciso estudos mais detalhados para avaliar se este custo computacional compensa ou não a menor precisão da equação (48) em comparação a equação (45).

O mais importante resultado, que se destaca por se só é a capacidade de predizer a tendência lipofílica desta série de porfirinas, fazendo uso do volume da porfirina base-livre.

Figura 19. Estruturas químicas das porfirinas (a) $H_2TMOHex-3-PyP$ e (b) $H_2TnHex-3-PyP$ otimizadas em água (esquerda) e em n-octanol (direita).



(a) $H_2TMOHex-3-PyP$



(b) H₂TnHex-3-PyP

6 CONCLUSÕES

Os cálculos teóricos realizados neste trabalho para a obtenção do log P a partir do ΔG de solvatação apresentaram uma correlação linear excelente com a medida experimental indireta de lipofilicidade (R_f), em comparação aos métodos fragmentais, baseados no átomos, topológicos, etc... já bem estabelecidos para determinação do log P para diversas espécies químicas, o que de certa forma já era esperado, visto que a parametrização destes métodos fragmentais depende de uma banco de dados com espécies químicas que são em geral moléculas pequenas em comparação às porfirinas estudadas, mas de grande importância do meu ponto de vista já que trabalhos são publicados utilizando os valores de log P obtidos com esses programas como certos.

A determinação do log P a partir do ΔG de solvatação (Eq. 2) mostrou resultados mais satisfatórios com o funcional B3LYP. De modo geral, as melhores correlações lineares para descritores estruturais ou eletrônicos foram obtidas com o funcional B3LYP, ao contrário do esperado, já que os funcionais M06 e M062X são mais utilizados para determinação de dados termodinâmicos. Esse resultado mostra o quão importante é a escolha do melhor funcional para descrição do sistema estudado.

A metodologia aplicada no cálculo do log P pela diferença entre as energias de solvatação água/n-octanol para as porfirinas teve sucesso em determinar a mesma tendência “atípica” das porfirinas oxigenadas metaladas com manganês. Os R_f experimentais já mostravam a semelhança nos dois comportamentos (das metaladas e das bases-livres). Com isso, sugere-se que a metodologia aplicada pode ser utilizada no planejamento de novas porfirinas com base nas porfirinas base-livre que tem um custo computacional menor e apresentam as mesmas tendências, com um certo grau de segurança, que as porfirinas metaladas, já que estas últimas, por sua capacidade de reduzir o estresse oxidativo que causam diversas doenças, são os principais alvos de sínteses.

Assim como os dados experimentais demonstram, neste trabalho nota-se que um aumento no número de carbonos nas cadeias alquílicas aumenta a estabilidade (ΔG mais negativos) em solução, com exceção da H₂TMOHex-3-PyP. A própria H₂TMOE-3-PyP tem um ΔG mais negativo que a análoga H₂ET-3-PyP, assim como a MnTMOE-3-PyP é levemente mais lipofílica que a MnET-3-PyP, enquanto a H₂TnBUOE-2-PyP tem um ΔG

mais negativo que H₂TnHex-2-PyP. Ainda nesta linha os isômeros *meta* possuem um ΔG levemente mais negativo que os isômeros *orto*, sendo portanto mais lipofílicas.

É possível observar também que a inserção de oxigênio alterou significativamente a lipofilicidade de porfirinas como a MnTMOE-3-PyP⁵⁺, MnTnBUOE-2-PyP⁵⁺ e MnTMOHex-2-PyP⁵⁺. Os dados experimentais mostram que a MnTMOE-3-PyP⁵⁺ é levemente mais lipofílica que a análoga MnTE-3-PyP⁵⁺, a MnTnBUOE-2-PyP⁵⁺ é mais lipofílica que a MnHex-2-PyP⁵⁺ e a MnTMOHex-2-PyP⁵⁺ é menos lipofílica que a análoga MnHex-2-PyP⁵⁺. Em relação aos isômeros, a *orto* é mais ativa como mímico SOD que a *meta*, porém a mesma é mais lipofílica, ou seja, tem uma biodisponibilidade melhor. Assim como nos dados experimentais para as porfirinas metaladas, verificou-se com os dados deste trabalho uma diminuição do caráter positivo do nitrogênio do piridil à medida que o oxigênio na cadeia n-alquílica está mais próximo do anel porfínico, diminuindo o efeito elétron-acceptor do nitrogênio.

Segundo os estudos experimentais para porfirinas metaladas de manganês idênticas as usadas na série Log P (RAJIC et al., 2013), a solvatação e lipofilicidade estão diretamente relacionadas com a posição do oxigênio nas cadeias alquílicas ligadas ao meso-piridil. O efeito de solvatação parece ser mais afetado pela mudança na posição do oxigênio na cadeia alquílica do que o efeito lipofílico. Quando os grupos substituintes no piridil são lipofílicos, as cargas catiônicas são mais fortes e por sua vez exercem um forte efeito eletro-acceptor no centro da porfirina. Devido à presença do oxigênio na cadeia alquílica e da sua proximidade do nitrogênio da piridila, a cadeia metoxialquilada atua diminuindo a carga, ou seja a capacidade eletron-acceptora do nitrogênio da piridila, o que não acontece com as cadeias hexil, assim, o resultado deste efeito é a diminuição nas cargas do nitrogênio da piridila (REBOUÇAS et al., 2008). Os orbitais de ligação mostraram que as ligações químicas ocorrem no centro da porfirina onde a densidade de carga negativa é menos intensa quando os oxigênios estão mais próximos das piridilas, portanto há uma influência indireta na capacidade de ligação de outras moléculas com o centro da porfirinas. As carga parciais do nitrogênio piridila tem grande importância na influência da distribuição de cargas no centro da porfirina, onde ocorrem as ligações químicas, e em sua lipofilicidade.

Dentre os descritores estruturais, o volume molecular das porfirinas em n-octanol obteve a melhor correlação linear com a lipofilicidade experimental, mostrando uma forte

influência entre a alteração no volume da porfirina e sua lipofilicidade em meios de solvatação diferentes. A capacidade da porfirina de relaxar sua estrutura e aumentar seu volume é comum ao isômero *meta*. O aumento deste relaxamento na fase n-octanol advém do caráter lipofílico das longas cadeias alquílicas em relação ao n-octanol. Em meio aquoso a tendência é uma contração dessas cadeias, já que o meio é altamente polar.

7 PERSPECTIVAS

Trabalhos subsequentes podem ser realizados a fim de ampliar o entendimento das relações estrutura-lipofilicidade, com diferentes focos, tais como:

- Cálculo das propriedades termodinâmicas das porfirinas metaladas com manganês da série log P.
- Ampliação da própria série de porfirinas log P e criação de um banco de dados com propriedades termodinâmicas usadas na determinação do log P de um conjunto de porfirinas oxigenadas e não oxigenadas.
- Estudos utilizando outros métodos teóricos, como por exemplo métodos híbridos tais como ONIOM, assim como novos funcionais DFT, modelos de solvatação, possibilitando a obtenção de melhores dados termodinâmicos na determinação da lipofilicidade.
- Estudo de simulação das porfirinas da série log P em bicamada água/n-octanol com Dinâmica Molecular, a fim de compreender o papel do solvente explicitamente.
- Estudos sobre o grau de influência de diferentes atropoisômeros na lipofilicidade das porfirinas.
- Estudos sobre a variação na lipofilicidade em relação às distorções no plano ou fora do plano que afetam sua atividade biológica, quantificando e qualificando a energia necessária para criar tal efeito e por conseguinte alterações nas propriedades químicas, assim como estudos comparativos sobre as alterações nas propriedades causadas pelas distorções estruturais de porfirinas metaladas e base-livre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Batinić-Haberle, I.; Spasojević, I.; Stevens, R.D.; Hambright, P.; Fridovich, I. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 2689-2696, 2002.
- Batinic-Haberle, I.; Ndengele, M.M.; Cuzzocrea, S.; Rebouças, J.S.; Spasojevic, I.; Salvemini, D. *Free Radic. Biol. Med.* 46, 212-219, 2009.
- Batinic-Haberle I., Michael M., Salvatore C., Rebouças J. S., Spasojevic I., Salvemini D. *Free Radic. Biol. Med.* 46, 212–219, 2009.
- Batinic-Haberle I., Rebouças J. S., Spasojevic I. *Antioxid. Redox. Sign.* 13, 877-918, 2010.
- Becke, A. D., *Phys.* v38, p3098, 1988.
- Ben-Naim, A. *Solvation Thermodynamics*. New York: Springer, 1987.
- Best, S.; Merz, M. K.; Reynolds, H. C. *J. Phys. Chem. B.*, 103, 714-726, 1999.
- Cavalcanti, H. L. B. Um estudo de estrutura eletrônica de algumas Mn(II/III)-N-alquilpiridilporfirinas de alto spin: avaliação do efeito de crescente carga positiva ao redor do centro metálico. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.
- Cheng T.; Zhao Y.; Li X.; Lin F.; Xu Y.; Zhang X.; Li Y.; Wang R.; Lai L. *J. Chem. Inf. Model.* 47, 2140-2148, 2007.
- Cramer, C. J., *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. John Wiley & Sons, 2002.
- Datta, A.; Quintavalla, S.M.; Groves J. T. *J. Org. Chem.* 72, 1818-1821, 2006.
- Duarte, H. A.; Rocha, W.R. Teoria do Funcional da Densidade. In: Morgon, N. H.; Coutinho, K. (Eds.) *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2007.
- Engelmann, F. M.; Rocha, O. V. S.; Toma, H. E.; Araki, K.; Baptista, S. M. *Int. J. Pharm.* 329, 12–18, 2007.
- Ferrara, P., Apostolakis, J., Caflisch A., *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*, 46, 24–33, 2002.

Gaussian 09, Revision A.1, Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, Jr., J. A.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.

Gaussview, Version 5, Dennington R., Keith T., Millam J., Semichem Inc., Shawnee Mission KS, 2009.

Gauter-Fleckenstein, B.; Fleckenstein, K.; Owzar, K.; Jiang, C.; Batinic-Haberle, I.; Vuja, Z. *Free Rad. Biol. Med.* 44, 982-989, 2008.

Giles, S.S.; Batinic-Haberle, I.; Perfect, J.R.; Cox, G.M. *Eukariot. Cell.* 4, 46-54, 2005.

Goodisman, J. *Phys. Rev.* 3, 1971.

Imlay J. A., Pathways of oxidative damage. *Annu. Rev. Microbiol.*, v57, p395-418, 2003.

Jackson, I. L.; Batinić-Haberle, I.; Vujasković, Z. *Free Radic. Res.* 41, 8-14, 2007.

Jensen, F. *Introduction to Computational Chemistry*. John Wiley & Sons, 2002.

Kos, I.; Ludmil, B.; Spasojevic, I.; Rebouças, J. S.; Batinic-Haberle, I. *J. Med. Chem.* 52, 7868-7872, 2009a.

Kos, I.; Rebouças, J. S.; DeFreitas-Silva, G.; Salvemini, D.; Vujaskovic, Z.; Dewhirst, M. W.; Spasojevic, I.; Batinic-Haberle, I. *Free Radic. Biol. Med.* 47, 72-78, 2009b.

Lan-Fen, W.; Xian-Wei, M.; Fang-Qiong, T. *Theochem*, 956, 26-32, 2010.

Levine, I. N., *Quantum Chemistry*, 5th Ed. Prentice-Hall International, 2000.

Maitland, G. C.; Rigby, M.; Smith, E. B.; Wakeham, W. A. *Intermolecular Forces*. Oxford: Clarendon, 1987.

Mannhold, R. R.; Rekker, F. *Persp. Drug Discov. Des.* 18, 1-18, 2000.

Mannhold, R.; Poda, I. G.; Ostermann, C.; Tetko, I. V. *J. Pharm. Sci.* 98, 861-893, 2009.

Marenich, A. V.; Cramer, C. J.; Truhlar, D. G. *J. Phys. Chem. B* 113, 6378-6396, 2009.

- Mauri, A.; Consonni, V.; Pavan, M.; Todeschini, R. *Math. Comput. Chem.* 56, 237–248, 2006.
- McLean, A.D.; Chandler, G.S. *J. Chem. Phys.* 72, 5639, 1980.
- Meylan W.M., Howard P.H., *J. Pharm. Sci.* 84, 83, 1995.
- Miertus, S.; Scrocco, E.; Tomasi, J. *Chem. Phys.* 55, 117-129, 1981.
- Moeller, B.J.; Batinic-Haberle, I.; Spasojevic, I.; Rabbani, Z.N.; Anscher, M.S.; Vujaskovic, Z.; Dewhirst, M. W. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 63, 545-552, 2005.
- MOPAC2009, Stewart J. J. P., Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, 2008.
- Morgon, N. H., Coutinho, K., *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*, 2007.
- Moriguchi, I.; Liu, H.S.; Nakagome, I.; Matsushita, Y. *Chem. Pharm. Bull.* 40, 127-130, 1992.
- Morreale, A.; Gelpi, L. J.; Luque, L. F.; Orozco, M. *J. Comput. Chem.* 24, 1610–1623, 2003.
- Perdew, J. P.; Yue, W. *Phys. Rev. B* 33, 8800, 1986.
- Petrauskas, A.; Kolovanov, E. *Persp. Drug Des.* 19, 1–19, 2000.
- Ping, Z.; Lian-Cai, X.; Jin-Wang, H.; Jie, L.; Han-Cheng, Y.; Kang-Cheng, Z.; Liang-Nian, J. *Spectr. Acta A* 71, 1216–1223, 2008.
- Rabbani, Z. N.; Spasojevic, I.; Zhang, X.; Moeller, B. J.; Haberle, S.; Vasquez-Vivar, J.; Dewhirst, M. W.; Vujaskovic, Z.; Batinic-Haberle I. *Free Radic. Biol. Med.* 47, 992-1004, 2009.
- Rajic, Z.; Tovmasyan, A.; Spasojevic, I.; Sheng, H.; Lu, M.; Li, A. M.; Gralla, E. B.; Warner, D. S.; Benov, L.; Batinic-Haberle, I. *Free Radic. Biol. Med.* 7, 2012.
- Rebouças, J. S.; Spasojevic, I.; Batinic-Haberle, I. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 48, 1046–1049, 2008.
- Rebouças, J. S.; Spasojevic, I.; Tjahjono, D. H.; Arlette, R.; Mendez, F.; Benov, L.; Batinic-Haberle, I. *Dalton Trans.* 233-1242, 2008.
- Rebouças, J. S.; Leong, K. W.; Dewhirst, M. W.; Batinic-Haberle, I. *Free Radic. Res.* 45, 188-200, 2011.
- Rice, J. E., Handy, N. C., *Int. J. Quantum Chem.*, 43, 91-118, 1992.

Spasojevic, I.; Chen, Y.; Noel, T.J.; Fan, P.; Zhang, L.; Reboucas, J.S.; St Clair, D.K.; Batinic-Haberle, I. *Free Radic. Biol. Med.* 45, 943-949, 2008.

Spasojevic, I.; Li, A.M.; Tovmasyan, A.; Rajic, Z.; Salvemini, D.; St. Clair, D.; Valentine, J.S.; Vujaskovic, Z.; Gralla, E.B.; Batinic-Haberle, I. *Free Radic. Biol. Med.* 49S, 2010.

Spasojevic, I.; Kos, I.; Benov, L.; Rajic, Z.; Fels, D.; Dedeugd, C.; Ye, X.; Vujaskovic, Z.; Spasojevic, I.; Menzeleev, R.; White, P.S.; Fridovich, I. *Inorg. Chem.* 41, 5874-5881, 2002.

Sushko, I.; Novotarskyi, S.; Körner, R.; Pandey, A.K.; Rupp, M.; Teetz, W.; Brandmaier, S.; Abdelaziz, A.; Prokopenko, V.V.; Tanchuk, V.Y.; Todeschini, R.; Varnek, A.; Marcou, G.; Ertl, P.; Potemkin, V.; Grishina, M.; Gasteiger, J.; Schwab, C.; Baskin, I.; Palyulin, V.A.; Radchenko, E.V.; Welsh, W.J.; Kholodovych, V.; Chekmarev, D.; Cherkasov, A.; Aires-de-Sousa, J.; Zhang, Q.Y.; Bender, A.; Nigsch, F.; Patiny, L.; Williams, A.; Tkachenko, V.; Tetko, I.V. *J Comput Aided Mol Des.* 25, 533-554, 2011.

Szabo, A., Ostlund, N. S. *Modern Quantum Chemistry: Introduction to Advanced Electronic Structure Theory*, 1989.

Tetko, I. V.; Tanchuk, V. Y. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 42, 1136-1145, 2002.

Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cammi, R. *Chem. Rev.* 105, 2999-3093, 2005.

Tovmasyan, A. G.; Rajic, Z.; Spazojevic, I.; Rebouças, J. S.; Chen, X.; Salvemini D., Sheng, H.; Warner D. S., Benov L., Batinic-Haberle I. *Dalton Trans.* 40, 4111-4121, 2011. NWChem. Valiev M., Bylaska E. J., Govind N., Kowalski K., Straatsma T. P., van Dam H. H. J., Wang D., Nieplocha J., Apra E., Windus T. J., Jong W. A. [Programa de Computador] 2010.

Viswanadhan, V. N.; Ghose, A. K.; Revankar, G. R.; Robins, R. K. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 29, p163-172, 1989.

Wang, R.; Fu, Y.; Lai, L. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 37, 615, 1997.

Weinhold, F.; Landis, C. *Valency and Bonding: A Natural Bond Orbital DonorAcceptor Perspective*. Cambridge University Press, Cambridge, 2005.

Zhao, Y.; Chaiswing, L.; Oberley, T. D.; Batinic-Haberle, I.; St. Clair, W.; Epstein, C. J.; St. Clair, D. *Cancer Res.* I, 1401-1405, 2005.

Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *Theor. Chem. Account.* 120, 215-241, 2008.

Ziegler, T. *Chem. Rev.* 91, 651, 1991.