

Universidade Federal de Juiz de Fora

Pós-Graduação em Química

Mestrado em Química

Willian Tássio Gomes Novato

**MODELAGEM MOLECULAR DE PROCESSOS DE AGREGAÇÃO DO  
PEPTÍDEO  $\beta$ -AMILÓIDE  $a\beta(1-42)$  E SUA DESATIVAÇÃO COM  
COMPLEXOS DE Pt(II)**

Juiz de Fora

2012

Willian Tássio Gomes Novato

**MODELAGEM MOLECULAR DE PROCESSOS DE AGREGAÇÃO DO  
PEPTÍDEO  $\beta$ -AMILÓIDE  $a\beta(1-42)$  E SUA DESATIVAÇÃO COM  
COMPLEXOS DE Pt(II)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração: Físico-Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Hélio Ferreira dos Santos

Juiz de Fora

2012

*Aos meus pais Maria José e Paulo Afonso que sempre foram a base desta conquista juntamente com minha futura esposa Sarah. Também em memória de meus avós Sebastião Gomes e Dalva Maria e Carmélia. Se hoje eu começo a traçar algo em minha vida, em primeiro lugar, são graças a estas pessoas.*

## AGRADECIMENTOS

É com uma enorme satisfação que realizo os agradecimentos nesta etapa de vida tão sonhada. Primeiramente, sem sombra de dúvidas, agradeço a Oxalá e aos meus guias por terem me mantido em equilíbrio constante durante todo este tempo, realizando a trilha desta minha jornada e filtrando todos meus pensamentos, afinal um homem sem equilíbrio não é nada.

Em segundo lugar, contudo não menos importante, agradeço as pessoas mais íntimas que estiveram ao redor me auxiliando e me aconselhando por horas de estresse absoluto, e é por isso que merecem destaques iniciais minha Mãe Maria José, meu pai Paulo Afonso, minha avó Dalva, minha avó Camélia, meu avô Sebastião e minha noiva Sarah. Agradeço de coração por tudo, e a todas as atitudes e palavras que me foram dirigidas, assim também ao meu irmão Aldo, minha cunhada Kelly e minha afilhada Manuela.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Hélio pela orientação, amizade e ideias. Pelas horas de discussão “irrigadas” e pelo crédito depositado a mim. Nossa amizade será muito longa, acredito nisso.

Aos meus companheiros NEQCistas: Eduardo, Antônio, Bruna, Diego, Arthur, Leonardo, Lucas, Gilson, Pedro, Ingrid, Alan, Nathália, Paola, Jomara e Samuel. Tenho muito a agradecer, pois em um ambiente de trabalho árduo, muitas vezes se torna deveras dinâmico na presença de vocês.

Aos meus companheiros de pesquisa “out NEQC”: Tati, Elgte, Felipe, Lippy, Victor Hugo, Naiara, Carol, Isabela e demais outros que com certeza, nossas horas de convívio, sempre foram demasiadamente divertidas e construtivas.

Aos meus primeiros orientadores de iniciação científica: Prof. Dr. Luiz Fernando Cappa de Oliveira e Prof. Dr. Sócrates de Oliveira Dantas. Com certeza, boa parcela desta conquista devo à vocês. Aqui também merece destaque a Profa. Dra. Ana Paula Soares Fontes, Profa. Flávia Cavalieri Machado e ao Prof. Richard Michael Grazul que acreditaram na minha louca proposta de conclusão de curso, me auxiliando até o final, tão quanto a secretária da pós Simone Clemente que sempre me auxilia.

E finalmente, agradeço as agências de fomento CNPq pela bolsa de iniciação concedida, a CAPES pela bolsa de mestrado, e à Universidade Federal de Juiz de Fora pelo suporte de recursos prestados.

“Se, a princípio, a ideia não é absurda, então não há esperança para ela.”

**(Albert Einstein)**

## RESUMO

No presente trabalho, metodologias teóricas foram utilizadas para análise de propriedades estruturais, termodinâmicas e cinéticas de agregados do peptídeo  $\beta$ -amilóide  $A\beta(1-42)$  e seus adutos formados com complexos de platina(II) derivados da 1,10-fenantrolina (ortofenantrolina), os quais são considerados potenciais agentes reguladores do Mal de Alzheimer (MA). Através de técnicas de modelagem molecular propomos um modelo de estrutura/reactividade/estabilidade para esta classe de compostos metálicos com resíduo de histidinas (His). Utilizando simulações de Dinâmica Molecular (DM) foi possível propor o perfil aglomerativo entre os peptídeos, no qual resíduos de His foram mapeados de forma topológica e identificados como responsáveis pela estabilidade dos aglomerados. Os resultados obtidos concordam com os indícios experimentais os quais sugerem que o bloqueio dos sítios de His favorece a diminuição da formação de aglomerados  $A\beta(1-42)$ . Na segunda parte do trabalho, a cinética da reação entre complexos de Pt(II) com  $A\beta(1-42)$  foi investigada utilizando métodos quânticos (QM) e híbridos (QM/MM). O alvo biológico foi dividido em 3 níveis contendo 1, 10 e 42 resíduos de aminoácidos (AA) respectivamente, de tal forma que pudéssemos perceber a resposta desaglomerativa induzida por esta classe de compostos de Pt(II) nos adutos formados, sendo viável para o desenvolvimento de possíveis futuras novas drogas anti-MA.

Palavras-chave: Alzheimer.Platina(II).Modelagem Molecular.

## ABSTRACT

In the present work, theoretical methods were used to analyze the structural, thermodynamic and kinetic properties of  $\beta$ -amyloid peptide aggregates and its adducts formed with phenanthroline derivatives platinum(II) complex, which are considered potentials regulators of Alzheimer's disease. Through molecular modeling techniques, we propose a model of structure/reactivity/stability to this class of metal compounds with histidine (His) residues. Using Molecular Dynamic (MD) simulations was possible to propose the agglomerative profile among the peptides in which His residues were mapped in a topological and identified as the responsible for the clusters's stability. The obtained results are in agreement with the experimental evidences, which suggests that blocking the His sites, favors the decrease of formation of the  $A\beta(1-42)$  agglomerates. In the second part of the work, the reaction kinetics between Pt(II) complexes with  $A\beta(1-42)$  was investigated using quantum methods (QM) and hybrid (QM/MM). The biological target was divided into 3 parts containing 1, 10 and 42 amino acids residues (AA) respectively, so that it was possible to note the deagglomerative response induced by this class of metal compounds in the formed adducts, being feasible the development of possible new drugs against Alzheimer disease.

Keywords: Alzheimer. Platinum(II). Molecular Modeling.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Estruturas de comparação de hemisférios entre um cérebro saudável (à esquerda) e de uma pessoa portadora de MA (à direita) (REUTERS, 2011).....20
- Figura 2 Relações de casos de portadores de MA, em termos de percentuais, revelando a relativa equivalência de incidência entre qualquer tipo de potência mundial. Cálculos realizados embasados na literatura consultada (SAYEG, 2010; INDEXMUNDI, 2011).....21
- Figura 3 Ilustração do mecanismo de sinapse química realizada afim de manter comunicação entre cada neurônio, funcionando como binário.....23
- Figura 4 a) Esquematização da sequência protéica da APP, destacando o domínio endo (Lúmen) e exocelular, pelas porções N e C-terminais, onde na porção C é encontrado um núcleo de ferro que poderia ser, segundo a literatura, uma via estratégia de desativação proteolítica da APP. b) Processo de proteólise não amilodoigênico, esperado de se acontecer em cérebros saudáveis. c) Proteólise amilodoigênica, destacado em verde, havendo liberação da espécie A $\beta$ , em grandes concentrações. Adaptada das referências (THINAKARAN e KOO, 2008; O'BRIEN e WONG, 2011).....25
- Figura 5 Estrutura do peptídeo A $\beta$ (1-42), obtida do banco de dados PDB, com código 1Z0Q, proposta por Tomaselli e colaboradores (TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006).....26
- Figura 6 Mecanismo de inativação neural ocasionada via “Estresse Oxidativo”, decorrente da geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela espécie A $\beta$ . Adaptada da referência (MATTSON, 2004).....29

Figura 7	Esquemática do início do ciclo para desencadear os efeitos decorrentes do MA. Destaca-se em verde a aglomeração peptídica por contato como sendo uma etapa inicial e comum a ambas regiões celulares, e portanto uma importante fase para investigação química, visando desenvolvimento de compostos capazes de clivar este ciclo nocivo, simbolizado de vermelho....30
Figura 8	Esquema de aplicação das séries de Taylor, nas redondezas no ponto P localizado sobre a partícula de massa $m_i$ .....34
Figura 9	Comportamento da combinação de funções gaussianas, convergindo para mesma descrição de funções do tipo Slater.....44
Figura 10	Esquemática da rotina de cálculo para as energias ONIOM, utilizando-se de uma extrapolação geométrica racional. O ponto 9 será a energia desejada, dado para um dado “Modelo Real”.....46
Figura 11	Forma de elaboração dos modelos propostos via mimetização, coordenados pelos nitrogênios $N_\delta$ ou $N_\epsilon$ . A camada alta é representada pelo resíduo de His-6 unicamente (em vermelho), sendo os demais resíduos de AA em camada baixa (em preto)...48
Figura 12	a) Estrutura do peptídeo $A\beta(1-42)$ em vácuo, passando por vários microestados de estabilização. b) Representação das distâncias C...N-terminal das estruturas de equilíbrio. c) Ajuste de <i>cutoff</i> , mantendo-se fixo em 12 Å, como já proposto na literatura. Nota-se que devido a não existência de solvente explícito no sistema, o peptídeo tende a se enovelar.....52
Figura 13	Exemplificação de auto-montagem da rotina em FORTRAN90 (.f90) escrita para sequenciamento metódico de aglomerados peptídicos.....53
Figura 14	Formas inicialmente modeladas e obtidas ao longo do tempo de DM. Observa-se que a isoforma X possui mais linearidade em termos de estrutura frente a rampa de aquecimento, em comparação a forma Y.....54

- Figura 15 Exemplificação do texto descritivo sobre a possibilidade do impedimento de aumento de águas de solvatação em torno do agregado de peptídeo da forma  $A\beta(1-42)_2$ . a) Conformação em X sendo modificada após a 12000 ps. b) Conformação em Y, também sendo modificada ao longo do tempo estabelecido. c) Efeito de impedimento conformacional causado em  $A\beta(1-42)_2$  devido as moléculas de  $H_2O$  tratadas explicitamente para solvatar o agregado proposto. Nota-se que a função do solvente é de fundamental importância para a permanência do aduto, com valores de n pequeno.....55
- Figura 16 Esquema de exemplificação para a formação de um agregado do tipo  $A\beta(1-42)_3$ . a) Demonstração do aduto  $A\beta(1-42)_3\_X$  com todas águas explícitas. b) Mesma estrutura em X, demonstrando o efeito de estabilização por toda rota de aquecimento e produção. c) Isoforma em Y, estabilizada ao longo do tempo.....57
- Figura 17 a) Perfil energético da energia total dos adutos do tipo  $A\beta(1-42)_n$  (n=1, 2 e 3). Demonstra-se que após 1500 ps, ocorre a permanência constante da energia até 12000 ps. b) Perfil estrutural do agregado possuindo quatro unidades protéicas ao longo de 12 ns. É destacada a porção de estabilização, via ligações de hidrogênio entre os resíduos de His-6, 13 e 14 (verde). c) Revolução de 90° do agregado demonstrado em “b” visto por cima e por baixo, respectivamente.....59
- Figura 18 Estimativa do tempo gasto para simulação de 4 unidades de peptídeos em meio de solvente explícito. Para a simulação em vácuo, ocorre uma relação linear de acordo com o número de unidades, contudo, em solução esta relação se torna exponencial.....60
- Figura 19 Sequenciamento peptídico dado pelo valor de N, construindo o modelo do “Laço Amilóide” (círculo verde).....61

Figura 20	Caracterização do “Laço Amilóide” pelos resíduos de His-13, nos agregados de $n=4$ . À esquerda os ângulos entre doador D de prótons, hidrogênio H e receptor R, a direita as distâncias entre D e R.....63
Figura 21	Modelo de contato para $n=4$ , sendo destacado o sítio de His-6, para “mimetização quântica” adotada na seção 3.3. Este termo irá fazer menção para a tentativa de se observar um comportamento proporcional entre aumento de estruturas, vindo de uma porção micro, até uma macro.....64
Figura 22	Estruturas em 3D otimizadas ao nível B3LYP/6-31G(d)/LANL2DZ para os complexos Comp1, Comp2, Comp3 e Comp4, nomeados de 1,10-fenantrolinadicloro-platina(II), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinadicloroplatina(II), 4,7-difenil-1,10-fenantrolinadicloroplatina(II)e2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolinadicloroplatina(II), respectivamente.....66
Figura 23	IRC calculado ao nível B3LYP/6-31G(d)/LANL2DZ para o complexo Comp1 ( $R_1=R_2=H$ ) coordenando-se via $N\epsilon$ , onde $N_3$ poderá ser para cada caso $N\epsilon$ ou $N\delta$ .....67
Figura 24	Ângulos de ataque entre os nitrogênios da histidina e os complexos estudados.....68
Figura 25	Esquema de ataque da His no centro metálico, para deslocamento do cloro. Estados de transição curiosamente padronizados por impedimento estérico devido a coordenação em $N\delta$ e $R_1=CH_3$ .....71
Figura 26	Padrão de barreira em meio aquoso ( $\epsilon=78,39$ ) obtido ao nível B97-2/6-311+G(2d,p)//LANL2DZ para todas as formas possíveis de coordenação. Observa-se um ajuste de geometria para os estados de transições devido ao grupo $R_1=H$ ou $CH_3$ e ocorrerá influência no decréscimo da barreira por parte do grupo $R_2=\phi$ .....73

- Figura 27 Estruturas obtidas ao final dos cálculos de minimização de geometria retiradas após cálculos de frequências harmônicas para os modelos Intermediários para Comp1.....76
- Figura 28 Estruturas obtidas ao final dos cálculos de minimização de geometria retiradas após cálculos de frequências harmônicas para os modelos *pseudo*-Reais, para Comp1.....76
- Figura 29 Ângulo de ataque causado devido entrada da His-6 devido aos modelos Intermediários e *pseudo*-Reais. Através deste comportamento, pressupomos um mecanismo novamente associativo, conforme o Micro modelo.....77
- Figura 30 Esquema teórico para elaboração preliminar de análogos destas classes de complexos estudados, visando maior reatividade e melhor estabilidade para a coordenação com o sítios de His-6....82

## LISTA DE TABELAS

Tabela I	Estruturas dos análogos de Pt(II) estudados por Barnham e colaboradores, com as respectivas simbologias adotadas para efeito de simplificação (BARNHAM, KENCHE <i>et al.</i> , 2008)....32
Tabela II	Ilustração dos termos contidos no campo de força AMBER (WEINER, KOLLMAN <i>et al.</i> , 1984).....37
Tabela III	Protocolo padrão ajustado para o sistema, utilizado para todos os cálculos de DM.....50
Tabela IV	Resultados estruturais obtidos após a DM para as configurações em X, mantendo-se fixa a mesma capacidade de processamento (mesma máquina, 16Gb de memória RAM e 8 processadores)...58
Tabela V	Parâmetros estruturais calculados para as espécies relativas ao Micro modelo para a coordenação em Nδ. As distâncias de ligações estão em Angstrom e os ângulos em graus.....69
Tabela VI	Parâmetros estruturais calculados para as espécies relativas ao Micro modelo para a coordenação em Nε. As distâncias de ligações estão em Angstrom e os ângulos em graus.....70
Tabela VII	Energias livre de barreira para ativação da reação descrita pela equação 3.4 para a coordenação em Nδ, bem como os valores de energia livre estabilização da reação. Todos os valores estão em kcal mol <sup>-1</sup> .....72
Tabela VIII	Energias livre de barreira para ativação da reação descrita pela equação 3.4 para a coordenação em Nε, bem como os valores de energia livre estabilização da reação. Todos os valores estão em kcal mol <sup>-1</sup> .....72
Tabela XIX	Parâmetros estruturais calculados para as espécies relativas aos modelos Intermediários e <i>pseudo</i> -Reais com Comp1. As

	distâncias de ligações estão em Angstrom e os ângulos em graus.....	78
Tabela X	Parâmetros estruturais calculados para as espécies relativas aos modelos Intermediários e <i>pseudo</i> -Reais com Comp3. As distâncias de ligações estão em Angstrom e os ângulos em graus.....	79
Tabela XI	Barreira (fora dos colchetes) e energia de Gibbs reacional (dentro dos colchetes), conforme houve aumento dos modelos ao nível de teoria B97-2/6-311+G(2d,p)//. Os valores se dão por kcal mol <sup>-1</sup> .....	81

## LISTAS DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Amino ácidos
AMBER	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>
APP	<i>Amyloid Protein Precursor</i>
A $\beta$	Isoformas de peptídeos $\beta$ -amilóide
B3LYP	Funcional híbrido de Becke, Lee, Yang e Parr
B97-2	Funcional híbrido de Wilson, Bradley e Tozer.
DA	Doença de Alzheimer
DFT	<i>Density Functional Theory</i>
DM	Dinâmica Molecular
ECP	<i>Effective Core Potential</i>
GTO	Função de Base Gaussiana
IRC	<i>Intrinsic Reaction Coordinated</i>
Lan12DZ	ECP adotado para o átomo de platina
MA	Mal de Alzheimer
Micro Modelo	Modelo adotado considerando coordenação com 1 molécula de histidina
MM	Mecânica Molecular
MQ	Mecânica Quântica
MQ/MM	Método híbrido quântico e clássico
ONIOM	Método híbrido MQ/MM
PCM	<i>Polarizable Continuum Model</i>

*pseudo-Real*

Modelo considerando a coordenação com 1 peptídeo  
A $\beta$ (1-42)

$\Delta G$

Variação de energia livre de Gibbs

## SUMÁRIO

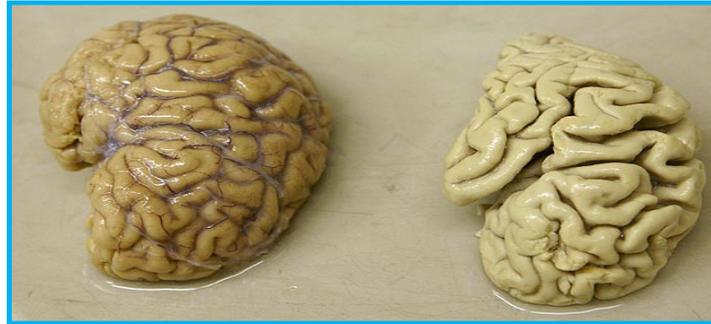
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
1.1	MAL DE ALZHEIMER (MA).....	19
1.2	INTERFERÊNCIA SINÁPTICA.....	21
1.3	APP ( <i>Amyloid Protein Precursor</i> ).....	24
1.4	O PEPTÍDEO $\beta$ -AMILÓIDE $A\beta(1-42)$ .....	26
1.5	O BIOCICLO QUÍMICO DO MA.....	28
1.6	UTILIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE Pt(II) COMO POTENCIAIS AGENTES ANTI-MA.....	31
1.7	OBJETIVOS.....	32
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....</b>	<b>33</b>
2.1	DINÂMICA MOLECULAR.....	33
2.1.1	Integrações das equações de movimento.....	34
2.1.2	Implementação de um Campo de Força.....	35
2.2	METODOLOGIA QUÂNTICA.....	38
2.2.1	A equação de Schrödinger e a Aproximação de Born-Oppenheimer.....	38
2.2.2	O método de Hartree-Fock.....	40
2.2.3	Tópicos da Teoria do Funcional de Densidade .....	41
2.2.4	Funções de base.....	43
2.3	MÉTODOS HÍBRIDOS.....	45
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
3.1	ESQUEMA METODOLÓGICO.....	46
3.2	IDENTIFICAÇÃO E MODELAGEM MOLECULAR DO ALVO BIOQUÍMICO VIA DM.....	51
3.2.1	DM dos agregados do tipo $A\beta(1-42)_n \dots H_2O_m$ , com $n=1, 2, 3$ ou $4$ , com $m=0$ ou $m \rightarrow \infty$ .....	53
3.2.2	Predição de adutos de contato: “Laço Amilóide”.....	61
3.3	ESTRATÉGIA DE MIMETIZAÇÃO ESTRUTURAL: MODELOS MICRO, INTERMEDIÁRIO E <i>PSEUDO-REAL</i> .....	65
3.4	ANÁLISE TERMODINÂMICA E CINÉTICA DE INTERAÇÃO ENTRE OS ADUTOS BIOMIMÉTICOS DO TIPO $A\beta \dots COMP$ .....	75
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>82</b>

4.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS E PERSPECTIVAS.....	82
4.2	PRODUÇÕES CIENTÍFICAS RESULTANTES.....	85
4.2.1	Trabalhos apresentados em eventos sob a forma de pôsteres.....	85
4.2.2	Artigo em elaboração relacionado com o projeto.....	85
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>86</b>

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 MAL DE ALZHEIMER

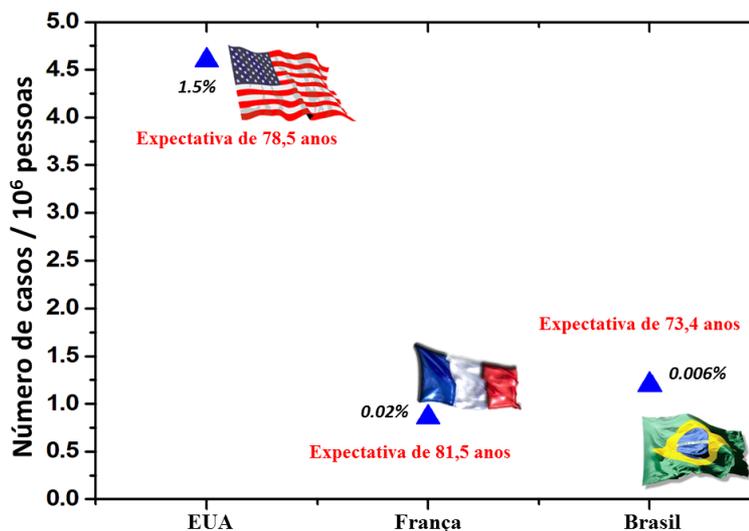
Em 1907, o médico alemão Alois Alzheimer relata resultados de neurodeposição de material fibroso da autópsia referente a uma paciente, que apresentava uma progressiva desordem comportamental e cognitiva (MATTSON, 2004; MUCKE, 2009; O'BRIEN e WONG, 2011). Alzheimer notou que o cérebro da paciente apresentava basicamente dois sinais fisiológicos muito notórios e diferenciados: emaranhados neurofibrilares, os quais supôs corretamente serem formas anormais de agregados intercelulares que, anos mais tarde, comprovado serem emaranhados derivados da hiperfosforilação e clivagem na sequência de aminoácidos (AA) da proteína TAU e placas neuríticas (definidas de “focos miliar”), oriundos de processos neuronais distróficos em torno do córtex cerebral, formando uma secreção chamada de “substância especial”(O'BRIEN e WONG, 2011). Esta “substância especial” foi isolada pela primeira vez por GLENNER & WONG em 1984 mostrando-se ser basicamente composta por duas formas peptídicas de 40 e 42 resíduos de amino ácidos (AA), possuindo massa de aproximadamente 4,2 kDa. Atualmente, denominamos estas espécies isoladas de peptídeo  $\beta$ -amilóide ( $A\beta$ ), sendo suas sequências principais de 40 e 42 AA designadas de  $A\beta(1-40)$  e  $A\beta(1-42)$ , respectivamente. O Mal de Alzheimer (MA) foi batizado com este nome em menção ao primeiro profissional que estudou a doença. De forma geral, a doença pode ser entendida como um mau funcionamento do transporte de neurotransmissores no cérebro. A região do hipocampo, córtex entorrinal, o prosencéfalo basal e a amígdala, são as principais áreas cerebrais envolvidas no processo de aprendizagem e memória e, acredita-se que a formação de agregados enzimáticos de  $A\beta$  nestas regiões interferem no reconhecimento molecular por parte dos receptores específicos dos neurotransmissores, bloqueando a atividade das sinapses (MATTSON, 2004; DUCE e BUSH, 2010; HUNG, BUSH *et al.*, 2010; MILLER, Y., MA, B. *et al.*, 2010). Na Figura 1 é demonstrado o perfil de um cérebro sadio e o perfil de um portado de Mal de Alzheimer (MA). É visto claramente que existem diferenças significativas entre as quantidades e proporções da estrutura do órgão de um indivíduo sadio (à esquerda) por um portador da enfermidade (à direita).



**Figura 1:** Estruturas de comparação de hemisférios entre um cérebro saudável (à esquerda) e de uma pessoa portadora de MA (à direita) (REUTERS, 2011).

Estudos apontam que a base para o encadeamento das perturbações causadas pelo MA é a formação indevida de  $A\beta$  pelas *Proteínas Precursoras de Amilóide* (APP) através de sua proteólise amiloidogênica (THINAKARAN e KOO, 2008; O'BRIEN e WONG, 2011). Este assunto merecerá mais destaque no próximo item a ser discutido. Enfim, o MA é uma das formas mais comuns de demência (entre 20 e 30%) e atinge cerca de 15 milhões de pessoas em todo o mundo, havendo um montante nos Estados Unidos de aproximadamente 4 milhões de casos. O panorama para futuro desta doença prevê que nos próximos anos o número de doentes aumente para o dobro, e estipula-se que até o ano de 2050 seja atingido um número de 26 milhões de pessoas portadoras do MA (SAYEG 2010; INDEXMUNDI 2011). Logo, é evidente que pesquisas voltadas ao estudo do MA são muito bem vindas, afim de melhor entender este complicado mecanismo de aglomeração protéica, suportado pelo cérebro.

Na Figura 2, é demonstrada a relação percentual de enfermos pela população total. Embora este valor seja pouco, comparado à população mundial (~7 bilhões de pessoas), há de ser levado em conta que o principal foco da doença ocorre no início da faixa etária de 70 à 80 anos (SAYEG 2010; INDEXMUNDI 2011). Ou seja, considerando que países mais desenvolvidos possuem preponderância de idades superiores, uma boa parcela da população de países desenvolvidos, começam a sentir sintomas desta síndrome nos tempos atuais.



**Figura 2:** Relações de casos de portadores de MA, em termos percentuais, revelando a relativa equivalência de incidência entre qualquer tipo de potência mundial. Cálculos realizados embasados na literatura consultada (SAYEG 2010; INDEXMUNDI 2011).

Neste contexto, há uma crescente busca pela utilização de uma quimioterapia com melhores resultados e redução de efeitos colaterais para os pacientes afetados, e ao nível acadêmico, qualquer suporte é válido e resultará no apoio futuro desta causa, uma vez que a doença injeta seus primeiros sintomas em uma idade média de 75 anos, ou seja, atingindo grande porção a população idosa, (ver expectativa de vida na Figura 2).

## 1.2 INTERFERÊNCIA SINÁPTICA

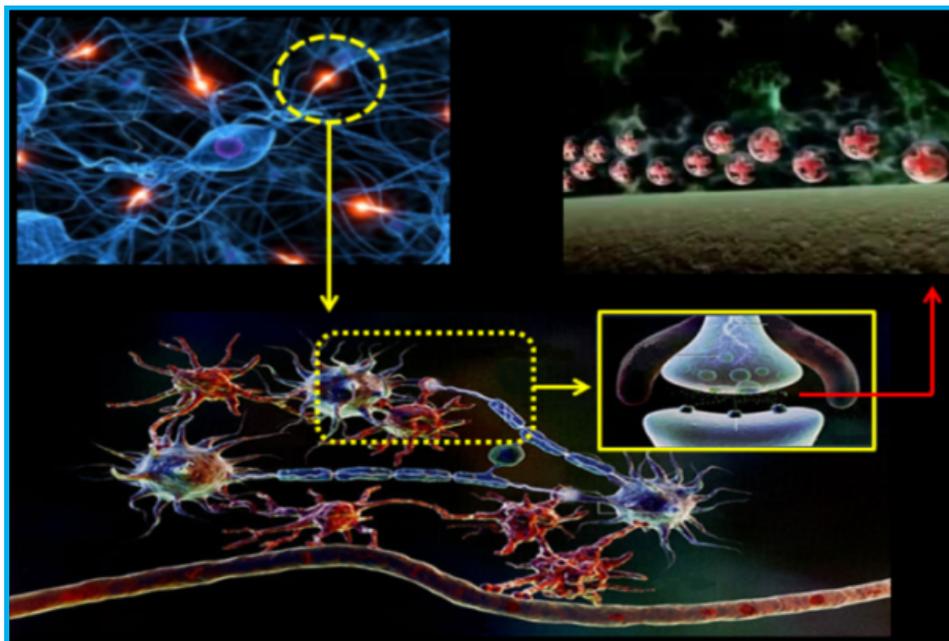
Sinapse pode ser definida como um sítio de localização entre as células nervosas e no qual não há contato eminente entre cada neurônio, denominado de mecanismo sináptico a relação de mecanismos realizados entre cada célula, mantendo-as interdependentes. Entre cada neurônio, podem ocorrer dois tipos destes mecanismos sinápticos: Sinapse Elétrica e a Sinapse Química.

Sinapse Elétrica (GOODMAN e GIOMAN, 1996; ALBERTS, 2004) é um tipo de mecanismo no qual as células estão muito próximas e existe uma fissura de união

entre membranas chamadas de “junções comunicantes”. O potencial de ação (sinal de comunicação) age diretamente de uma membrana para outra, sem auxílio de mediadores químicos. Esta forma de sinapse é usada por músculos, inclusive o coração, tendo em vista que há a necessidade de se utilizar desta alta e prática ação de velocidade de transmissão de comunicação para fazer a realização das contrações fibrilares concomitantemente sincronizadas e de modo ritmado.

Sinapse química (GOODMAN e GILMAN, 1996; ALBERTS, 2004) é a forma de mecanismo de comunicação realizada de forma indireta, através de sistemas de liberação de neurotransmissores. A ocorrência desta fenda sináptica induz um isolamento dentre uma célula pré-sináptica de outra pós-sináptica, acarretando em uma diferença de potencial específico. Quando há a ocorrência do potencial de ação, acontece a liberação dos neurotransmissores por exocitose, moléculas estas antes armazenadas em vesículas sinápticas, aos redores das terminações celulares. Feito isso, há a difusão do neurotransmissor pela fenda, se ligando nos receptores da membrana plasmática da célula pós-sináptica. Isso, estrategicamente, implicará em distúrbios elétricos realizados na membrana, afim da abertura temporária dos canais iônicos, resultando em um fluxo transmembrânico de íons para o espaço extracelular. Este processo funciona analogicamente como um verdadeiro capacitor, pois através desta deposição temporária extracelular de íons, é possível converter um sinal químico em um sinal de natureza elétrica.

Podemos caracterizar esta ação de forma agonista ou antagonista, em termos de abertura (excitatória) ou fechamento (inibitória) dos canais iônicos. Este mecanismo pode ser ilustrado, de forma gráfica, pela Figura 3 a qual mostra de forma ampliada, um sinal elétrico entre dois neurônios através da diferença de potencial exercido devido aos íons secretados para fora da membrana.



**Figura 3:** Ilustração do mecanismo de sinapse química realizada afim de manter comunicação entre cada neurônio, funcionando como binário.

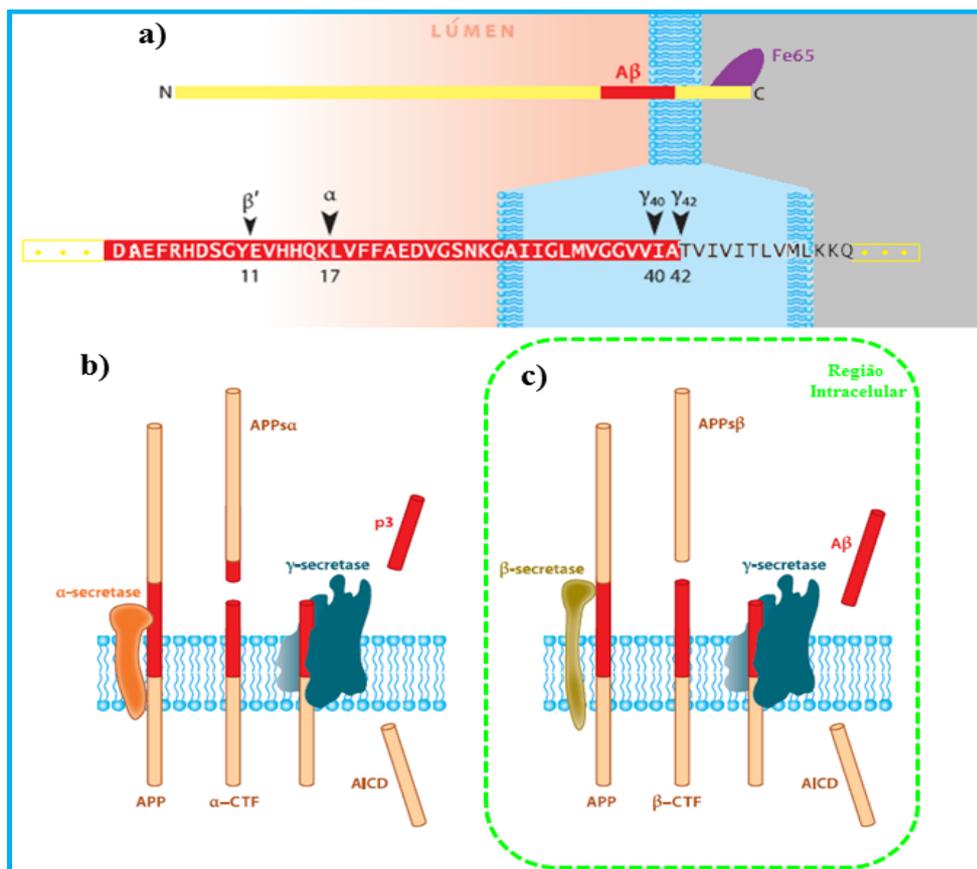
Em suma, podemos entender que o processo de transmissão de estímulos e reconhecimento cognitivo é realizado em cadeia através de cada neurônio, e cada ação dependerá de um posterior e outro sucessor. Portanto, ao acontecer qualquer desativação nesta prática de neurotransmissão, as regiões responsáveis por determinadas ações corpóreas ou cognitivas serão bruscamente afetadas, como é demonstrado no MA em que os locais afetados implicam em sinais característicos por perda de memória recente, por exemplo, um dos principais sintomas da síndrome (GOODMAN e GILMAN, 1996; ALBERTS, 2004).

Na doença de Alzheimer (DA) um dos pontos chaves para entender sua desativação, é conhecer a suposta origem problemática visto que sua ocorrência é apontada pela deposição de material neurofibrilar e protéico entre as sinapses, impedindo tanto comunicação química entre as células nervosas, quanto isolamento mecânico, desempenhando um papel dielétrico, onde necessariamente, para um funcionamento otimizado, seria necessário um potencial em cadeia específico, para abertura e fechamento dos canais iônicos em ordem sincronizada (MATTSON, 2004; MUCKE, 2009; AHN, ZAMOLODCHIKOV *et al.*, 2010; DUCE e BUSH, 2010; KUMAR e ATAMNA, 2011).

### 1.3 APP (*Amyloid Protein Precursor*)

A APP é uma proteína transmembrânica, de largo domínio. Estudos apontam que pode ser transcrita sob 8 isoformas distintas, sendo 3 destas muito comuns, possuindo sequenciamento de 770, 751 e 665 resíduos de AA, respectivamente. Sua expressão majoritária é por parte da APP(665) no Sistema Nervoso Central (SNC). A função exata da APP ainda é desconhecida, contudo sua deturpação proteolítica causa grandes danos ao SNC. A estrutura sequencial desta proteína é representada na Figura 4, a qual esboça os possíveis processos metabólicos e sítios de clivagem ocasionados por enzimas especiais (MATTSON, 2004; THINAKARAN e KOO, 2008; O'BRIEN e WONG, 2011).

Na superfície celular, a APP será metabolizada devido à  $\alpha$ - e  $\gamma$ -secretase que através deste processo, não há formação maléfica de nenhum dejetto celular (Figura 4b). Contudo, caso haja reinternalização para um compartimento endossomal contendo proteases BACE1 e  $\gamma$ -secretase, devido a uma falha de comunicação química ainda desconhecida entre  $\beta$ - e  $\gamma$ -secretase e através disso em algum instante, inicia-se a proteólise por maioria entre os resíduos de AA 40 e 44 da APP (MATTSON, 2004; THINAKARAN e KOO, 2008; O'BRIEN e WONG, 2011). O produto liberado desta má proteólise recebe um nome genérico de A $\beta$ , pois se deriva do processo amiloidogênico (Figura 4c), e será exposto para o espaço intra e extracelular seguindo um caminho de reciclagem ou degradação, devido aos lisossomas. O grande problema dos portadores do MA é justamente esta etapa ocorrer de forma irregular, em um intervalo de tempo muito curto, gerando grandes depósitos na superfície cerebral (BUTTERFIELD e BOYD-KIMBALL, 2004; MATSSON, 2004; THINAKARAN e KOO, 2008; MUCKE, 2009).

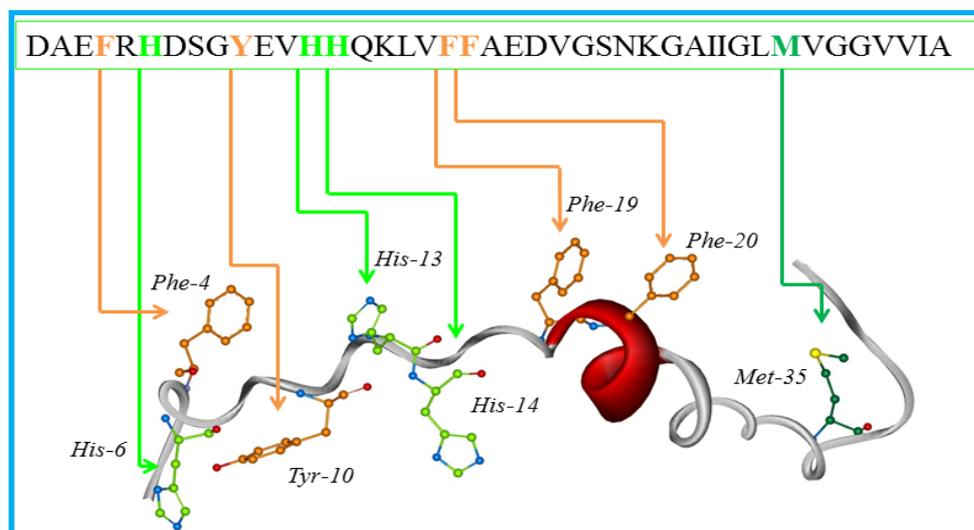


**Figura 4:** a) Esquematização da sequência proteica da APP, destacando o domínio endo (Lúmen) e exocelular, pelas porções N e C-terminais, onde na porção C é encontrado um núcleo de ferro que poderia ser, segundo a literatura, uma via estratégia de desativação proteolítica da APP. b) Processo de proteólise não amiloidogênico, esperado de se acontecer em cérebros saudáveis. c) Proteólise amiloidogênica, destacado em verde, havendo liberação da espécie A $\beta$ , em grandes concentrações. Adaptada das referências (THINAKARAN e KOO, 2008; O'BRIEN e WONG, 2011).

Estas estruturas neurofibrilares são encontradas como grande maioria possuindo 40 e 42 resíduos denominadas de peptídeos A $\beta$ (1-40) e A $\beta$ (1-42), respectivamente, sendo a espécie de 42 resíduos encontrada em maior proporção e de caráter insolúvel (BUTTERFIELD e BOYD-KIMBALL, 2004; BUTTERFIELD e BUSH, 2004; MATTSON, 2004; HUNG, CICCOTOSTO *et al.*, 2008; KUMAR e ATAMNA, 2011), e por isso definida como alvo de estudo no presente projeto.

#### 1.4 O PEPTÍDEO $\beta$ -AMILÓIDE A $\beta$ (1-42)

Toda proteína e todo peptídeo (porção protéica menor) apresenta um sequenciamento de AA definidos através de sua prévia transcrição (GOODMAN e GILMAN, 1996). O peptídeo A $\beta$ (1-42), Figura 5, apresenta uma estrutura muito interessante de ser estudada pela química teórica e inorgânica, possuindo em sua porção hidrofílica resíduos de histidina (His-6, 13 e 14), importantes alvos para coordenação metálica e também os resíduos de Phe-4, Tyr-10 e Phe-19 e 20 que podem vir a serem utilizados como mediadores hidrofóbicos. Já sua porção hidrofóbica possui como principal alvo, o sítio de coordenação Met-35 (RAFFA, RICKARD *et al.*, 2007; BARNHAM, KENCHE *et al.*, 2008; KONG, MILES *et al.*, 2008; KUMAR, MOODY *et al.*, 2010; LIN, HUANG *et al.*, 2010; MILLER, Y., MA, B. Y. *et al.*, 2010; KUMAR e ATAMNA, 2011; LEE, XUE *et al.*, 2012).

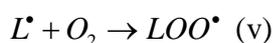
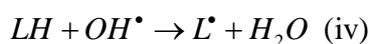
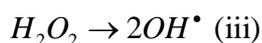
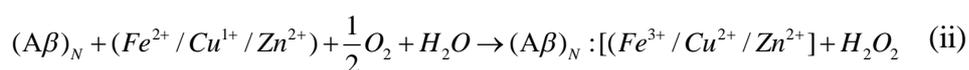
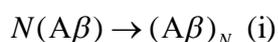


**Figura 5:** Estrutura do peptídeo A $\beta$ (1-42), obtida do banco de dados PDB, com código 1Z0Q, proposta por Tomaselli e colaboradores (TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006).

Estudos experimentais e teóricos apontam que devido ao ambiente cerebral ser rico em oxigênio molecular, compostos lipossolúveis, e metais como ferro, cobre, zinco e alumínio desencadeiam uma peculiar função de regulação de espécies reativas oxigenadas (ROS), através das reações de Harber-Weiss e Fenton. Qualquer tipo de

deturpação nestas espécies cerebrais, ao longo prazo acarretarão em danos muitas vezes irreversíveis, fato este somente percebido quando os sintomas já estão em estágio agravado. Isso tudo poderia ser evitado com uma boa profilaxia, em termos de hábitos alimentares e uma vida saudável, conforme relatam dados de pesquisas recentes na literatura, fato este não muito observado no cotidiano deste século (MATTSON, 2004; GSPONER e VENDRUSCOLO, 2006; TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006; CARAGOUNIS, DU, FI *et al.*, 2007; KHANDOGIN e BROOKS, 2007; RAFFA, RICKARD *et al.*, 2007; ADLARD, CHERNY *et al.*, 2008; BARNHAM, KENCHE *et al.*, 2008; KONG, MILES *et al.*, 2008; TRIGUERO, SINGH *et al.*, 2008a; 2008b; MUCKE, 2009; AHN, ZAMOLODCHIKOV *et al.*, 2010; CHOI, BRAYMER *et al.*, 2010; HAMAGUCHI, ONO *et al.*, 2010; HONG, CARDUCCI *et al.*, 2010; KUMAR, MOODY *et al.*, 2010; LIN, HUANG *et al.*, 2010; MILLER, Y., MA, B. *et al.*, 2010; MILLER, Y., MA, B. Y. *et al.*, 2010; KUMAR e ATAMNA, 2011; LEE, XUE *et al.*, 2012).

Neste panorama, podemos ressaltar a seguir, as principais etapas da doença devido a alta concentração de aglomerados de A $\beta$  nos portadores do MA (i), juntamente com o excesso de oxigênio molecular e água, é gerado peróxido de hidrogênio (ii) que atacará os fosfolipídios (LH) de forma radicalar (iii e iv), dando início a fase de propagação pela formação da espécie L $\cdot$  (iv) reagindo como oxigênio molecular (v), gerando o radical peroxil LOO $\cdot$ . A reação é então travada quando há encontro com outro peroxil (vii) ou propagada, quando se reinicia um novo ataque de um peroxil a outro fosfolipídio (vi). Após vários levantamentos da literatura pode-se observar que esta série de processos podem ser racionada e equacionada quimicamente da seguinte forma:



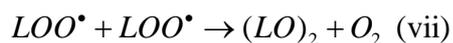
**Estresse Oxidativo**

(i)  $\rightarrow$  Aglomeração

(ii)  $\rightarrow$  Iniciação

(iii)-(vi)  $\rightarrow$  Propagação

(vii)  $\rightarrow$  Estagnação



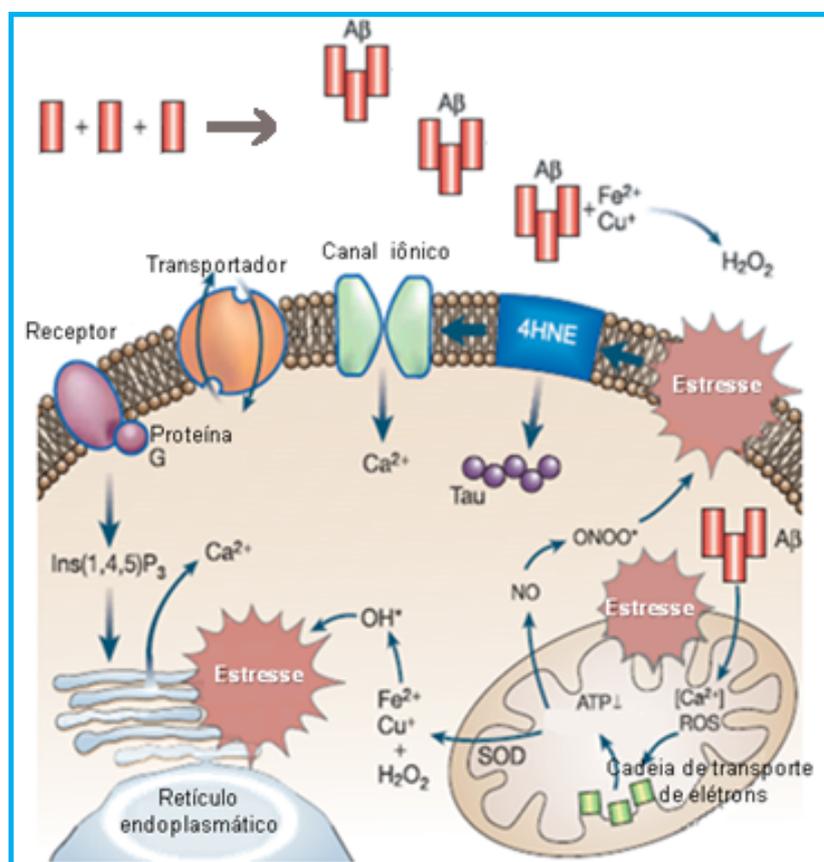
Este processo é conhecido como “Estresse Oxidativo” (BUTTERFIELD e BOYD-KINBALL, 2004; O'BRIEN e WONG, 2011), e durante esta propagação radicalar podem-se formar espécies muito tóxicas para o cérebro como o 4-hidroxi-nonenal (4HNE), responsável pela desativação funcional de sítios sujeitos a ataque nucleofílico, como no caso da proteína TAU (JENSEN, HAGER *et al.*, 1999; BUTTERFIELD e BOYD-KIMBALL, 2004; BUTTERFIELD e BUSH, 2004; MATTSON, 2004; DE PAULA, GUIMARÃES *et al.*, 2009). Estas proteínas são encontradas em grandes quantidades em neurônios e são responsáveis pela estabilização dos microtúbulos nos processos de divisão celular, desta forma geram-se outras formas de emaranhados neurofibrilares, aumentando a complexidade da síndrome iniciada (BUTTERFIELD e BOYD-KIMBALL, 2004; MATTSON, 2004; CARAGOUNIS, DU, FILIZ *et al.*, 2007; ADLARD, CHERNY *et al.*, 2008; CAPPAL e BARNHAM, 2008; MUCKE, 2009; AHN, ZAMOLODCHIKOV *et al.*, 2010; HONG, CARDUCCI *et al.*, 2010; LIN, HUANG *et al.*, 2010; MILLER, Y., MA, B. *et al.*, 2010; O'BRIEN e WONG, 2011).

Logo, o maior e mais conhecido sintoma do MA, perda cognitiva e motora, é provocado pela aglomeração e pela deposição destas placas protéicas na região do hipocampo, córtex entorrinal, o prosencéfalo basal e a amígdala, principais áreas cerebrais envolvidas no processo de aprendizagem e memória recente (MATTSON, 2004; DUCE e BUSH, 2010).

## 1.5 O BIOCICLO QUÍMICO DO MA

Sabe-se que esta síndrome metabólica é iniciada devido à deturpação de processos neurais extremamente complexos na produção do peptídeo A $\beta$ . Podemos então, de forma sucinta apresentá-los como sendo uma proteólise indevida da APP com a  $\gamma$ -secretase, gerando espécies denominadas de A $\beta$ (1-40) e A $\beta$ (1-42) que são liberadas para o espaço extracelular, acarretando falha de comunicação neural (MATTSON, 2004; TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006; MILLER, Y., MA, B. Y. *et al.*, 2010). A aglomeração externa se dará de várias formas, com ou sem espécies de cobre, zinco,

ferro e alumínio em meio de excesso de oxigênio molecular e água, ocasionado reações de oxirredução conhecidas como reações de Harber-Weiss e Fenton. Com isso, há a formação das ROS que por sua vez entram em contato com os fosfolipídios da membrana celular dando origem ao “Estresse Oxidativo”, pela produção de moléculas tóxicas como 4HNE (4-hidroxi-nonenal), que se portam como verdadeiras toxinas cerebrais, uma vez que podem desativar vários sítios protéicos propícios a ataques nucleofílicos, modificando covalentemente as porções de Lys, Cys, His e Met (Figura 6) (BUTTERFIELD e BOYD-KIMBALL, 2004; MATTSON, 2004; TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006; MILLER, Y., MA, B. Y. *et al.*, 2010; O'BRIEN e WONG, 2011).



**Figura 6:** Mecanismo de inativação neural ocasionada via “Estresse Oxidativo”, decorrente da geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela espécie Aβ. Adaptada da referência (MATTSON, 2004).



em muitos efeitos colaterais. No presente trabalho será abordada uma proposta de desativação do ciclo do MA, via estudos dos processos de aglomeração peptídica por contato da forma A $\beta$ (1-42) (destacado em verde na Figura 7), uma vez que esta etapa pode ocorrer em ambos os espaços celulares (interno e externo), além de existirem muitas discussões e pensamentos não consolidados nesta etapa viciosa da síndrome, sendo ainda necessários grandes esforços para seu entendimento.

## 1.6 UTILIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE Pt(II) COMO POTENCIAIS AGENTES ANTI-MA

É de grande utilidade que as interfaces interdisciplinares (química, farmácia, física, biologia e medicina) saibam como propor medicamentos baseados em etapas seletivas do MA, pois durante os últimos anos, tem se gerado interessantes e intensos estudos. Um merecido destaque vai para Kevin J. Barnham e colaboradores, por se aproveitarem da ação neurotóxica de moléculas derivadas de platina na qual merece destaque a molécula de cis-diaminodicloroplatina(II) ou cisplatina (cDDP), que hoje em dia é um dos agentes antineoplásicos mais utilizados no tratamento de uma variedade de tumores sólidos.

O grande norte de Barnham foi basear seus experimentos em algo já muito conhecido, “a atividade neurotóxica de análogos de platina e viabilidade de ataque por bases nitrogenadas ao longo do organismo”, algo que seria muito notório de se observar pela presença de átomos nitrogenados e sulfurados para este tipo de reação em A $\beta$ . Em seus ensaios, foram observados fortes evidências de coordenação metálica entre espécies A $\beta$ (1-42) com complexos de Pt(II) derivados da 1,10-fenantrolina (ortofenantrolina). Esta classe de compostos é ilustrada na Tabela I.

**Tabela I:** Estruturas dos análogos de Pt(II) estudados por Barnham e colaboradores, com as respectivas simbologias adotadas para efeito de simplificação (BARNHAM, KENCHE *et al.*, 2008).

Estruturas				
	Pt(1,10-fenantrolina)Cl <sub>2</sub>	Pt(2,9-dimetil-[1,10]-fenantrolina)Cl <sub>2</sub>	Pt(4,7-difenil-[1,10]-fenantrolina)Cl <sub>2</sub>	Pt(4,7-difenil-2,9-dimetil-[1,10]-fenantrolina)Cl <sub>2</sub>
Simbologia adotada	Comp1	Comp2	Comp3	Comp4

Contudo, até o presente momento, não há uma pesquisa que revele o processo mecanístico desta classe de complexos, por parte do ataque nas espécies A $\beta$ , de tal forma que descreva o porque destes ligantes, quando coordenados à Pt(II), aumentarem seu perfil de eficácia contra os aglomerados (CARAGOUNIS, DU, FI *et al.*, 2007; CARAGOUNIS, DU, FILIZ *et al.*, 2007; BARNHAM, KENCHE *et al.*, 2008; KUMAR e ATAMNA, 2011).

Não é verdadeiro supor que complexos de platina(II) são excelentes para o tratamento do MA, no entanto, a elucidação de vários processos de aglomeração será de fundamental importância no estudo da geração de ROS, e para proposta de novos fármacos que atuarão nesta etapa de início do biociclo, levando em conta a validação de um mapeamento para um bom inibidor de A $\beta$ (1-42). Desta forma, um “Modelo Farmacofórico”, foi proposto com base em recepção molecular, barreiras de ativação e estabilidades, utilizando-se de técnicas de modelagem molecular clássicas e quânticas.

## 1.7 OBJETIVOS

É crescente a busca na elucidação de processos relacionados com a Química do Cérebro, no sentido de prever certos acontecimentos que ocasionarão seu mau funcionamento, a exemplo disso, o MA. Vários pontos nesta área são considerados

agravantes em propostas de pesquisas, tais como: transporte pela barreira hematoencefálica, reatividade e estabilidade, necessárias para alvejar o sítio de recepção, relações preditivas em termos de estrutura, ou seja, conhecer com profundidade qual molécula empregar como ponto de partida para posteriormente, aumentar a complexidade do modelo.

Neste sentido, o presente trabalho tem como objetivos o estudo da aglomeração do  $\beta$ -amiloide  $A\beta(1-42)$  e sua reação com complexos de Pt(II). Técnicas de modelagem molecular foram utilizadas, incluindo cálculos quânticos puros (DFT), métodos híbridos e simulações clássicas de DM. Complexos de platina(II) derivados da 1,10-fenantrolina foram escolhidos como potenciais agentes anti-MA, considerando informações experimentais de redução da taxa aglomerativa, disponíveis na literatura (CARAGOUNIS, DU, FI *et al.*, 2007; BARNHAM, KENCHE *et al.*, 2008; KUMAR, MOODY *et al.*, 2010).

## 2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 2.1 DINÂMICA MOLECULAR (LEACH, 2001; CRAMER, 2004)

Este é um ramo na química teórica que merece considerável destaque nos tempos atuais, pois pode ser entendido como uma fronteira entre experimento e teoria. Quando se fala em realizar simulações de DM de um sistema, tem-se a intenção de tratar sua amostra virtual com dimensões maiores, conforme ilustrado pela Figura 8. (ALDER e WAINWRIGHT, 1957; HAILE, 1997).

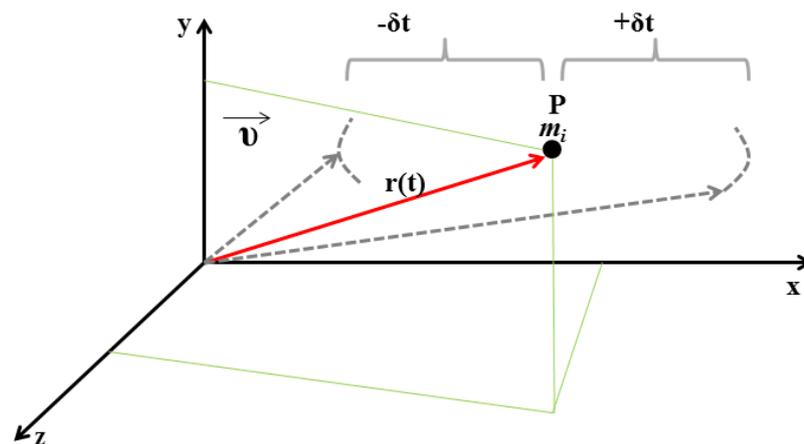
Em DM, o principal objetivo é obter evolução temporal de um sistema, com dependência da temperatura, frente à ação de um Campo de Força, potencial definido entre o sistema ligado e não ligado. Desta forma, sistemas ligados são tratados como massa-mola, parametrizados com as condições de contorno específicas de um dado problema (MORGON e COUTINHO, 2006).

### 2.1.1 Integrações das equações de movimento

Como o próprio nome da estratégia de simulação já diz, DM pode ser definida como a técnica que exprime propriedades do sistema de modo clássico, através da resolução das equações de Newton. Ou seja, de posse da estrutura inicial do sistema, deixamos a cargo da Segunda Lei de Newton dada pela Equação 2.1 tratar o potencial de interação do sistema entre todas as partículas, pois podemos saber sua posição  $r_i$  e sua velocidade  $v_i$ , integrando-se esta equação sobre o “tempo de passo”  $\delta t$ .

$$m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} = -\frac{\partial V\{r_i\}}{\partial r_i} \Rightarrow \vec{F}_i = -\vec{\nabla}_i V \quad 2.1$$

Como visto na equação 2.1, conhecendo-se o potencial e as posições, sabemos determinar o passo subsequente do sistema. Assim, adotamos métodos de cálculo numérico tais como *Leap-Frog*, *Beeman*, *Velocity-Verlet*, *Verlet* para a resolução esboçada por esta equação. Destaca-se aqui o método de Verlet, por possuir uma vasta aplicabilidade para resolver as equações de Newton, “enxergando” as coordenadas do sistema como uma função dependente do tempo e de seu incremento  $\delta t$  (VERLET, 1967; HAILE, 1997; MORGON e COUTINHO, 2006). Analisando a Figura 8, conseguimos expressar uma dependência temporal entre as redondezas do ponto P.



**Figura 8:** Esquema de aplicação das séries de Taylor, nas redondezas no ponto P localizado sobre a partícula de massa  $m_i$ .

Assim, podemos tratar matematicamente duas séries em torno de P, devido a partícula  $m_i$ :

$$r_i(t - \delta t) = r_i(t) - \frac{dr_i}{dt} \delta t - \frac{1}{2!} \frac{d^2 r_i(t)}{dt^2} \delta t^2 - \frac{1}{3!} \frac{d^3 r_i(t)}{dt^3} \delta t^3 - 0 \left[ \frac{1}{4!} \frac{d^4 r_i(t)}{dt^4} \delta t^4 + \dots \right] \quad 2.2$$

$$r_i(t + \delta t) = r_i(t) + \frac{dr_i}{dt} \delta t + \frac{1}{2!} \frac{d^2 r_i(t)}{dt^2} \delta t^2 + \frac{1}{3!} \frac{d^3 r_i(t)}{dt^3} \delta t^3 + 0 \left[ \frac{1}{4!} \frac{d^4 r_i(t)}{dt^4} \delta t^4 + \dots \right] \quad 2.3$$

Feito isso, através da soma e da diferença nas Equações 2.2 e 2.3, chegamos às Equações 2.4 e 2.5, implementadas pelo algoritmo de Verlet, onde  $r_i(t + \delta t)$  será a nova coordenada gerada e  $v_i(t)$  a velocidade alcançada neste intervalo de tempo  $\delta t$ :

$$r_i(t + \delta t) = 2r_i(t) - r_i(t - \delta t) + \frac{1}{2!} \frac{d^2 r_i(t)}{dt^2} \delta t^2 \quad 2.4$$

$$v_i(t) = \frac{r_i(t + \delta t) - r_i(t - \delta t)}{2\delta t} \quad 2.5$$

A dependência da temperatura estará intimamente ligada com o número de partículas do sistema N, e a energia cinética dada pelo momento linear  $p_i$  assumido com as velocidades  $v_i$  e a massa  $m_i$  total do número N de partículas, conforme a Equação 2.6:

$$T = \frac{1}{3N} \sum_{i=1}^N \frac{|p_i|^2}{2m_i} \quad 2.6$$

### 2.1.2 Implementação de um Campo de Força

Como já mencionado no item 2.2.1, é necessário um potencial de interação entre cada partícula considerando os termos de curto e longo alcance. Este potencial recebe o nome de Campo de Força, possuindo a forma matemática dada pela Equação 2.7, dependente de cada correlação geométrica da estrutura em questão, obedecendo a estratégia de considerar como oscilador as dependências intramoleculares.

$$V = V_{\text{intra.}} + V_{\text{inter.}} \Rightarrow V = V_{\text{lig.}} + V_{\text{ang.}} + V_{\text{died.}} + V_{\text{inter.}} \quad 2.7$$

Assim, cada termo  $V$  pode ser dividido em uma porção intra molecular ou intermolecular. Sendo intra, podemos acoplar em um potencial do tipo massa-mola devido ao estiramento de ligação  $V_{\text{lig}}$ , ou deformação angular  $V_{\text{ang}}$  e até mesmo deformação de diedros  $V_{\text{died}}$ . Caso a dependência se dê de forma intermolecular, podemos relacioná-lo em um termo para ligações de hidrogênio e outro de dispersão. De forma genérica, isso é demonstrado na Equação 2.7 e podemos melhor visualizar o potencial genérico em atuação, conforme a Tabela II, ilustrando como acontece tal evento de potencial massa-mola, tratado pelo Campo de Força AMBER (WEINER, KOLLMAN *et al.*, 1984), podendo-se chegar a equação 2.8, a qual foi considerada para realização dos cálculos de DM do presente trabalho.

É interessante notar que embora não sejam tão complexas as equações de evolução temporal e o potencial seja bem descrito para obtenção das estruturas, a forma na qual parte-se a proposta de estrutura inicial é de fundamental importância, tendo em vista que as coordenadas posteriores serão geradas da mesma forma por qualquer outro operador que por ventura utilize o mesmo protocolo de DM pré-estabelecido. Então, faz-se necessário um estudo anterior de como ajustar este protocolo de simulação, de modo que a estrutura final obtida no campo de força faça sentido físico-químico e estatístico, considerando as grandezas de ajuste. Assim sendo, para sistemas onde as interações supramoleculares serão de suma importância para estabelecimento de um arranjo do tipo agregado, é interessante que este estudo esteja bem firmado de antemão.

**Tabela II:** Ilustração dos termos contidos no campo de força AMBER (WEINER, KOLLMAN *et al.*, 1984).

Dependência	Forma de potencial	Equação	Ilustração
$V_{intramolecular}$	Estiramento	$\frac{1}{2} \sum_{lig.} K_r (r - r_0)^2$	
	Deformação angular	$\frac{1}{2} \sum_{ang.} K_\theta (\theta - \theta_0)^2$	
	Diedros impróprios	$\frac{1}{2} \sum_{d.impr.} K_\xi (\xi - \xi_0)^2$	
	Diedros próprios	$\frac{1}{2} \sum_{d próp.} V_n [1 - (-1)^n \cos(n\phi + \gamma_n)]$	
$V_{intermolecular}$	Coulômbico	$\frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$	
	Van der Waals	$4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$	
	Ligação de hidrogênio	$4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{10} \right]$	

Na Tabela II, todos os potenciais harmônicos possuem um marco zero conforme as informações iniciais de coordenadas (input) e suas variações serão medidas conforme ocorre a evolução temporal. Contudo, para que isso ocorra, os valores de  $K_r$ ,  $K_\theta$  e  $K_\xi$  precisarão ser parametrizados. Para o termo de rotação própria, uma série de Fourier pode ser projetada para ser truncada geralmente no quarto termo da expressão. Para as interações intermoleculares, aparece um termo eletrostático com  $q_i$  e  $q_j$  (cargas de cada partícula  $i$  e  $j$ ), sendo  $r_{ij}$  a distância entre cada partícula juntamente com um termo de Lennard-Jones no qual em sua definição aparecem  $\sigma_{ij}$  (o diâmetro da partícula) e  $\epsilon_{ij}$  (a profundidade do poço da curva de potencial traçada devido à interação entre cada partícula independente até ocorrer um mínimo local).

Com estas constatações, chegamos a Equação 2.8, para o modelo AMBER, no qual explicita um termo específico para ligações de hidrogênio, fundamental para apurar conformações supramoleculares, principalmente de origem protéicas e peptídicas, tratadas aqui na presente proposta:

$$\begin{aligned}
V^{AMBER*} = & \frac{1}{2} \sum_{lig.} K_r (r - r_0)^2 + \frac{1}{2} \sum_{ang.} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \frac{1}{2} \sum_{d.imp.} K_\xi (\xi - \xi_0)^2 + \\
& \frac{1}{2} \sum_{d.próp.} V_n [1 - (-1)^n \cos(n\varphi + \gamma_n)] + \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{i < j} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} + 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \\
& + 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{10} \right]
\end{aligned} \tag{2.8}$$

2.2 METODOLOGIA QUÂNTICA (SZABO e OSTLUND, 1996; LEVINE, 2000; LEACH, 2001; CRAMER, 2004; MORGON e COUTINHO, 2006)

2.2.1 A equação de Schrödinger e a Aproximação de Born-Oppenheimer (SZABO e OSTLUND, 1996; LEVINE, 2000)

A equação de Schrödinger não relativística é a chave para se entender vários dos fenômenos químicos da matéria, podendo ser descrita conforme mostrado na Equação 2.9 com sua dependência espacial e temporal:

$$\hat{H} \Psi(\vec{r}, t) = i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \Psi(\vec{r}, t) \tag{2.9}$$

Onde, o operador hamiltoniano  $\hat{H}$  expressa a energia total do sistema, ou seja, aplicando-se sobre a função de onda descritiva, a energia aparece como seu autovalor, podendo também ser definido conforme a Equação 2.10, na qual o termo  $\hat{T}$  expressa o operador energia cinética do sistema e  $\hat{V}$  o operador potencial:

$$\hat{H} \equiv \hat{T} + \hat{V} \tag{2.10}$$

Como o operador  $\hat{V}$  opera somente nas coordenadas espaciais, podemos escrever a função de onda do sistema com duas porções, uma espacialmente dependente e outra temporalmente:

$$\Psi(\vec{r}, t) = \phi(\vec{r})\varphi(t) \tag{2.11}$$

Logo, a equação 2.9 pode ser reescrita de duas formas:

$$\hat{H} \phi(\vec{r}) = E \phi(\vec{r}) \quad 2.12$$

$$i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \varphi(t) = E \varphi(t) \quad 2.13$$

Em termos de estrutura eletrônica, adota-se a dependência espacial da Equação de Schrödinger conforme a Equação 2.12, adotada no presente trabalho.

Sabemos que existe apenas solução analítica em problemas de dois corpos e, portanto, para o hamiltoniano eletrônico de um dado sistema polieletrônico realizamos a primeira aproximação conhecida como “Aproximação de Born-Oppenheimer” (BO), que sucintamente pode ser entendida pela consideração de movimentos eletrônicos se darem de maneira muito mais rápida do que os movimentos nucleares. Pensando-se desta forma, é possível chegar em um operador dado pela Equação 2.14, expresso em unidades atômicas:

$$\hat{H} = \hat{H}_{ele} + \hat{H}_{nuc} = \left( -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} \right) + \sum_{A=1}^M \sum_{B>1}^M \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad 2.14$$

Chamamos então nesta parte  $\hat{H}_{ele} \equiv \hat{H}_{BO}$ . Assim, podemos considerar que os elétrons se movem em um campo onde os núcleos estão fixos e, portanto, a função de onda que satisfará este sistema  $\Psi_{ele}(r, R)$  pode ser parametrizada com o movimento dos muitos elétrons:

$$\Psi(r, R) = \Psi_{ele}(r; R) \Psi_{nuc}(R) \quad 2.15$$

Contudo, o que percebemos é o surgimento de um novo problema numérico através da Equação 2.16, na qual notamos que não há possibilidade de solução analítica para sistemas polieletrônicos devido ao acoplamento dos termos de  $r_{ij}$ :

$$r_{ij} = |\vec{r}_i - \vec{r}_j| \quad 2.16$$

Embora, por esta aproximação seja possível a elaboração de uma superfície de energia potencial (*PES-Potencial Energy Surface*) para o movimento dos núcleos conduzindo-se para um mínimo local, não será possível obter valores analíticos para tal problema, sendo somente tratável ao nível aproximado. Utilizando-se do aprimoramento computacional podemos utilizar estratégias mais sofisticadas tais como o método de Hartree-Fock e a Teoria do Funcional de Densidade que merecerão um breve foco, logo a seguir.

### 2.2.2 O Método de Hartree-Fock (SZABO e OSTLUND, 1996; LEVINE, 2000; MORGON e COUTINHO, 2006)

No intuito de resolver com bom desempenho problemas de muitos corpos, surge o método de Hartree-Fock (HF), o qual realiza a estratégia de tratar um sistema onde inicialmente tínhamos  $N$  elétrons, passando a ser  $N$  problemas de apenas um elétron, partindo-se da aproximação de BO. Para isso, a função de onda eletrônica  $\psi_{ele}$  será escrita na forma de um produto antissimetrizado de funções de apenas um elétron, uma vez que elétrons são férmions, ou seja, partículas idênticas e indistinguíveis, e por isso assume este formato de função descritiva.

$$\psi_{ele} = \frac{1}{\sqrt{n!}} |\phi_1(1)\alpha(1)\phi_1(2)\beta(2)\dots\phi_{n/2}(n)\beta(n)| \quad 2.17$$

Para encontrar a função de onda e o valor da energia do estado, de antemão se deve conhecer os valores das funções  $\phi_i$  que irão minimizar a energia do sistema. Para isso, utilizamos o teorema Variacional, conforme descrito na Equação 2.18:

$$E \leq \int_{\tau} \psi_{ele}^* \hat{H} \psi_{ele} d\tau \quad 2.18$$

Sabendo-se das restrições da Equação 2.18 e já conhecendo as Equações 2.14 e 2.15, chegaremos a energia HF:

$$E_{HF} = \sum_{i=1}^{n/2} \varepsilon_i - \sum_{i=1}^{n/2} \sum_{j=1}^{n/2} (2J_{ij} - K_{ij}) \quad 2.19$$

Onde,  $\varepsilon_i$  representa o valor da energia dos Orbitais de Fock, sendo o autovalor da Equação 2.20. O termo  $J_{ij}$ , dado pela Equação 2.21, representa as integrais de Coulomb e  $K_{ij}$ , conforme a Equação 2.22, depura as integrais de troca (*exchange*):

$$\hat{F} \phi_i = \varepsilon_i \phi_i \quad 2.20$$

$$J_{ij} = \iint \phi_i^*(1) \phi_j^*(2) r_{12}^{-1} \phi_i(1) \phi_j(2) d\tau_1 d\tau_2 \quad 2.21$$

$$K_{ij} = \iint \phi_i^*(1) \phi_j^*(2) r_{12}^{-1} \phi_i(2) \phi_j(1) d\tau_1 d\tau_2 \quad 2.22$$

Embora, do ponto de vista matemático e computacional o método de HF haja uma resolução numérica relativamente simples, temos que agora levar em conta as considerações perturbativas de movimentos acoplados entre elétrons, que até então, hora nenhuma foram descritas. Para tal, utilizamos teorias mais sofisticadas tais como MP2 e MP4, que levarão em conta estas correções de posse do autovalor da resolução numérica da equação de Schrödinger, Equação 2.12. Uma estratégia de retirar a energia do sistema poderá ser dada através também da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) que ao contrário do que se exprime da Equação 2.12, a energia agora será calculada através do funcional de densidade eletrônica do sistema, assunto este que merecerá um pouco de destaque adiante.

### 2.2.3 Tópicos da Teoria do Funcional de Densidade (VIANNA, FAZZIO *et al.*, 2004; MORGON e COUTINHO, 2006)

Como visto na seção 2.2.2, conseguimos expressar a energia HF de uma sistema através de um ciclo SCF pelo autovalor da função de onda considerada, função esta que podemos escrever devido a uma combinação linear das funções de base atômicas. Contudo, nesta aproximação não é levado em consideração a “Energia de Correlação Eletrônica ( $E_{cor}$ )”, que representa a energia de perturbação dada pela repulsão eletrônica. Esta energia é a diferença entre a energia exata do sistema e a obtida pela aproximação de HF no limite de uma função de base completa. Esta energia seria um termo de decaimento energético, dado pela correlação dos movimentos dos

elétrons de spins opostos, contribuindo para a redução da energia total. Vários métodos, exceto o método “Teoria do Funcional de Densidade” (*DFT-DensityFunctionalTheory*), utilizam-se como base a  $E_{\text{HF}}$  e funções de onda em estados fundamentais e excitados, tais como: Teoria de Perturbação de Muitos Corpos (*MBPT - Many Body Perturbed Theory*), *Coupled Cluster* (CC) e Interação de Configuração (*CI - Configuration Interaction*). Estes métodos são conhecidos como métodos pós-HF, contudo não serão aqui detalhados.

Na DFT, o cálculo da energia total do sistema é consolidada através do teorema de Hohenberg-Kohn no qual enuncia que “dado um estado fundamental não-degenerado com energia  $E_0$ , possuindo uma densidade eletrônica  $\rho_0$ , sua expressão poderá ser dada através de um funcional de densidade eletrônica”, conforme a Equação 2.23:

$$E_0 = E_0[\rho_0] \quad 2.23$$

Com isso, através da equação de Kohn-Sham (Equação 2.24) conseguimos colocar em evidência os termos de interação entre elétrons conforme a lei de Coulomb em conjunto a um termo de troca e correlação, e outro relacionado com a energia cinética do sistema. Logo,  $T_s[\rho]$  é o funcional de energia cinética em um sistema de elétrons não-interagentes e  $E_{\text{xc}}[\rho]$  é o funcional de troca e correlação. Podemos perceber através da notação que a energia dada por este funcional  $E_v[\rho]$  é dependente de  $v$ , ou seja, o sistema altera seu estado com o potencial externo:

$$E_v[\rho] = T_s[\rho] + E_{\text{xc}}[\rho] + \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{2|r_{12}|} dr_1 dr_2 + \int \rho(r)v(r)dr \quad 2.24$$

O grande agravante na equação 2.24 é dado pelo funcional  $E_{\text{xc}}[\rho]$ , pois a exceção dos demais, este termo não é conhecido. Logo, o grande foco de muitas pesquisas se dá exatamente em melhorar a descrição deste termo ao mais próximo possível do que sua aproximação permitiria sendo, portanto, um fator de comparação direta entre os métodos pós-HF. Uma primeira aproximação muito comum na literatura é a “Aproximação de Densidade Local” (*LDA-Local DensityApproximation*), no qual trata a estrutura eletrônica de um composto como um sistema de gás de elétrons homogêneo, ao passo que, com o aprimoramento e refinamento da precisão do cálculo, utilizamos mais considerações no funcional tais como o gradiente da densidade

eletrônica tais como funcionais híbridos e GGA (*Generalized Gradient Approximation*), como B3LYP e B97-2 (BECKE, *et al.* 1998, WILSON, BRADLEY *et al.*, 2001), de tal forma que melhorem a descrição da nuvem eletrônica de uma molécula.

#### 2.2.4 Funções de base (SZABO e OSTLUND, 1996; LEVINE, 2000; MORGON e COUTINHO, 2006)

Uma função de base pode ser tratada como a combinação linear de funções centradas em cada átomo, podendo então ser escrita na forma:

$$\phi_i = \sum_{\mu=1}^{k/2} C_{\mu i} \chi_{\mu}, \text{ com } i = 1, 2, 3, \dots, \frac{k}{2} \quad 2.25$$

Onde,  $\chi_{\mu}$  são as funções de base atômicas,  $C_{\mu i}$  é a contribuição da função  $\mu$  para o orbital  $i$ , sendo  $k/2$  o número de funções de base utilizadas na expansão. Adequando as equações 2.17 e 2.20, chegamos à equação de Roothaan:

$$\sum_{\mu=1}^k C_{\mu i} (F_{\mu\nu} - \varepsilon_i S_{\mu\nu}) = 0 \quad 2.26$$

Na qual  $F_{\mu\nu}$  são elementos da matriz de Fock, e  $S_{\mu\nu}$  são as integrais de sobreposição dos orbitais  $\chi_{\mu}$  e  $\chi_{\nu}$ . Com isso, via resolução do determinante secular, teremos:

$$\det(F_{\mu\nu} - \varepsilon_i S_{\mu\nu}) = 0 \quad 2.27$$

Na etapa de resolução deste determinante, chamamos o processo de Campo Auto-Consistente (SCF - *Self Consistent Field*). Após os cálculos dos elementos da matriz de Fock, o determinante secular é resolvido, obtendo os valores de energia  $\varepsilon_i$  e, conseqüentemente, a matriz de coeficientes  $C_{\mu i}$ . De posse de uma nova matriz  $C$ , novamente repete-se o ciclo SCF até que haja convergência para um critério de limite energético.

Utilizamos nestas etapas, funções de base atômicas do tipo gaussianas (GTO's) ou de Slater, respectivamente as Equações 2.28 e 2.29 as quais podemos ver

seu esboço dado pela Figura 9, onde percebemos o comportamento de soma de gaussianas levarem a uma similaridade nítida com as funções de Slater:

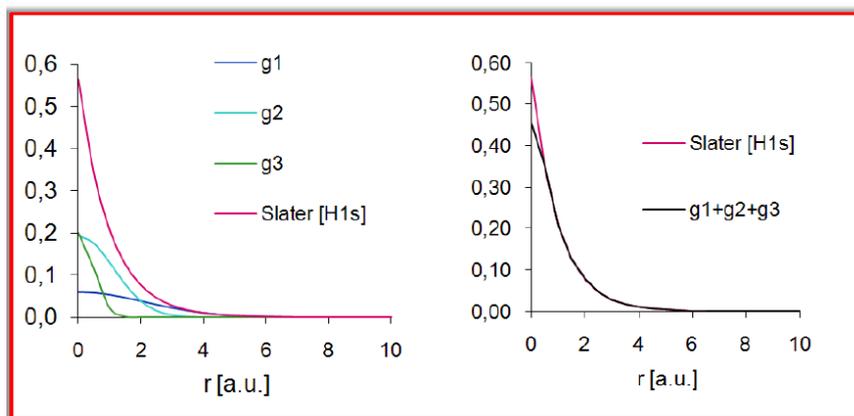
$$\chi_{lmn\zeta}(r, \theta, \varphi) = NY_l^m(\theta, \varphi)r^{2n-l-2}e^{-\zeta r^2} \quad 2.28$$

$$\chi_{lmn\zeta}(r, \theta, \varphi) = NY_l^m(\theta, \varphi)r^{n-1}e^{-\zeta r} \quad 2.29$$

Onde, N é a constante de normalização e  $\zeta$  é o expoente que definirá a parte radial, e l, m e n são os números quânticos de momento angular, magnético e principal, respectivamente, que definem os orbitais s, p, d, etc.

Podemos também adotar a estratégia de utilizar combinação linear de funções gaussianas, originando as funções conhecidas como funções contraídas (CGTO's), sendo  $d_{\mu r}$  os coeficientes de contração e  $g_r$  as funções originais (GTO's primitivas), conforme a Equação 2.30, como uma boa estratégia de redução de tempo de computação, uma vez que gaussianas possuem resolução analítica e também a propriedade de quando somadas formarem uma terceira função centrada na media das duas anteriores:

$$\chi_i = \sum_{\nu} d_{\nu r} g_r \quad 2.30$$



**Figura 9:** Comportamento da combinação de funções gaussianas, convergindo para mesma descrição de funções do tipo Slater.

Em tese, o ideal seria adotar conjuntos de funções de bases completos para cada elemento. Contudo, isso não é levado em consideração em átomos com maior número de elétrons tais como Ag, Pt e Au. Para os elementos de transição, geralmente adotamos apenas os elétrons que de fato “são importantes” em uma ligação química. Ou seja, para os elétrons de camada mais internas, considera-se um potencial efetivo de caroço, denominados de ECPs (*Effective Core Potentials*), baseados em expansão de funções gaussianas. De uma forma geral, possuem a seguinte expressão, conforme trata a Equação 2.31:

$$UECP(r) = \sum_k d_k r^{n_k} e^{-\zeta_k r^2} \quad 2.31$$

Onde as variáveis  $n_k$ ,  $d_k$  e  $\zeta$  serão determinadas pelo método dos mínimos quadrados e são dependentes do momento angular. Em exemplo disso, para a platina ( $Z=78$ ) em estado fundamental, possui configuração  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^{10} 4s^2 4p^6 4d^{10} 4f^{14} 5s^2 5p^6 5d^8 6s^2$ . Contudo, o que é normalmente feito é considerar a valência com 18 elétrons ( $5s^2 5p^6 5d^8 6s^2$ ) e o *core* com o ECP, conforme é ilustrado para o ECP LANL2DZ descrito por P. J. Hay e colaboradores (HAY e WADT, 1985), muito utilizado na literatura mundial para descrição de elementos de transição.

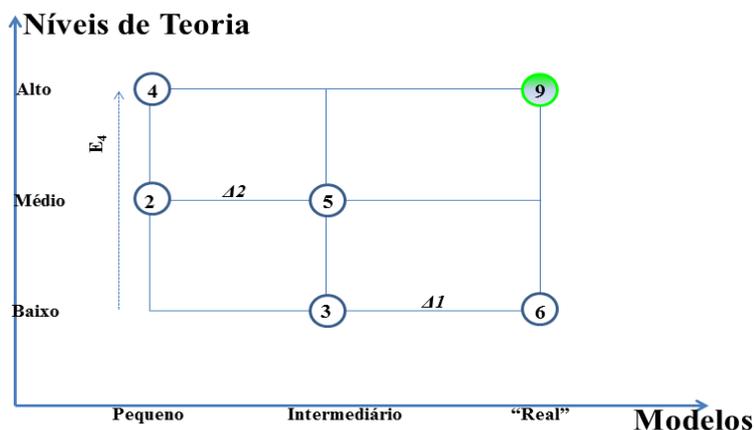
### 2.3 MÉTODOS HÍBRIDOS MQ/MM (MOROKUMA, 2004)

Como já visto, é de alta complexidade realizar cálculos de Mecânica Quântica (MQ) para sistemas macromoleculares devido ao alto custo computacional. Mesmo utilizando a DFT como uma alternativa viável, se nós almejarmos uma convergência de um experimento virtual para uma proposta de sistema real haverá o encarecimento do tempo de cálculo, inviabilizando ainda mais sua realização quando a função de base escolhida for muito extensa.

Logo, uma boa escolha para tratar sistemas mais reais, é contornar as limitações de um cálculo utilizando-se de métodos híbridos, contendo considerações MQ e mecânica molecular MM. A exemplo, disso temos a metodologia ONIOM (MQ/MM), que vem se difundindo entre a comunidade acadêmica desde a década de 70, sendo Morokuma seu difusor (MOROKUMA, 2004). A vantagem deste método é a

extrapolação energética devido à fragmentação do modelo em camadas de alto e baixo nível de teoria, como mostrado na Equação 2.32 e podendo ser geometricamente entendido de acordo com a Figura 10.

$$E_{ONIOM} = E_9 = E_4 + [(E_5 - E_2) + (E_6 - E_3)] \quad 2.32$$



**Figura 10:** Esquematização da rotina de cálculo para as energias ONIOM, utilizando-se de uma extrapolação geométrica racional. O ponto 9 será a energia desejada, dado para um dado “Modelo Real”.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 ESQUEMA METODOLÓGICO

Em relação à parte do trabalho na qual se utiliza a MQ, podemos simular qualquer reação proposta com a formação de um estado de transição ET e a partir deste, traçamos o caminho intrínseco de reação através de cálculos de IRC (*Intrinsic Reaction Coordinated*). Este cálculo é feito utilizando o algoritmo de Gonzales e Schlegel (GONZALEZ e SCHLEGEL, 1989), que irá propor o caminho reacional conectando intermediários I-1 e I-2, que juntamente com cálculos de otimização de estrutura molecular e frequências harmônicas, encontraremos a resolução da Equação 2.33:

$$\Delta G_{(aq)} = \Delta E_{(g)} + \delta_{solv} + \delta_T \quad 2.33$$

Com  $\delta_{\text{solv}}$  e  $\delta_{\text{T}}$  sendo as contribuições de solvatação e correção térmica de cada nível de teoria especificado, respectivamente. Nas reações aqui descritas, foram simuladas ao nível padrão estrutural, utilizando-se o funcional B3LYP (BECKE, 1988) com o conjunto de funções de base polarizada 6-31G(d) com correções energéticas ao nível B97-2/6-311+G(2d,p)(WILSON, BRADLEY *et al.*, 2001). Em todas as considerações, empregamos o pseudo potencial LANL2DZ para o átomo de platina.

Em relação ao uso do método MQ/MM ONIOM para a resolução de estruturas maiores na simulação, tratamos ao nível padrão supracitado sob camada alta, o sítio de ataque da His-6 do peptídeo, e em camada baixa utilizamos o campo de força universal UFF (*Universal Force Field*). Para melhor elucidação das convergências de muitos resultados, foi proposto uma forma de “enxergar” melhor o problema químico simulando o ataque da histidina (His ou H) através de três modelos quânticos conforme descrito abaixo e exemplificado na Figura 11:

-Micro modelo (puramente quântico):



Neste modelo, foi adotado todo o sistema em nível puramente quântico ao nível B3LYP com a base 6-31G(d) e posteriormente corrigindo a energia com o funcional B97-2 com a base 6-311+G(2d,p). Todos os complexos foram analisados (ver Tabela I), portanto o índice “i” aqui se refere às notações adotadas para os complexos. A partir dos resultados filtrados e previamente analisados, as conclusões foram utilizadas para montagem do modelo seguinte.

-Modelo intermediário (complexo e His-6 em camada alta):

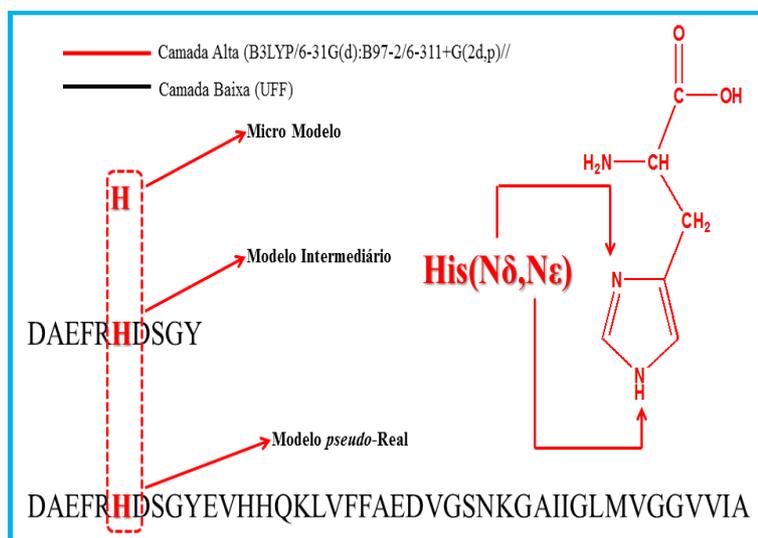


Aqui foi considerado apenas o sítio de coordenação (Comp(i) com His) em camada alta sob as considerações relatadas no micro modelo, inclusive para correção energética. Para os demais resíduos, foi escolhido o campo de força universal (UFF - *Universal Force Field*) para descrever as propriedades dos sistemas.

-Modelo *pseudo*-Real (novamente, somente complexo e His-6 mantidos sob camada alta):



As mesmas considerações para este modelo satisfazem tanto quanto para o modelo anterior, a única diferença está na quantidade de AA incluídos no sistema, sob campo de força UFF, visto que, foram considerados nesta etapa todos os demais resíduos do peptídeo A $\beta$ (1-42). É necessário comentar que cada His possui dos possíveis sítios de coordenação: N $\delta$  ou N $\epsilon$ , que também foram focos de estudos nos três modelos.



**Figura 11:** Forma de elaboração dos modelos propostos via mimetização, coordenados pelos nitrogênios N $\delta$  ou N $\epsilon$ . A camada alta é representada pelo resíduo de His-6 unicamente (em vermelho), sendo os demais resíduos de AA em camada baixa (em preto).

Visando entender como ocorrem as etapas de aglomeração da espécie de peptídeo  $\beta$ -amilóide A $\beta$ (1-42) em solução aquosa, foi proposto um modelo de DM para se entender a estrutura ao longo do tempo dos agregados, e como seria este tipo de empacotamento em escala nanométrica. Com isso, foi utilizado o campo de força AMBER (WEINER, KOLLMAN *et al.*, 1984) (GAFF-implementação da rotina

computacional no pacote computacional AMBER10) e, adotado o modelo de condições periódicas de contorno TIP3P (TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006; DE SOUSA, LIMA *et al.*, 2012), contendo no mínimo 6000 moléculas de H<sub>2</sub>O explícitas.

Em relação ao aquecimento do sistema, necessitou-se realizar uma simulação relativamente cautelosa para não deturpar as condições de estabilização supramoleculares, como as ligações de hidrogênio, que serão fundamentais em supramodelos, tais como complexos de inclusão e empacotamento de reconhecimento molecular, como proteínas e peptídeos (TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006; MILLER, Y., MA, B. Y. *et al.*, 2010; DE SOUSA, LIMA *et al.*, 2012; NOVATO, DE ALMEIDA *et al.*, 2012).

Conforme um prévio trabalho realizado por nosso grupo de pesquisa NEQC (Núcleo de Estudos em Química Computacional), para melhores considerações de convergência e abordagem estatística dos resultados, os cálculos se deram conforme a Tabela III, adaptado dos trabalhos de Almeida e colaboradores e De Sousa e colaboradores. Estes trabalhos relatam que para garantir uma boa descrição das condições iniciais do sistema, frente a uma rampa de aquecimento, é necessário que este seja aquecido de forma bem lenta, no qual cada incremento de temperatura de 50 K possa ser dado de forma um pouco mais rápida entre (10 e 50 ps) contudo, na estabilização de cada intervalo de temperatura, há a necessidade de se manter constante por um período mais longo, em torno de 100 ps, até atingir a fase de produção visada, no caso à 300 K, onde se fez necessário intervalos de aproximadamente 2500 ps para convergência energética dos agregados. Em relação ao *time step*, foi admitido o valor de 1,5 fs, sendo um valor médio da faixa de 1 a 2 fs, estimada pelas referências apontadas.

No intuito de agilizar tais processos, assumiu-se que os intermediários de reação fossem o mais próximo possível dos traçados pelo Micro Modelo e já de posse dos ETs em cada etapa, foi proposto a “mimetização” de cada reação. Todos os cálculos puramente DFTs e híbridos MQ/MM foram realizados no pacote computacional GAUSSIAN® (FRISCH, 2009) devidamente instalado nos computadores do nosso grupo de pesquisa.

**Tabela III:** Protocolo padrão ajustado para o sistema, utilizado para todos os cálculos de DM.

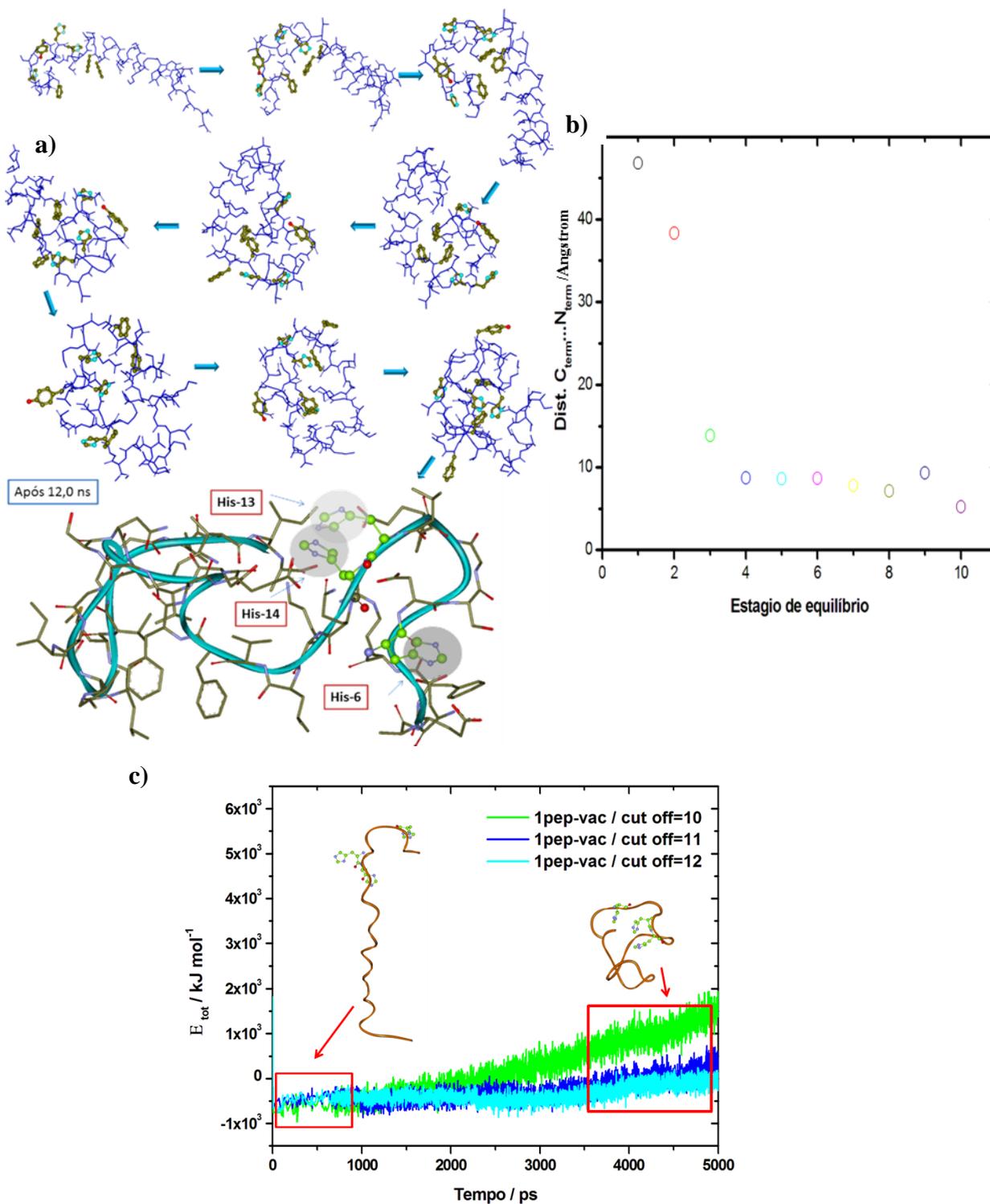
Fases da DM	Estágios	Temperatura inicial / K	Temperatura Final / K	Intervalo Temporal / ps
	1	5	50	10
	2	50	50	100
	3	50	100	10
	4	100	100	100
	5	100	150	10
Etapa de aquecimento	6	150	150	100
	7	150	200	10
	8	200	200	100
	9	200	250	10
	10	250	250	100
	11	250	300	10
	12	300	300	100
Etapa de Produção	13	300	300	5000*

\*Valor utilizado somente como referência para ajuste da implementação do protocolo, não necessariamente utilizado no período de produção para todas as outras simulações.

### 3.2 IDENTIFICAÇÃO E MODELAGEM MOLECULAR DO ALVO BIOQUÍMICO VIA DM

Devido ao grande número de variáveis levadas em consideração para simulação dos alvos bioquímicos, foi ajustado um protocolo padrão de simulação conforme já mencionado na seção 3.1, baseado em ajustes prévios de *cutoff*, rampa de aquecimento, etapa de produção para relaxação do sistema e, meio de simulação (vácuo ou não). Este protocolo (Tabela III) foi baseado em alguns trabalhos na literatura (TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006; ALMEIDA, ANCONI *et al.*, 2011; DE SOUSA, LIMA *et al.*, 2012; NOVATO, DE ALMEIDA *et al.*, 2012), os quais tentam reproduzir dados experimentais também muito complexos, e acarretam em pequenas mudanças de condições a cada passo de integração das equações de Newton.

Na Figura 12, é demonstrado um perfil da simulação para um peptídeo no vácuo, servindo de padrão para os resultados futuros em solução, utilizando as condições já descritas na seção anterior. Devido a este ajuste, foi mantido fixo o *cutoff* em 12 Å e *time step* de 1,5 fs, para os demais ensaios. As simulações foram iniciadas em 5 K, aquecidas para 50 K por 10 ps e equilibradas durante 100 ps. Posteriormente, onze estágios de DM consecutivas semelhantes foram executadas para atingir uma temperatura final de 300 K. Um ensemble NVT foi usado no processo de aquecimento e um ensemble NPT foi usado durante o período de produção (DE SOUSA, LIMA *et al.*, 2012; NOVATO, DE ALMEIDA *et al.*, 2012). Nesta Figura 12c podemos perceber que através deste ajuste, conforme é reportado na literatura (TOMASELLI, ESPOSITO *et al.*, 2006), é necessário um valor de *cutoff* maior ou igual a 12 Å para que haja considerável limiar de estabilização da estrutura ao longo do experimento. Percebemos que a distância C...N-terminal do peptídeo tende a se interagir, aproximando-se e estabilizando o sistema, fato que já era esperado uma vez que a simulação se deu no vácuo.

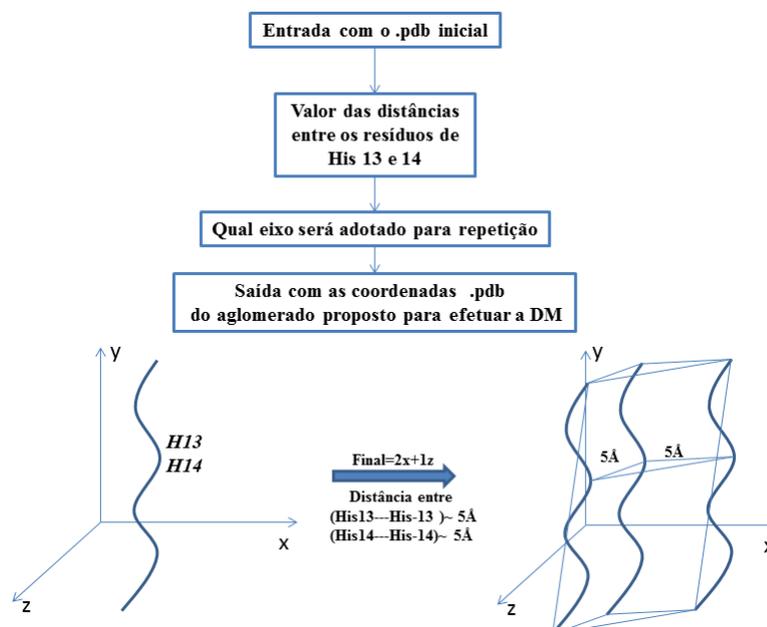


**Figura 12:** a) Estrutura do peptídeo Aβ(1-42) em vácuo, passando por vários microestados de estabilização. b) Representação das distâncias C...N-terminal das estruturas de equilíbrio. c) Ajuste de *cutoff*, mantendo-se fixo em 12 Å, como já proposto na literatura. Nota-se que devido a não existência de solvente explícito no sistema, o peptídeo tende a se enovelar.

### 3.2.1 DM dos agregados do tipo $A\beta(1-42)_n \dots (H_2O)_m$ , com $n=1, 2, 3$ ou $4$ com $m=0$ ou $m \rightarrow \infty$

Nesta seção, será abordada a fase de elaboração de um possível receptor dos complexos de platina(II), derivados da ortofenantrolina. Pois, conforme os esquemas ilustrado na Figuras 7, uma vez que vetamos a aglomeração por contato destas espécies, possivelmente não haverá a ocorrência das etapas sucessoras do biociclo do MA.

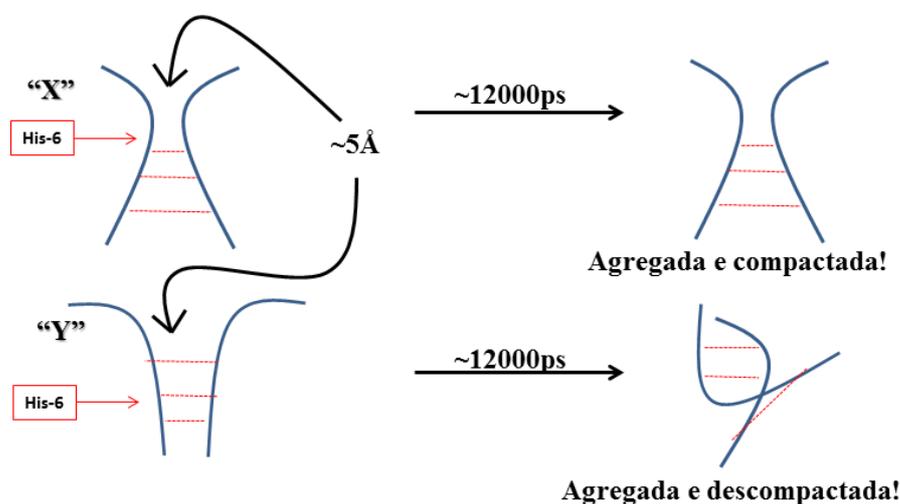
Uma questão apontada nesta iniciativa foi saber como simular estes agregados em solução, bem como apontar o tipo de perfil topológico nestas estruturas ao final da DM, uma vez que a unidade de  $A\beta(1-42)$  foi obtida como uma média de estruturas em solução, ou seja, o sistema não é tão rígido como um obtido em estado sólido. Logo, no intuito de estabelecer um padrão inicial de estrutura, foi elaborado uma rotina em FORTRAN90 para sequenciamento peptídico em qualquer direção no espaço, implementando uma forma metódica pela definição de uma distância inicial entre os resíduos de His-13 e 14 entre aproximadamente 4 e 5 Å entre cada unidade de  $A\beta$ . Com isso, mantêm-se uma orientação inicial xyz fixa e translada-se um segundo peptídeo cópia para uma nova coordenada  $x'y'z'$ , conforme se demonstra na Figura 13.



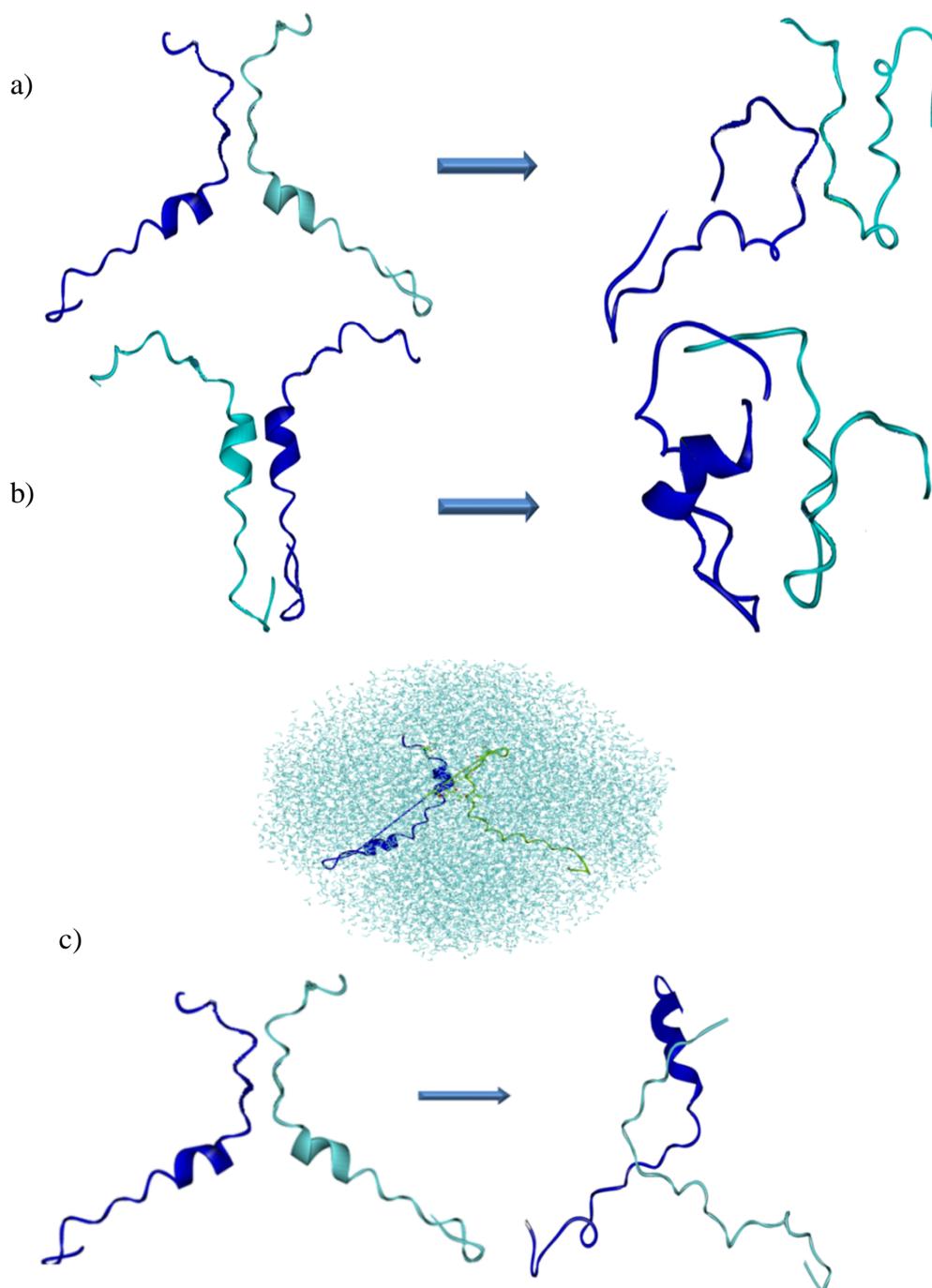
**Figura 13:** Exemplificação de auto-montagem da rotina em FORTRAN90 (.f90) escrita para sequenciamento metódico de aglomerados peptídicos.

De posse desta implementação, partimos das coordenadas ajustadas conforme o padrão de distanciamento entre cada resíduo de His-13 e 14 entre aproximadamente 5 Å, afim de demonstrar que inicialmente as ligações de hidrogênio não agiriam para estabilizar o sistema, portanto haveria uma alocação espontânea do sistema para uma topologia não prevista, fato este que se mostrou muito interessante do ponto de vista da previsão dos agregados. Observou-se que tanto em fase aquosa quanto no vácuo, ocorreria a formação de adutos muito estáveis durante todo o tempo de DM imposto, de tal modo que poderiam ser previstas conforme as disposições das coordenadas iniciais.

Como já descrito, o peptídeo A $\beta$  aqui estudado, possui uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica, tais que estas partes foram modeladas afim de manter em proximidade as porções similares na estratégia de reconhecimento estrutural semelhante. Assim sendo, foram alvejados dois tipos de modelos de inter-reconhecimento: “empacotamento X ou empacotamento Y”, conforme a Figura 14. Todavia, para o sistema em Y com 2 unidades, ocorreu empacotamento diferente do proposto inicialmente, que pôde ser percebido bruscamente em vácuo. Este efeito de descompactação estrutural em solução deixa de existir, pois consideramos todos os termos de potenciais relativos a “m” moléculas de H<sub>2</sub>O ( $m \rightarrow \infty$ ), formando interações que impedem este processos.



**Figura 14:** Formas inicialmente modeladas e obtidas ao longo do tempo de DM. Observa-se que a isoforma X possui mais linearidade em termos de estrutura frente a rampa de aquecimento, em comparação a forma Y.



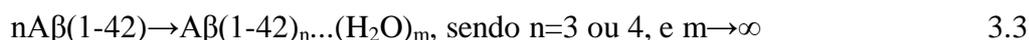
**Figura 15:** Exemplificação do texto descritivo sobre a possibilidade do impedimento de aumento de águas de solvatação em torno do agregado de peptídeo da forma  $A\beta(1-42)_2$ . a) Conformação em X sendo modificada após a 12000 ps. b) Conformação em Y, também sendo modificada ao longo do tempo estabelecido. c) Efeito de impedimento conformacional causado em  $A\beta(1-42)_2$  devido as moléculas de  $H_2O$  tratadas explicitamente para solvatar o agregado proposto. Nota-se que a função do solvente é de fundamental importância para a permanência do aduto, com valores de n pequeno.

A título de ilustração de como aconteceria este processo de reconhecimento molecular entre os peptídeos, foi ilustrado na Figura 15 a forma de recolhimento entre estas sequências de duas unidades em vácuo e solução. Devido ao perfil estrutural resultante, conforme observado também em três unidades de A $\beta$  (Figura 16), é coerente relacionar que a razão entre o número de peptídeo alocados (soluto) em certo número de moléculas de água (solvente), para este tipo de processo, será determinante para a estabilização do sistema final.

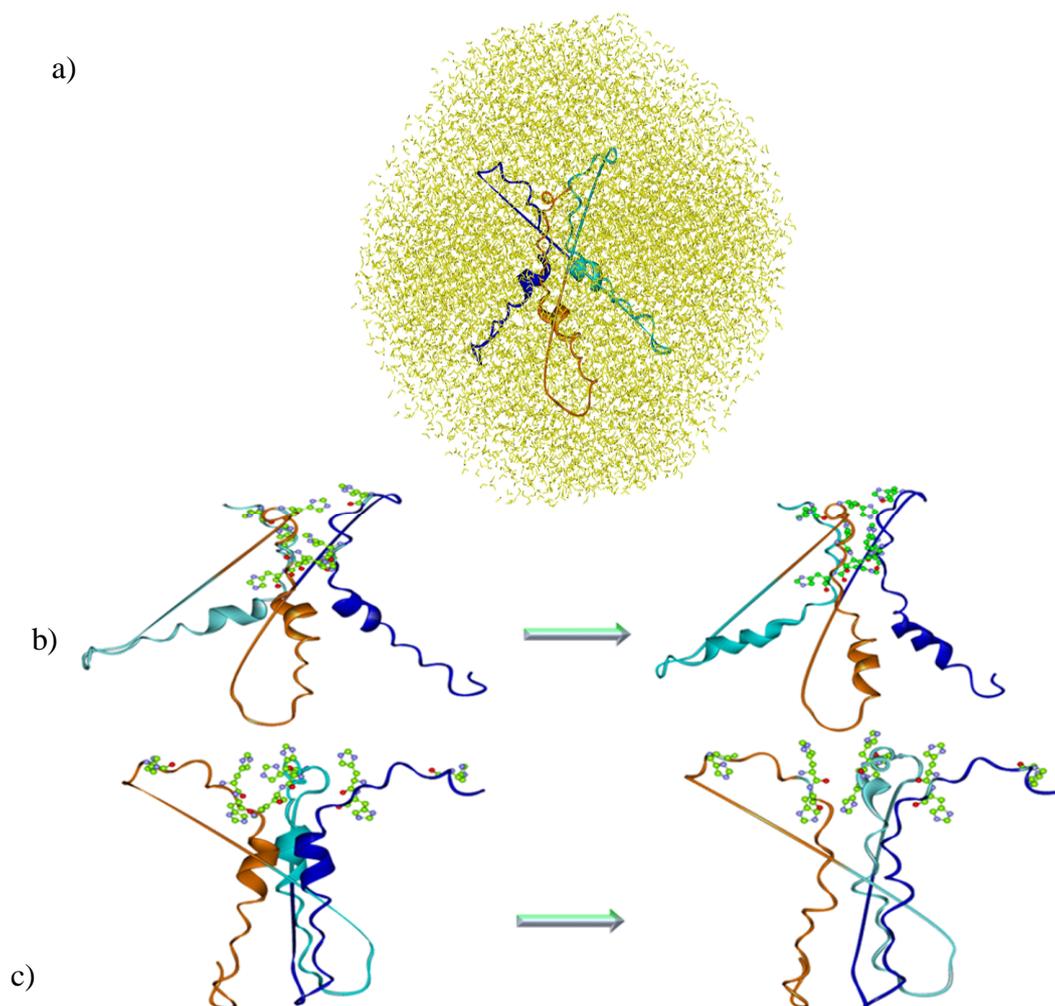
Podemos então propor a equação do processo de reconhecimento em um meio altamente diluído conforme se faz na Equação 3.1 e para as mudanças topológicas ocasionadas no vácuo, na Equação 3.2. Nota-se que devido as interações realizadas unicamente entre as unidades de soluto, em vácuo, acarretarão em mudanças perturbativas em relação às estruturas iniciais. Logo, conforme se trata a equação 3.2, terá o símbolo “\*”, se houver bruscas mudanças nas cadeias:



Devido à tamanha complexidade e variedade de resultados, um fator determinante para analisar esta gama de estruturas, foi à percepção de fortes ligações de hidrogênio em torno de uma região central das espécies, corroborando para um bom empacotamento local. Este fato se torna já muito expressivo a partir de três unidades peptídicas nas simulações realizadas em vácuo. Em solução, devido ao impedimento de alteração conformacional na topologia do aglomerado, esta região de forte ligação intermolecular já é conclusiva para duas unidades. De acordo com a Figura 16, percebemos como ocorreram os esquemas de encaixe de três porções peptídicas em solução, sendo este resultado análogo aos dados em vácuo. Novamente, podemos propor a reação de reconhecimento da forma:



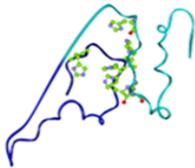
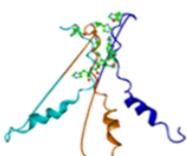
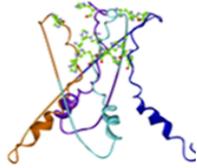
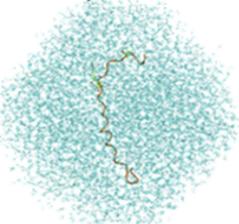
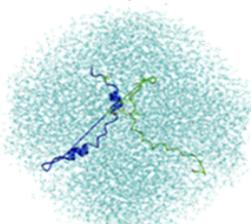
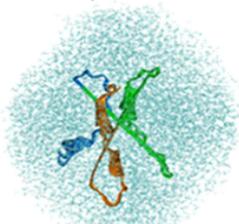
Por não haver nada relacionado a esta forma de padrão de reconhecimento no tipo de empacotamento estrutural na literatura, entre estas estruturas de A $\beta$  em solução explícita, a presente região foi denominada de “Laço Amilóide” (Figura 17), conclusão esta que será detalhada na próxima seção.



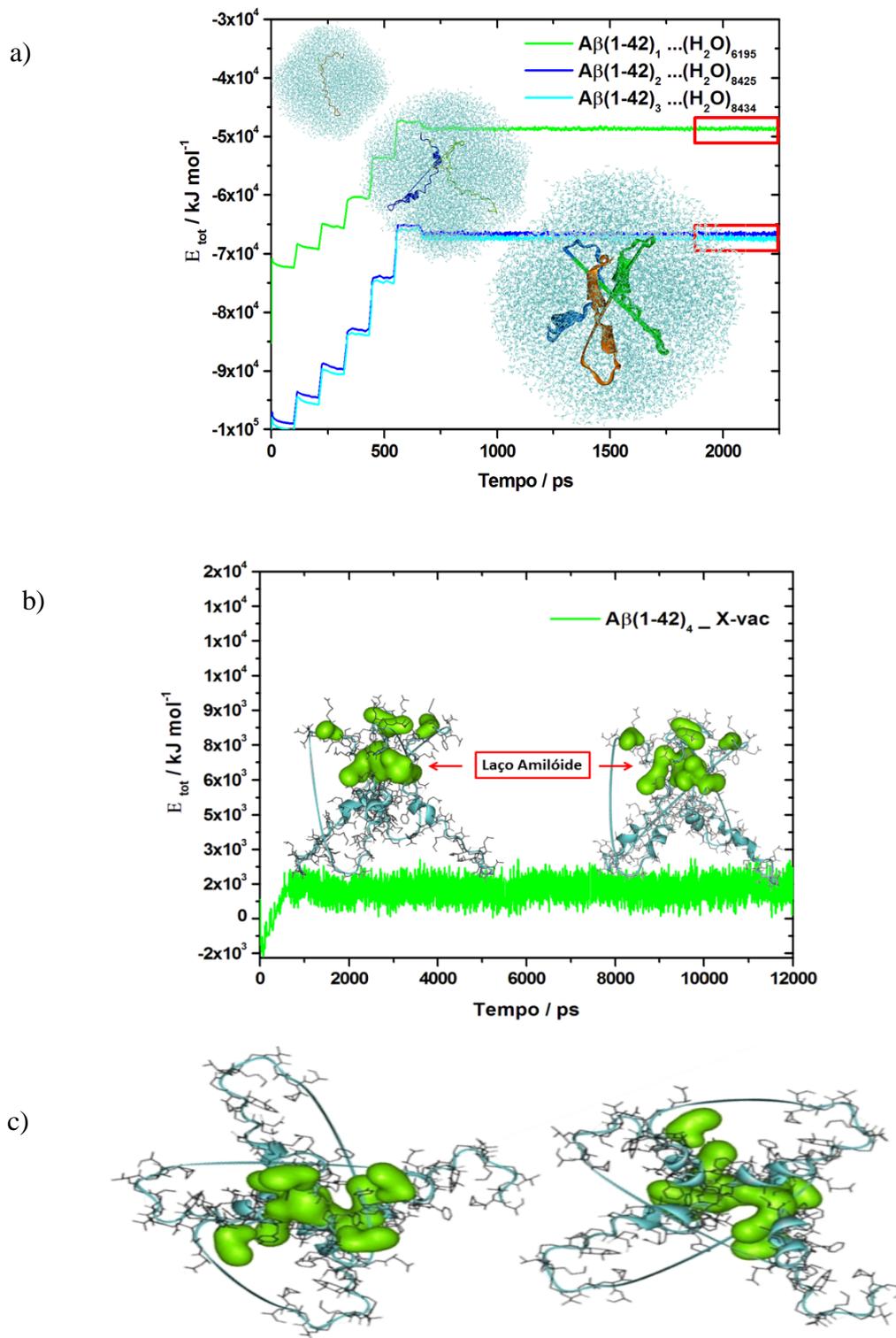
**Figura 16:** Esquema de exemplificação para a formação de um agregado do tipo  $A\beta(1-42)_3$ . a) Demonstração do aduto  $A\beta(1-42)_3\_X$  com todas águas explícitas. b) Mesma estrutura em X, demonstrando o efeito de estabilização por toda rota de aquecimento e produção. c) Isoforma em Y, estabilizada ao longo do tempo.

A partir destes estudos, foi possível agrupar estes *clusters* resultantes conforme suas disposições de conformações finais assumidas. Na Tabela IV, podemos perceber que os cálculos realizados em solvente explícito, utilizando-se o campo de força AMBER são muito custosos, permitindo suportar uma condição exponencial caso haja a necessidade de ampliação do modelo.

**Tabela IV:** Resultados estruturais obtidos após a DM para as configurações em X, mantendo-se fixa a mesma capacidade de processamento (mesma máquina, 16Gb de memória RAM e 8 processadores).

Sistemas	$A\beta(1-42)_1$	$A\beta(1-42)_2$	$A\beta(1-42)_3$	$A\beta(1-42)_4$
<i>Estágio 13</i>	12,0ns	12,0ns	12,0ns	12,0ns
<i>Simulação em vácuo</i>				
<i>Tempo de cálculo</i>	1,0 semana	1,5 semanas	2,0 semanas	2,5 semanas
<i>Estágio 13</i>	12,0ns	12,0ns	7,5ns	
<i>Simulação em Solução (<math>H_2O</math>)<sub>n</sub></i>				
	m=6195	m=8425	m=8434	
<i>Tempo de Cálculo</i>	1,0 mês	2,5 meses	6,5 meses	

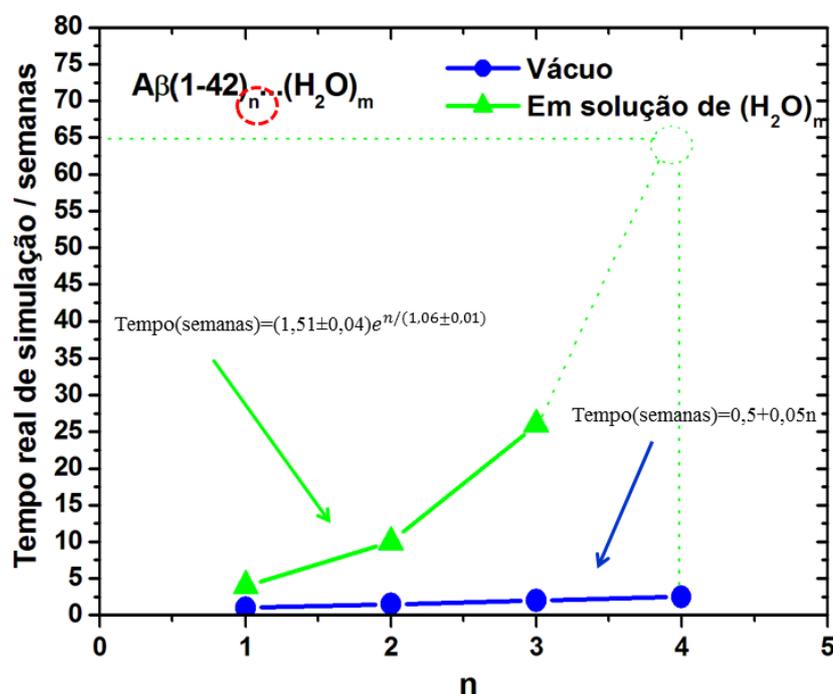
\*Experimento não realizado pelo comportamento preditivo temporal já ser absurdamente grande quando comparado com o tempo de cálculo de um sistema hidratado com 2 peptídeos. Contudo, devido à concordância energética e estrutural dos sistemas já obtidos, não houve necessidade de simulação até o presente momento de um tetra agregado peptídico em solução.



**Figura 17:** a) Perfil energético da energia total dos adutos do tipo  $A\beta(1-42)_n$  ( $n=1, 2$  e  $3$ ). Demonstra-se que após 1500 ps, ocorre a permanência constante da energia até 12000 ps. b) Perfil estrutural do agregado possuindo quatro unidades protéicas ao longo de 12 ns. É destacada a porção de estabilização, via ligações de hidrogênio entre os resíduos de His-6, 13 e 14 (verde). c) Revolução de  $90^\circ$  do agregado demonstrado em “b” visto por cima e por baixo, respectivamente.

Podemos supor então, o tempo computacional da DM em solução, gasto para simular as estruturas conforme a Figura 18. É notado que com três unidades peptídicas ( $n=3$ ), o cálculo se torna absurdamente caro até 7,5 ns (6,5 meses) quando comparado com  $n=1$  (1 mês). Em benefício à propostas futuras, estas constatações poderão auxiliar na predição de novas propriedades estruturais (Tabela IV) em termos de custo computacional, pois já obtivemos um agregado relativamente estável com  $n=3$ .

Na etapa posterior, seção 3.2.2, é proposto um modelo de adutos de contato, baseando-se em prévios conceitos de dimensionalidade espacial. Em sucessão a esta exploração, serão apresentados constatações de supostos macro-agregados formados via estas considerações, de forma a ter um modelo matemático de previsão, dado pelo número de estruturas que foram favoráveis até o término da DM, ou seja, não se desfizeram. Com isso, através desta exploração, foi interessante notar que agregados maiores, são estáveis tanto em vácuo quanto em solução, portanto, podem eventualmente serem estudados sem a inclusão do solvente.

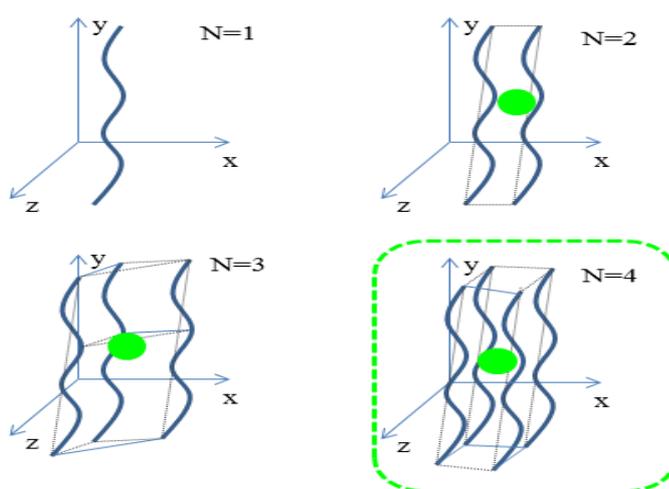


**Figura 18:** Estimativa do tempo gasto para simulação de 4 unidades de peptídeos em meio de solvente explícito. Para a simulação em vácuo, ocorre uma relação linear de acordo com o número de unidades, contudo, em solução esta relação se torna exponencial.

### 3.2.2 Predição de adutos de contato: “Laço Amilóide”

Foi possível perceber que as estruturas finais sempre continham um número padrão  $N$  que ditava sua conformação de agregação final, em solução. Em consequência deste fato, foi possível elaborar um modelo no qual mostra a forma de contato entre os peptídeos, apenas com o prévio conhecimento do número de soluto considerado.

Este modelo foi denominado de “Modelo N-Dimensional Amilóide”, onde o valor de  $N$  representa o número de dimensões do “espaço de agregação” do reconhecimento inter-molecular. Para melhor exemplificar esta descrição, adotemos o conceito de dimensionalidade de um sistema em termos da escala 3D. Um dos tópicos básicos na geometria espacial é a adoção de elementos base para definição de dimensionalidade. Como exemplo, temos que um ponto é adimensional, por definição. Já uma reta, possui apenas uma dimensão e seguindo este raciocínio, um plano pode ser definido a partir de 2 retas, e assim por diante. Se  $N$  é o número de “retas” (peptídeos) propostas por contato inicial, para  $N=1$ , a estrutura final se alinhará em forma de reta, para  $N=2$  a estrutura relaxa em forma de plano, para  $N=3$ , há existência de um prisma bem definido, e para  $N=4$  também uma boa definição para um *pseudo*-cubo. Estas constatações tem como base os resíduos de His situados nas posições 6 e 14 na fita peptídica. A Figura 20 trás os valores de  $N$ , e os esquemas de auto-montagem.

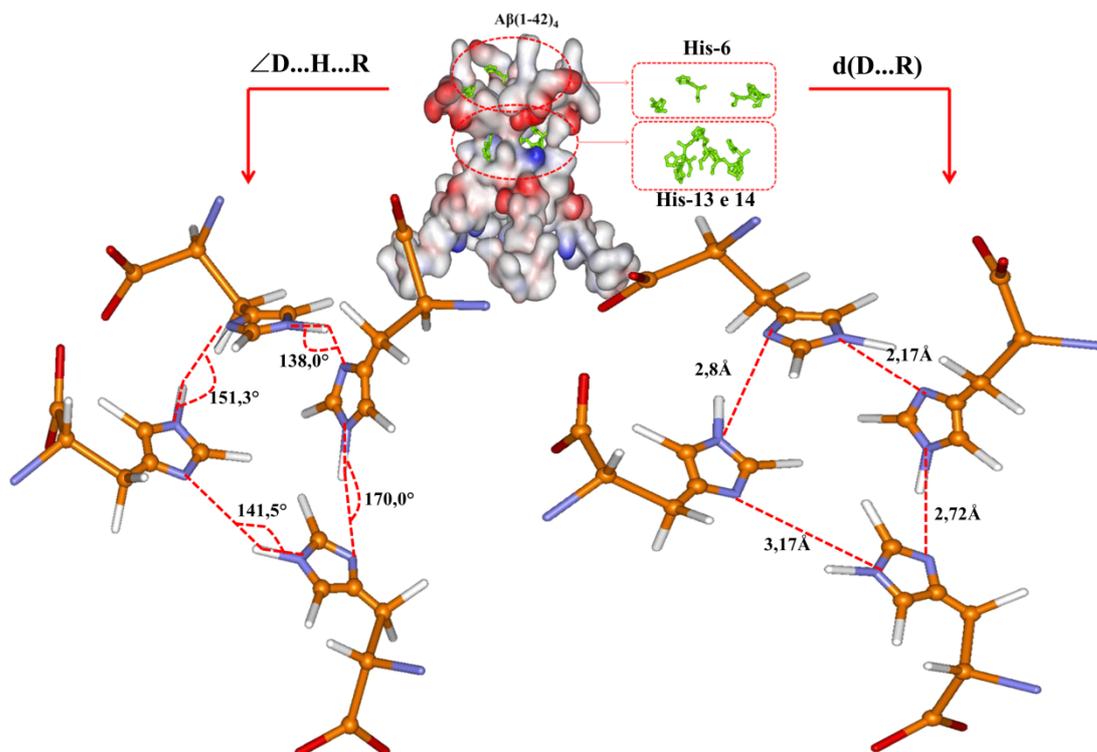


**Figura 19:** Sequenciamento peptídico dado pelo valor de  $N$ , construindo o modelo do “Laço Amilóide” (círculo verde).

O Laço Amilóide foi uma região bem característica e peculiar entre todas as estruturas para certo valor limite de  $N$  de peptídeos, portanto, estipulou-se por defini-la de  $2 \leq N \leq 4$ , para meio aquoso, e em vácuo, para  $N \geq 3$ .

Podemos chegar a uma conclusão definitiva em relação aos processos de contatos envolvidos: “Para conseguir desagregação dos peptídeos, é fundamental inativação dos sítios His-13, pois estes resíduos se encontram mais internos aos agregados”. Este fato é realmente bem oportuno, uma vez que concorda com dados experimentais e também do ponto de vista estratégico, as histidinas e metioninas formam no total quatro regiões específicas de coordenação para cada unidade de peptídeo (3 His com 1 Met), ou seja, na proporção de  $\frac{3}{4}$  de His para  $\frac{1}{4}$  de Met, desta forma, iniciar-se pelo estudo das interações com os resíduos de histidinas é bem razoável, devido a sua maioria da estrutura fundamental do problema químico.

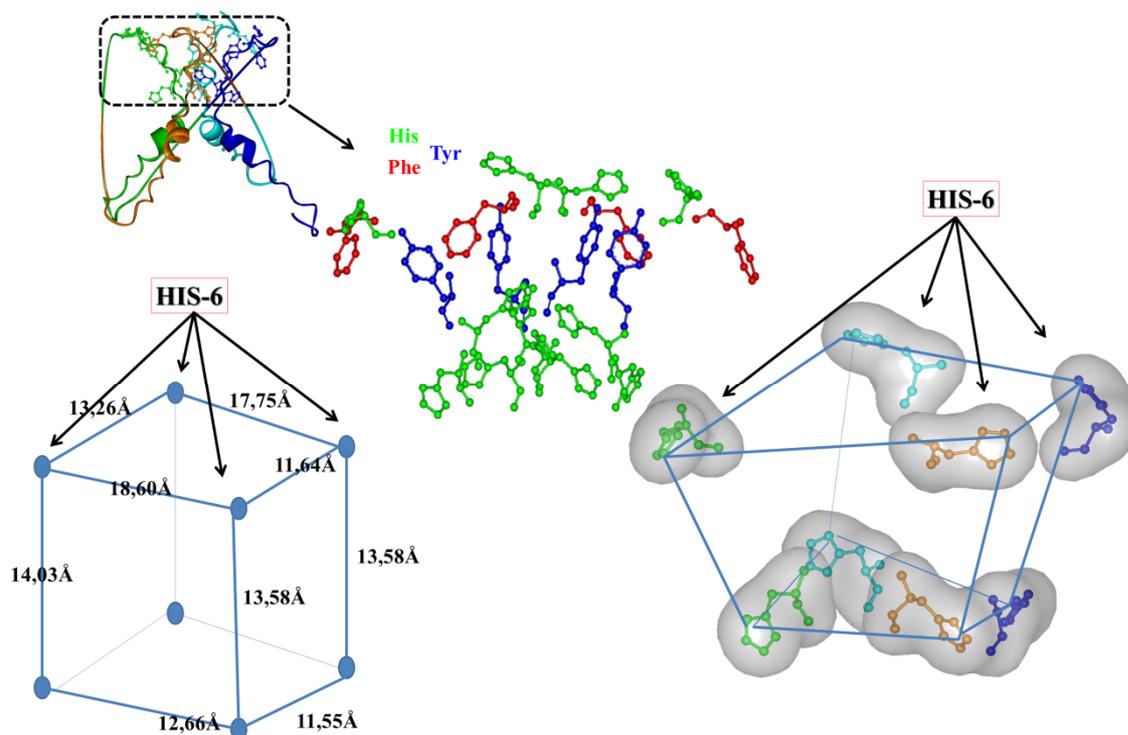
Já se sabe experimentalmente da ocorrência da instabilidade de aglomerados pela coordenação metálica da classe de complexos mostrados pela Tabela I com os peptídeos, contudo agora é explicado que a região responsável pela otimização de contato entre as estruturas é o “Laço Amilóide”, existindo a proposição de um modelo matemático para o ajuste do espaço N-Dimensional de agregação. Logo, elaborar a forma de recepção de drogas em primeira instância seria pela coordenação com resíduos de His. É afirmativo também que devido esta alta região de contato entre estas supra estruturas, o sítio é mantido rígido em larga escala, possuindo parâmetros de ligações de hidrogênio consideradas de caráter moderado à forte, isso pode ser visualizado na Figura 20.



**Figura 20:** Caracterização do “Laço Amilóide” pelos resíduos de His-13, nos agregados de  $n=4$ . À esquerda os ângulos entre doador D de prótons, hidrogênio H e receptor R, a direita as distâncias entre D e R.

Embasando-se nestas formas ditadas pelo modelo, pôde-se estimar como podemos iniciar a DM, com o protocolo já descrito, tal que ocorra a estabilização das sequências de AA. Um sistema teórico se torna um tanto quanto real uma vez que a amostra teórica convirja para as dimensões do experimento, com isso, constatamos que para ter uma boa aproximação é necessário se ter de fato um aduto com a faixa de diâmetro em escala nanométrica, sustentando esta especulação a proposta  $A\beta(1-42)_N$  ( $3 \leq N \leq 4$ ). Para  $N=4$ , o aglomerado exibiu uma particularidade de se formar bem simetricamente em torno de um centro de inversão dado pela estrutura em 3D de um cubo parcialmente bem definido, de aresta em torno de  $10 \text{ \AA}$ , pelos resíduos de His-6 e His-14. Notamos que, novamente, o sítio de His-13 encontra-se impedido estericamente sendo responsável por ligações de hidrogênio internas conforme visto na Figura 20. Portanto, em primeira instância, os principais sítios propícios para coordenação metálica seriam os de His-6, na porção hidrofílica e His-14, na parte hidrofóbica. Estas considerações são vistas na Figura 21.

Notamos, através da Figura 21 que os resíduos de AA adjacentes às His, tais como Tyr-10 e Phe-4, poderiam de fato conforme proposto, servirem de mediadores hidrofóbicos, uma vez que permaneceram rígidos durante o experimento conforme ilustrado. Devido a não existência de um modelo em fase sólida, teve-se a necessidade de estruturar este potencial receptor. Como notado, há exposição preferencial das His-6 e 14 e com isso, foi optado para foco de análise em um primeiro momento, que a ocorrência do ataque de Pt(II) se daria preferencialmente em um destes dois AA. Como a região do sítio de His-6 é predominantemente hidrofílica e mais simples do ponto de vista de interferências de AA vizinhos, conforme observado pela simulação, optou-se por adoção de um modelo focado nesta porção, não dispensando em um segundo momento, realizar esforços em um futuro trabalho para estudar os ataques nos resíduos de His-13 e 14, alocando estes complexos nesta região hidrofóbica. Na seção 3.3, adotaremos a estratégia de estudo reacional com todos os complexos de Pt(II), destacados na Tabela I, relacionando características em termos de estrutura e respectivas energias envolvidas em cada processo.



**Figura 21:** Modelo de contato para  $n=4$ , sendo destacado o sítio de His-6, para “mimetização quântica” adotada na seção 3.3. Este termo irá fazer menção para a tentativa de se observar um comportamento proporcional entre aumento de estruturas, vindo de uma porção micro, até uma macro.

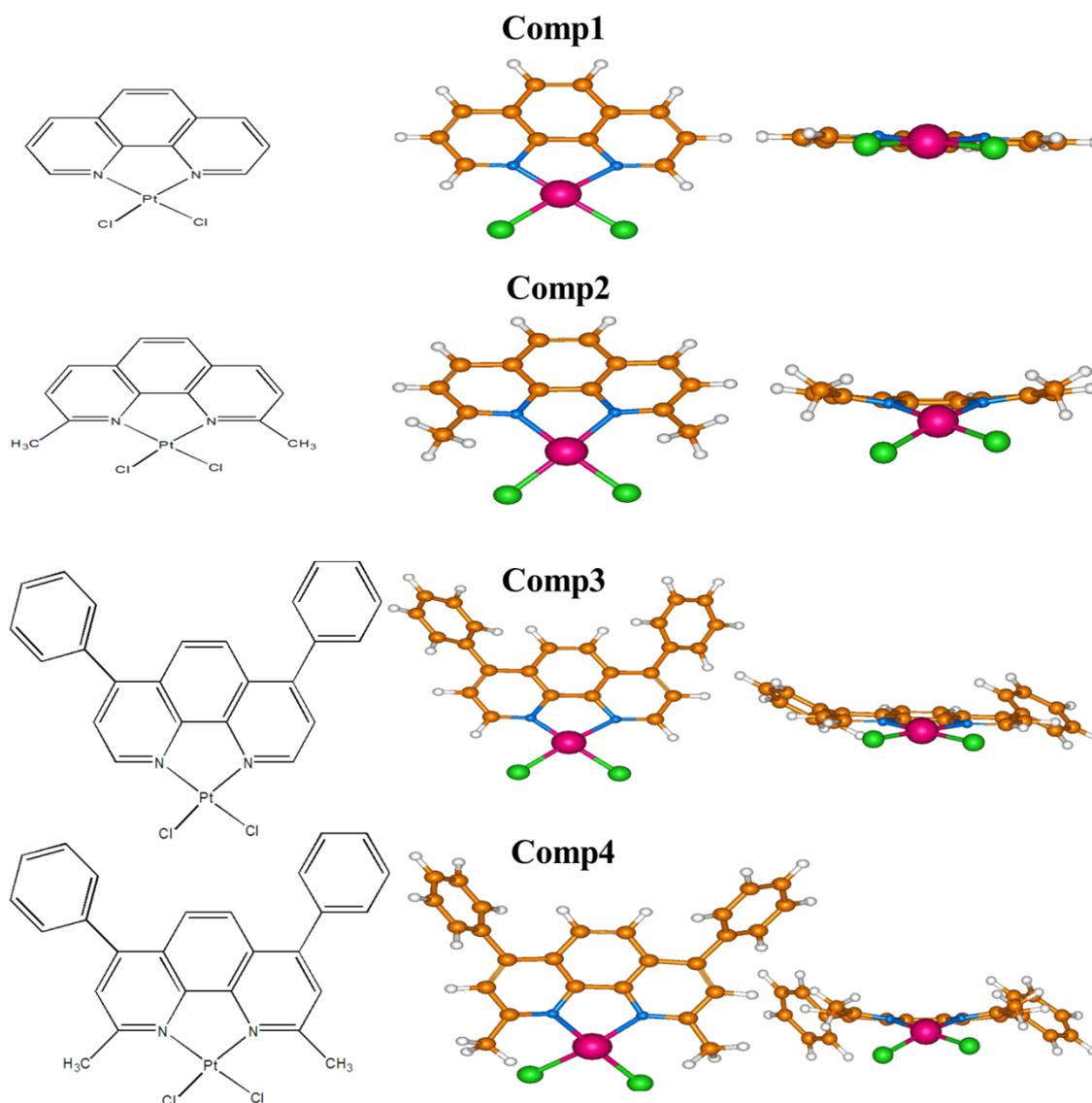
Barnham reporta que ocorre uma significativa coordenação de Pt(II) por parte dos resíduos de His nos aglomerados construídos em seus experimentos. Um forte indício de validação da metodologia é o fato de estes resíduos estarem ao longo da DM rígidos nos vértices dos modelos propostos, assim haveria um melhor ataque por parte dos complexos metálicos (BARNHAM, KENCHE *et al.*, 2008).

### 3.3 ESTRATÉGIA DE MIMETIZAÇÃO ESTRUTURAL: MODELOS MICRO, INTERMEDIÁRIO E *PSEUDO*-REAL

Retomando as estruturas ilustradas pela Tabela I, na Figura 22, podemos observar que são complexos de estrutura quadrático plana com diferenciação de acordo com os radicais fenil ou metil indexados nas posições R2 ou R1, respectivamente (ver Figura 23). Todos possuem como base o ligante ortofenantrolina, sendo então um esqueleto estrutural basicamente aromático de análogos bem característicos.

Predominantemente, é conhecido que complexos de platina(II) possuem sua ativação devido a hidrólise no ataque de moléculas de água, para posterior coordenação com as bases nucleotídicas, sendo este um mecanismo associativo. Contudo, nosso foco será estrategicamente apontar um norte direto de reação com o sítio de His-6, fato este já explicado anteriormente de tal forma a entender como acontece esta primeira troca de ligante, uma vez que se aproveita da capacidade neurotóxica por parte deste metal e da capacidade hidrofóbica desta classe de ligantes para ter um suposto bom transporte através da barreira hematoencefálica.

Logo, de imediato, iremos considerar que estes compostos chegam devidamente atacando o sítio proposto para estudo, segundo a Figura 22, não ocorrendo hidrólise, na qual é uma forma plausível de pensar em termos de transporte pela barreira hematoencefálica.



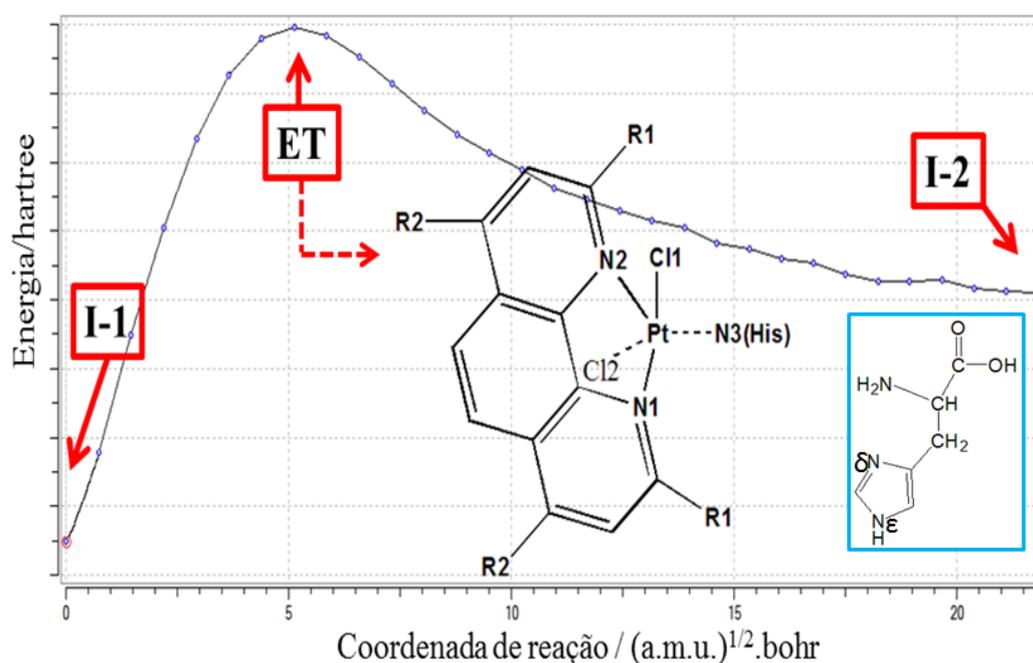
**Figura 22:** Estruturas em 3D otimizadas ao nível B3LYP/6-31G(d)/LANL2DZ para os complexos Comp1, Comp2, Comp3 e Comp4, nomeados de 1,10-fenantrolinadicloro-platina(II), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolinadicloroplatina(II), 4,7-difenil-1,10-fenantrolinadi-cloroplatina(II)e2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolinadi-cloroplatina(II), respectivamente.

Devido à alta complexidade do problema, adotou-se a estratégia de modelar o sistema, com acordo de convergência nos resultados, e assim poderíamos estabelecer um padrão comportamental. Com isso, foram elaboradas três formas de modelos: o Micro, o Intermediário e o *pseudo*-Real, conforme já descrito anteriormente.

Conclusões significativas foram retiradas em termos de forma da molécula em estudo, pois a estrutura obtida pelos complexos ao final da etapa de otimização se

mostrou ser levemente diferenciada, conseqüentemente já era de se supor tanto uma barreira de ativação um tanto variada e também a estabilidade alterada em termos de energia livre de Gibbs de estabilização para o ataque do resíduo de His.

O padrão de cálculos de IRC foi a utilização de 31 pontos e para se garantir que o ultimo ponto estava de fato em um mínimo local, foram realizados cálculos de otimização de geometria e frequências harmônicas para os intermediários, para retirar os respectivos  $\Delta G_s$ .



**Figura 23:** IRC calculado ao nível B3LYP/6-31G(d)/LANL2DZ para o complexo Comp1 ( $R_1=R_2=H$ ) coordenando-se via  $N\epsilon$ , onde  $N_3$  poderá ser para cada caso  $N\epsilon$  ou  $N\delta$ .

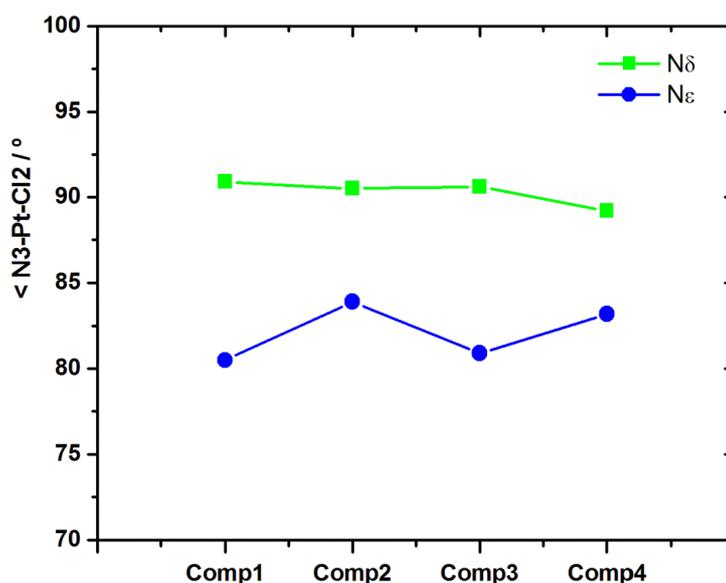
Nas Tabelas V e VI a seguir, estão dispostos os parâmetros estruturais para os 4 complexos estudados nas coordenações em  $\delta$  e  $\epsilon$ , respectivamente (**ver Figura 23**). Será necessária a utilização da Figura 23 para análise das tabelas mencionadas a seguir, bem como em outros dados estruturais a título de legenda de distâncias e ângulos de ligações na esfera de coordenação metálica. Os valores da variável  $\tau_i$  se referem à geometria assumida tanto pelo estado de transição quanto os respectivos intermediários I-1 (reagentes) e I-2 (produtos), para os intermediários o valor de  $\tau$  será calculado conforme Yang e colaboradores (YANG, POWELL *et al.*, 2007), ou seja, geometria de

número de coordenação (NC) igual a 4 (equação 3.4). Caso NC=5, o cálculo é feito conforme é proposto por Addison e colaboradores (ADDISON, RAO *et al.*, 1984) (equação 3.5). Em ambas as equações, por definição,  $\alpha$  e  $\beta$  serão os dois maiores ângulos da esfera metálica e sempre  $\beta > \alpha$ , conforme se segue:

$$\tau_4 = \frac{360 - (\alpha + \beta)}{141^\circ} \quad 3.4$$

$$\tau_5 = \frac{(\beta - \alpha)}{60^\circ} \quad 3.5$$

No caso, teve-se a intenção de avaliar se o mecanismo é de fato de caráter  $S_{N2}$  causado pelo ataque da histidina diretamente nos complexos. Com isso, através da Figura 24 foi possível perceber, com o auxílio da Figura 23, que este ataque possui um certo comportamento associativo com troca de ligantes. Um possível argumento pode ser considerado devido aos ângulos  $\angle N3-Pt-Cl2$ , que seria o ângulo de aproximação do ligante na esfera metálica para coordenação, todos possuem valores entre 85 e 90° para o estado de transição, indicando uma entrada bem perpendicular ao plano do complexo.



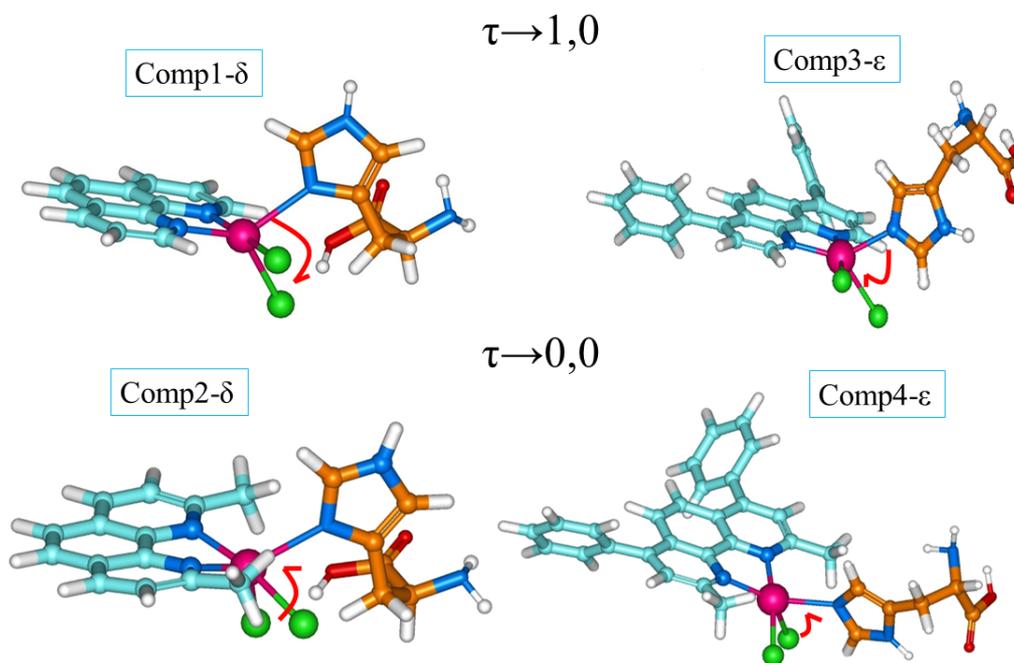
**Figura 24:** Ângulos de ataque entre os nitrogênios da histidina e os complexos estudados.





Conforme pode ser visualizado pelas Tabelas V e VI, ocorre o desligamento de Cl2 no processo  $I-1 \rightarrow ET \rightarrow I-2$ , pelo consecutivo aumento da distância PtCl2 evidenciando o ataque direto da His, tanto em  $N\epsilon$  quanto por  $N\delta$ , implicando assim na redução da distância PtN3, ao longo do caminho reacional. Após a etapa de caracterização estrutural ao longo do caminho reacional, conforme se trata na ilustração da Figura 23, através dos estados de transição obtidos para todos complexos (Figura 25) foram obtidos os intermediários e conseqüentemente, as contribuições do ciclo termodinâmico. Assim sendo, na Tabela VII e VIII são demonstrados os valores de  $\Delta G_R$  e  $\Delta G_{at}$  para estas formas de ataque do resíduo de His.

Podemos perceber pela Tabela VII e VIII, exemplificado nas estruturas da Figura 25, que ocorrem efeitos de impedimentos estéricos proporcionados de duas formas: por parte do nucleófilo (His) devido à coordenação em  $N\delta$  e devido ao complexo quando R1 é o radical metil. Em outras palavras, o estado de transição ET sofre um decréscimo em seu valor de  $\tau$  para estes casos, ocasionando uma estrutura mais ajustada em pirâmide de base quadrada quando comparada com as coordenações em  $N\epsilon$ , aumentando ainda mais este efeito quando  $R1=H$ .



**Figura 25:** Esquema de ataque da His no centro metálico, para deslocamento do cloro. Estados de transição curiosamente padronizados por impedimento estérico devido a coordenação em  $N\delta$  e  $R1=CH_3$ .

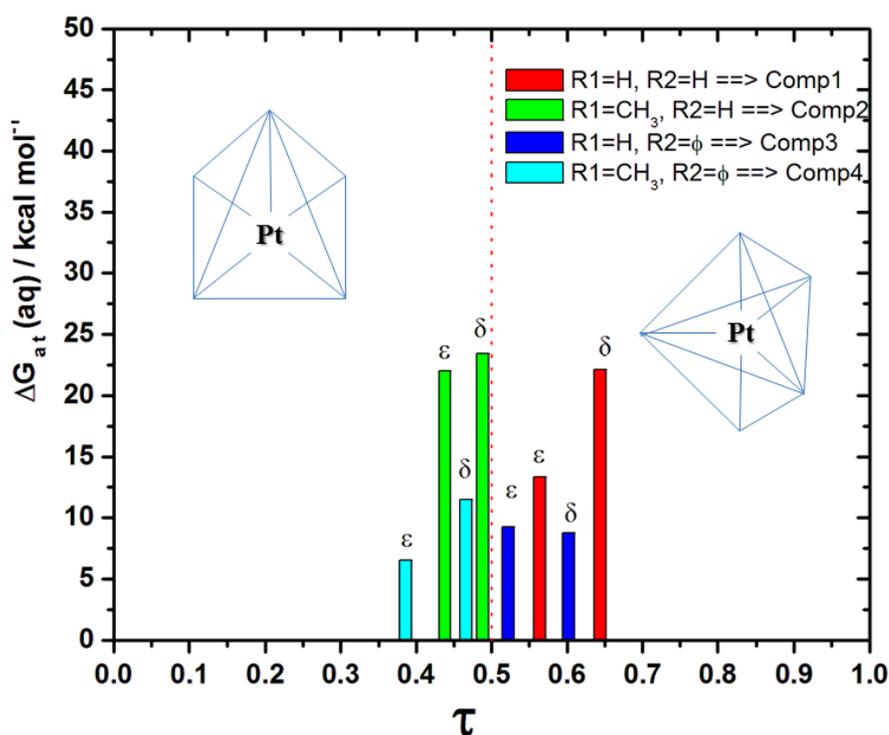
**Tabela VII:** Energias livre de barreira para ativação da reação descrita pela equação 3.4 para a coordenação em N $\delta$ , bem como os valores de energia livre estabilização da reação. Todos os valores estão em kcal mol<sup>-1</sup>.

	Comp1				Comp2			
	$\Delta G_{at}(g)$	$\Delta G_{at}(aq)$	$\Delta G_R(g)$	$\Delta G_R(aq)$	$\Delta G_{at}(g)$	$\Delta G_{at}(aq)$	$\Delta G_R(g)$	$\Delta G_R(aq)$
B3LYP/6-31G(d)	20,92	17,89	-0,10	-8,15	19,20	19,06	-0,61	-5,90
B3LYP/6-311+(2d,p)//	22,98	20,60	0,01	-7,18	21,11	21,20	0,44	-5,27
B97-2/6-31G(d)//	22,23	20,16	0,83	-4,95	21,17	21,64	0,82	-3,55
B97-2/6-311+G(2d,p)//	24,39	22,14	1,17	-4,49	22,97	23,39	1,82	-3,01
	Comp3				Comp4			
B3LYP/6-31G(d)	22,17	18,17	-1,00	-7,26	19,89	19,69	-0,64	4,63
B3LYP/6-311+(2d,p)//	23,49	21,54	-0,88	-4,46	21,79	21,99	0,34	-5,41
B97-2/6-31G(d)//	23,33	20,79	-0,22	-3,60	21,80	22,20	0,75	-3,91
B97-2/6-311+G(2d,p)//	24,71	<b>8,76</b>	0,06	-3,35	23,58	<b>11,51</b>	1,64	-3,36

**Tabela VIII:** Energias livre de barreira para ativação da reação descrita pela equação 3.4 para a coordenação em N $\epsilon$ , bem como os valores de energia livre estabilização da reação. Todos os valores estão em kcal mol<sup>-1</sup>.

	Comp1				Comp2			
	$\Delta G_{at}(g)$	$\Delta G_{at}(aq)$	$\Delta G_R(g)$	$\Delta G_R(aq)$	$\Delta G_{at}(g)$	$\Delta G_{at}(aq)$	$\Delta G_R(g)$	$\Delta G_R(aq)$
B3LYP/6-31G(d)	34,62	14,87	-3,53	-4,05	21,22	10,91	-3,67	-3,18
B3LYP/6-311+(2d,p)//	33,72	24,03	-3,21	-2,01	22,87	21,37	-3,95	-0,75
B97-2/6-31G(d)//	35,27	27,59	-1,80	-2,22	22,62	20,41	-1,99	-1,44
B97-2/6-311+G(2d,p)//	34,65	13,37	-1,74	-1,88	24,26	22,01	-2,50	-1,59
	Comp3				Comp4			
B3LYP/6-31G(d)	23,82	9,61	-3,61	-2,61	24,95	6,91	-0,95	-6,24
B3LYP/6-311+(2d,p)//	25,18	21,93	-3,26	-1,22	25,29	14,91	-2,37	-6,84
B97-2/6-31G(d)//	24,61	20,44	-1,85	-1,39	26,21	17,43	0,69	-4,72
B97-2/6-311+G(2d,p)//	26,13	<b>9,28</b>	-1,80	-1,10	27,08	<b>6,55</b>	-0,53	-5,59

Visto que não ocorre significativa influência do nível de teoria na barreira de ativação, testando-se o aumento de base dos ligantes para verificar este fator foi possível perceber que há uma maior sensibilidade na barreira quando aumentamos a base de uma duplo-zeta para uma triplozeta com o funcional B97-2. Ou seja, o sistema se mostra mais sensível e susceptível a mudanças ínfimas energéticas quando utilizamos uma melhor base em um funcional mais descritivo, sendo este fato perfeitamente visto quando comparamos os resultados no nível de teoria em B3LYP, dados nas Tabelas VII e VIII, para os complexos Comp3 e Comp4. Este efeito de melhor descrição teórica se encontra bem consolidado conforme Wilson e colaboradores (WILSON, BRADLEY *et al.*, 2001), portanto, este foi o nível adotado como padrão de correção energética analisada. Logo, como padrão sequencial para os cálculos posteriores, será adotado o nível de otimização de geometria B3LYP/6-31G(d) corrigindo termicamente através de cálculos de ponto por B97-2/6-311+G(2d,p).



**Figura 26:** Padrão de barreira em meio aquoso ( $\epsilon=78,39$ ) obtido ao nível B97-2/6-311+G(2d,p)//LANL2DZ para todas as formas possíveis de coordenação. Observa-se um ajuste de geometria para os estados de transições devido ao grupo R1=H ou CH<sub>3</sub> e ocorrerá influência no decréscimo da barreira por parte do grupo R2=φ.

Devido à padronização de estrutura obtida pelos intermediários reacionais e pelos estados de transição, foi possível ampliar a elaboração das propostas, tornando mais robusto à utilização da mimetização de estrutura a partir do Micro modelo. Assim sendo, não foram realizados os cálculos de IRC para os modelos Intermediários e *pseudo-Real*, contudo partindo-se do Micro, foram realizadas as otimizações de geometria e cálculos de frequências harmônicas para estas novas propostas de adutos formados.

Antes de recorrer às etapas adiantes, é necessário que se faça aqui o primeiro sinal de estrutura/reactividade dos compostos através da elucidação dos ETs conforme a Figura 26. Podemos perceber que os valores de  $\tau$  tendem muito mais para maiores valores quando coordenados em  $N\delta$  do que quando coordenados em  $N\epsilon$ , este fato se acentua duas vezes mais quando ocorre a troca de  $R1=H$  por  $R1=CH_3$  em termos de estrutura do ET. Concomitantemente, percebemos claramente nesta imagem que as estruturas com  $R2=\phi$  (fenil) possuem o valor da barreira decrescido de aproximadamente  $10 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Ou seja, é possível controlar a coordenação via ancoramento dos ET sem termos de valores de  $\tau$ , e através desta relação, podemos perceber que o radical em  $R2$ , sendo fenil, desempenha um papel fundamental na reatividade da potencial droga. Para efeito de comparação futura, adotou-se a classe a direita da Figura 26 (Comp1 e Comp3) e montamos os modelos mimetizados, de tal forma a não mexer nas estruturas finais em torno da esfera de coordenação, reotimizando o sistema a partir deste ponto. Esta escolha foi embasada na estrutura/reactividade destas moléculas, considerando a entrada aperfeiçoada da platina por parte de Comp1 por ser menor em volume molecular, indo de detrimento a Comp3, sendo este mais reativo, contudo, mais volumoso e portador de um grupo mediador hidrofóbico no anel fenantrolínico. Logicamente, foram levadas em consideração as moléculas que se mostraram mais favoráveis e estáveis ao nível selecionado para análise, exibindo também um valor de saldo energético reacional  $\Delta G_R$  negativo. A próxima etapa será descrever como ocorrem as interações supramoleculares em torno da esfera de coordenação de tal forma que acarretariam em maior estabilidade/reactividade, ou não, diferenciada por parte do Micro modelo adotada.

Diante destes resultados, houve a necessidade de saber como ocorrem os processos reacionais quando se amplia o modelo químico. Foi elaborado então, conforme já descrito anteriormente, mais dois modelos para testar esta influência. Na

seção posterior será abordado este ponto bem detalhado em termos de estrutura, reatividade e estabilidade. Logo, neste próximo tópico serão apontadas as elaborações das equações químicas descritas para os processos com os complexos Comp1 e Comp3 juntamente com 10 e 42 resíduos de AA.

### 3.4 ANÁLISE TERMODINÂMICA E CINÉTICA DA INTERAÇÃO ENTRE OS ADUTOS BIOMIMÉTICOS DO TIPO A $\beta$ ...COMP

Iremos prever a reação de interação dos adutos mimetizados conforme a equação 3.6. No entanto, agora lançamos mão de apenas adotar os complexos Comp1 e Comp3 considerando vários fatores, dentre eles podemos destacar:

-Cálculos custosos, pois os complexos portadores de R1=CH<sub>3</sub> possuem uma pior convergência energética comparada a R1=H, devido ao radical metil realizar uma forte repulsão entre os cloros adjacentes;

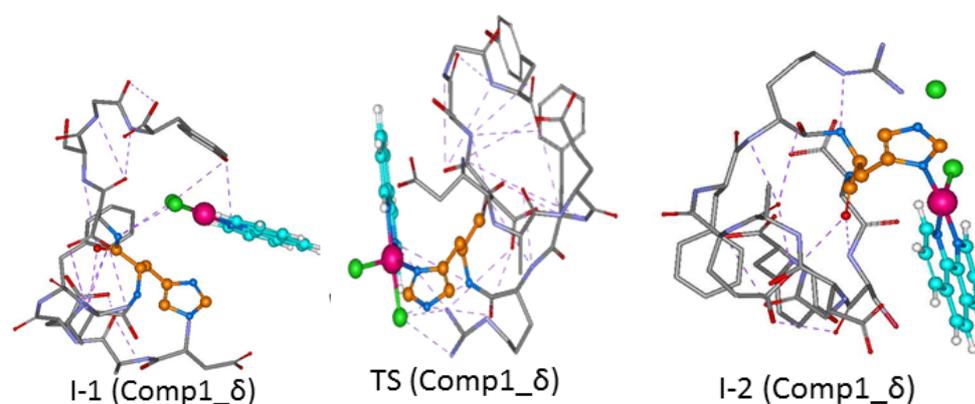
-O perfil de comportamento de Comp2 e Comp4 é semelhante à Comp1 e Comp3 em termos de estrutura, energia de ativação e estabilização, (ver Tabela VII e VIII);

-Os ligantes o-fenantrolina (ligante Comp1) e batofenantrolina (ligante Comp3), são de mais fácil acesso e conhecimento, devido a trabalhos já realizados para experimentos de titulação com metais por desempenharem um bom efeito quelato apreciável. Neste sentido, teremos:

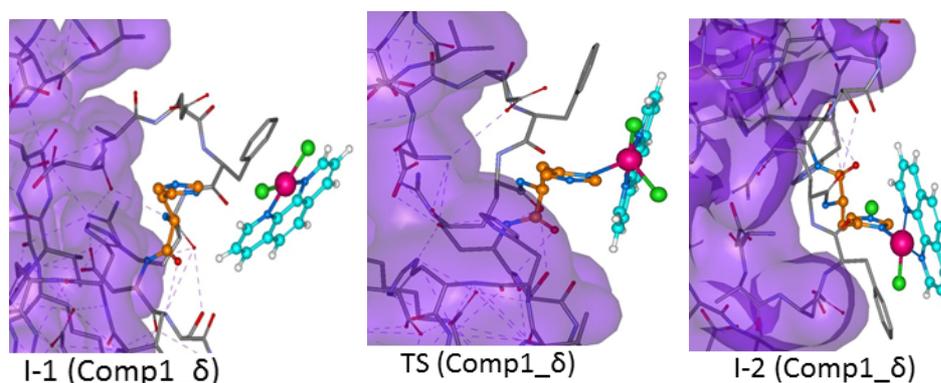


Sendo i=1 ou 3 (complexos Comp1 ou Comp3) juntamente com j=10 (Modelo Intermediário) ou 42 (Modelo *pseudo-Real*) e k= $\delta$  ou  $\epsilon$  (Nitrogênios para possível coordenação na His).

O foco agora da dissertação será abordar o mecanismo envolvido na desativação de A $\beta$  no resíduo de His-6, por considerações interessantes obtidas ao longo da DM em todos agregados em solvente explícito e em vácuo, desimpedimento e efeitos agonistas em termos de barreira e  $\Delta G_R$  negativo, considerando os complexos com o resíduo de His puro. A título de ilustração estrutural, é demonstrado a seguir na Figura 27, para o Modelo Intermediário, as espécies de Comp1 ao longo da etapa reacional I-1  $\rightarrow$  TS  $\rightarrow$  I-2 bem como na Figura 28, correspondentes para o modelo *pseudo-Real*, sendo descrito os parâmetros de caracterização estrutural nas Tabelas XIX e X respectivamente para estes modelos.



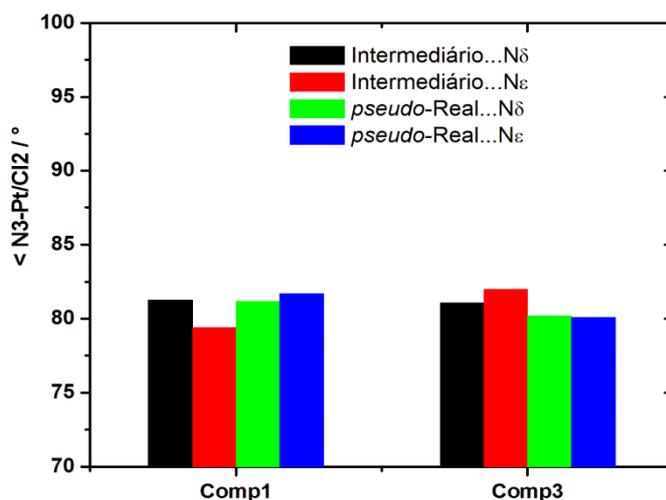
**Figura 27:** Estruturas obtidas ao final dos cálculos de minimização de geometria retiradas após cálculos de frequências harmônicas para os modelos Intermediários para Comp1.



**Figura 28:** Estruturas obtidas ao final dos cálculos de minimização de geometria retiradas após cálculos de frequências harmônicas para os modelos *pseudo-Real*s, para Comp1.

Podemos observar que a estrutura do caminho reacional em torno do átomo de platina não é significativamente alterada quando comparados com os efeitos em um sistema puramente tratado ao nível DFT, conforme o Micro modelo. Contudo, agora há apreciação por parte dos efeitos na recepção do sítio de His-6. Percebemos novamente que tanto para I-1 e I-2, a caracterização é quase perfeita da forma quadrático plana possuindo um valor de  $\tau \rightarrow 0$ , demasiadamente. Em relação às estruturas de ambos modelos dos estados de transição, é notado uma permanência de um valor levemente afastado do termo central de 0,5. Em outras palavras, para cada tipo de ancoramento, o valor de  $\tau$  variou entre  $0,47 \leq \tau \leq 0,53$  para os ET com o ligante batofenantrolina (Comp3) e para a o-fenantrolina (Comp1), foi verificado um valor no intervalo  $0,50 \leq \tau \leq 0,57$ . Concluimos, portanto que há uma sutil diferenciação estrutural no ET quando R2 é substituído por  $\Phi$ .

Supondo que seja um mecanismo associativo, conforme já especulado nas seções anteriores, podemos esperar para este tipo de caso uma lei de velocidade de segunda ordem como  $V=K[\text{His}][\text{Comp}]$ . Em consequência do realocamento dos complexos metálicos agora com as macro-estruturas, haverá maior proximidade da teoria com o experimento em termos de previsão estrutural. A Figura 29 a seguir pode ser assimilada tal como foi a Figura 24.



**Figura 29:** Ângulo de ataque causado devido entrada da His-6 devido aos modelos Intermediários e *pseudo*-Reais. Através deste comportamento, pressupomos um mecanismo novamente associativo, conforme o Micro modelo.

**Tabela XIX:** Parâmetros estruturais calculados para as espécies relativas aos modelos Intermediários e *pseudo*-Reais com Comp1. As distâncias de ligações estão em Angstrom e os ângulos em graus.

Intermediário	N $\delta$			N $\epsilon$		
	I-1	ET	I-2	I-1	ET	I-2
Pt-N1	2,05	2,03	2,06	2,06	2,03	2,07
Pt-N2	2,06	2,05	2,07	2,06	2,04	2,07
Pt-N3	4,49	2,44	2,03	4,15	2,35	2,02
Pt-Cl1	2,36	2,38	2,35	2,36	2,38	2,35
Pt-Cl2	2,35	2,59	6,80	2,36	2,61	7,07
$\angle$ N2-Pt-N1	80,7	80,6	80,5	80,4	80,6	80,3
$\angle$ Cl1-Pt-Cl2	92,0	97,9	98,3	91,2	95,5	93,1
$\angle$ N3-Pt-Cl2	-	<b>81,3</b>	-	-	<b>79,4</b>	-
$\tau^a$	0,09	0,50*	0,09	0,08	0,57*	0,08
<i>pseudo</i> -Real						
Pt-N1	2,06	2,03	2,06	2,06	2,04	2,08
Pt-N2	2,06	2,04	2,07	2,06	2,04	2,07
Pt-N3	4,91	2,41	2,03	4,42	2,35	2,03
Pt-Cl1	2,35	2,38	2,35	2,35	2,37	2,35
Pt-Cl2	2,36	2,50	6,82	2,35	2,62	7,01
$\angle$ N2-Pt-N1	80,5	80,7	80,2	80,7	80,5	80,2
$\angle$ Cl1-Pt-Cl2	91,2	96,2	77,2	92,4	97,3	80,0
$\angle$ N3-Pt-Cl2	-	<b>81,2</b>	-	-	<b>81,7</b>	-
$\tau^a$	0,08	0,51*	0,06	0,09	0,56*	0,07

<sup>a</sup>Os valores para  $\tau_5$  estão com a legenda “\*”. Quando  $\tau \rightarrow 0$ , a geometria em torno da esfera de coordenação tende para quadrático dado pelo valor de  $\tau_4$ , e para  $\tau_5$  tenderá para pirâmide de base quadrada. Contudo, quando  $\tau \rightarrow 1$  em torno do átomo metálico, a estrutura tende para tetraédrica considerando  $\tau_4$  e caso seja  $\tau_5$ , tenderá para a estrutura de uma bipirâmide trigonal.

**Tabela X:** Parâmetros estruturais calculados para as espécies relativas aos modelos Intermediários e *pseudo*-Reais com Comp3. As distâncias de ligações estão em Angstrom e os ângulos em graus

Intermediário	N $\delta$			N $\epsilon$		
	I-1	ET	I-2	I-1	ET	I-2
Pt-N1	2,05	2,03	2,06	2,05	2,03	2,07
Pt-N2	2,05	2,04	2,06	2,05	2,04	2,06
Pt-N3	4,64	2,43	2,03	3,91	2,37	2,02
Pt-Cl1	2,36	2,38	2,35	2,36	2,38	2,35
Pt-Cl2	2,35	2,61	6,77	2,36	2,67	7,09
$\angle$ N2-Pt-N1	80,2	80,2	80,0	80,0	80,1	80,1
$\angle$ Cl1-Pt-Cl2	91,8	98,0	99,9	91,4	98,1	86,7
$\angle$ N3-Pt-Cl2	-	<b>81,1</b>	-	-	<b>82,0</b>	-
$\tau^a$	0,10	0,49	0,09	0,08	0,47	0,08
<i>pseudo</i> -Real						
Pt-N1	2,05	2,03	2,06	2,05	2,03	2,07
Pt-N2	2,05	2,04	2,06	2,04	2,03	2,06
Pt-N3	3,92	2,45	2,04	4,26	2,26	2,03
Pt-Cl1	2,35	2,37	2,35	2,33	2,38	2,36
Pt-Cl2	2,36	2,59	6,72	2,34	2,68	6,92
$\angle$ N2-Pt-N1	79,8	80,1	79,8	79,5	80,4	79,9
$\angle$ Cl1-Pt-Cl2	91,6	95,1	74,2	91,6	97,0	73,9
$\angle$ N3-Pt-Cl2	-	<b>80,2</b>	-	-	<b>80,1</b>	-
$\tau^a$	0,09	0,49	0,06	0,10	0,53	0,07

<sup>a</sup>Os valores para  $\tau_5$  estão com a legenda “\*”. Quando  $\tau \rightarrow 0$ , a geometria em torno da esfera de coordenação tende para quadrático dado pelo valor de  $\tau_4$ , e para  $\tau_5$  tenderá para pirâmide de base quadrada. Contudo, quando  $\tau \rightarrow 1$  em torno do átomo metálico, a estrutura tende para tetraédrica considerando  $\tau_4$  e caso seja  $\tau_5$ , tenderá para a estrutura de uma bipirâmide trigonal.

Como relatado, pôde-se perceber de forma muito interessante que as ligações de hidrogênios, interações de dipolo permanente e interações “ $\pi$ ”, ao redor dos doadores e receptores de prótons da esfera de coordenação, são fundamentais para estabilização dos ETs. Este fator é muito mais evidente quando ocorre o aumento da cadeia do peptídeo de  $A\beta(1-10) \rightarrow A\beta(1-42)$  defendendo assim o nome do terceiro modelo justamente por se referir a um possível comportamento mais condizente com a realidade entre os adutos formados pelas espécies protéicas.

Através deste vínculo entre um valor teórico e o possível experimental, por parte dos cálculos de barreira de ativação e energia liberada, encontramos um comportamento de depressão energética em relação à barreira de ativação. Este processo seria ocasionado devido ao decréscimo da energia de ativação do sistema para ambas as moléculas atacando em ambos os nitrogênios possíveis para ataque nucleofílico. Podemos observar na Tabela XI que a rampa de ativação reacional tende a decrescer cerca de  $15 \text{ kcal mol}^{-1}$  para Comp1 em  $\epsilon$ , conforme se aumenta o modelo de Micro para *pseudo-Real*. Todas as propostas possuem um valor bem plausível para este evento, indo de acordo com trabalhos realizados na literatura.

Em termos de estabilização nos modelos *pseudo*, podemos notar que justamente a forma de coordenação de menor valor de barreira possui uma energia mais favorável para o processo ser bem visto termodinamicamente. Mais uma vez, de acordo com a Tabela XI, podemos elucidar uma preferência de coordenação devido ao ataque  $Ne$  para Comp1, possuindo tanto menor valor de barreira reacional ( $5,03 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) e maior estabilidade ( $-16,46 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). Todavia, este resultado não é evidenciado de forma idêntica para Comp3, pois sua preferência foi em detrimento as outras considerações uma vez que houve a preferência para coordenação com  $N\delta$  em termos de menor barreira ( $10,94 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) e energia liberada ( $-20,21 \text{ kcal mol}^{-1}$ ). Ou seja, para os sistemas mais reativos, coincidentemente foram encontrados os sítios de ataque mais estáveis, sendo reações mais exoérgicas.

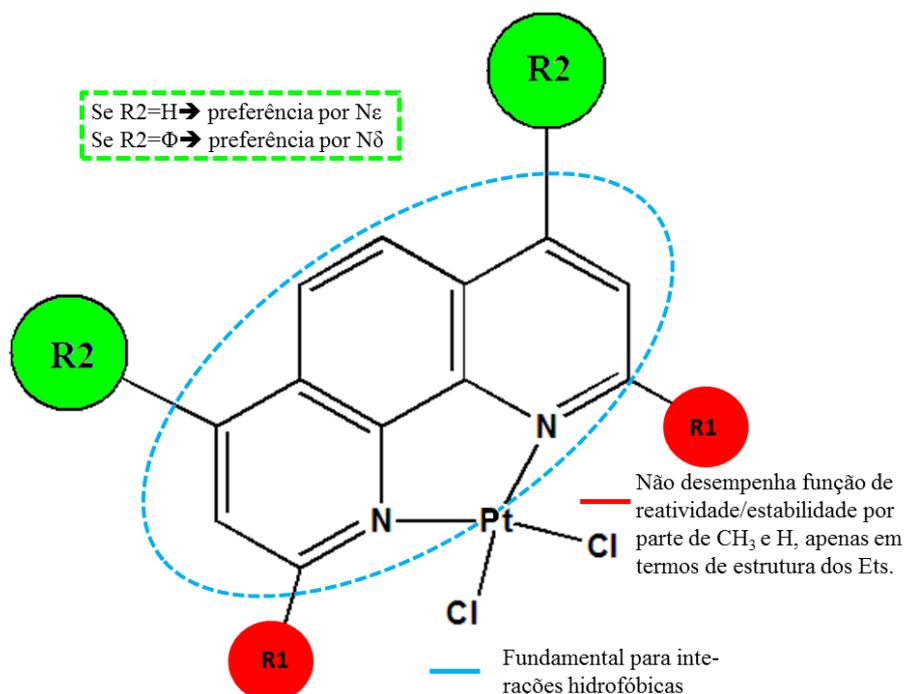
De forma geral, pela primeira vez na literatura, é abordado um resultado de estrutura/reatividade/estabilidade para esta classe de compostos de platina(II) com derivados da ortofenantrolina, bem como elucidar as estruturas dos adutos formados com  $A\beta$ . A este nível de teoria mencionado, foi possível então através destas considerações apontar primordialmente um possível modelo de recepção molecular para

esta classe de compostos (Figura 30), havendo certo controle da coordenação por parte da preferência distinta pelos nitrogênios em  $\delta$  ou  $\epsilon$ . Ou seja, para um melhor ataque em  $\delta$ , é necessário que haja uma substituição de R2 pelo radical fenil, contudo caso se deseje um modo de coordenação em  $\epsilon$ , é preferível que R2 seja hidrogênio.

**Tabela XI:** Barreira (fora dos colchetes) e energia de Gibbs reacional (dentro dos colchetes), conforme houve aumento dos modelos ao nível de teoria B97-2/6-311+G(2d,p)//. Os valores se dão por kcal mol<sup>-1</sup>.

Complexos	Fase	N	Micro	Intermediário	<i>pseudo-Real</i>	
Comp1	Gas	$\delta$	24.39 [ 1.17]	26.42 [-0.06]	24.38 [-3.81]	
		$\epsilon$	34.65 [-1.74]	31.59 [-0.11]	11.98 [-13.50]	
	Água	$\delta$	22.14 [-4.49]	23.35 [-13.21]	19.56 [-9.65]	
		$\epsilon$	<b>13.37[-1.88]</b>	26.40 [-2.90]	<b>5.03 [-16.46]</b>	
	Comp3	Gas	$\delta$	24.71[0.06]	37.69 [-6.32]	13.39 [-11.95]
			$\epsilon$	26.13[-1.80]	17.62 [-2.62]	21.97 [-8.56]
Água		$\delta$	<b>8.76[-3.35]</b>	34.07 [-6.40]	<b>10.94 [-20.21]</b>	
		$\epsilon$	9.28[-1.10]	11.53 [-4.49]	13.86 [-12.71]	

É também possível perceber tanto em termos de energias quanto estruturas, que os anéis aromáticos por parte do radical fenil, que se apresentam em Comp3, são fundamentais para suprir o impedimento estérico do sítio, diminuindo assim o valor de barreira sendo Comp1\_ $\delta$  (19,56kcal mol<sup>-1</sup>)  $\rightarrow$  Comp3\_ $\delta$  (10,94kcal mol<sup>-1</sup>) para ocasionar a coordenação efetiva em delta, fato este não pronunciado em  $\epsilon$ . Considera-se também que para esta classe de análogos é desejável ter um ligante de grande porção hidrofóbica para realização de interações de empacotamento  $\pi$ “local” ( $\pi\pi$ -*staking*), desempenhando assim uma intercalação entre os resíduos de Phe-4, Tyr-10, Phe-19 e Phe-20.



**Figura 30:** Esquema teórico para elaboração preliminar de análogos destas classes de complexos estudados, visando maior reatividade e melhor estabilidade para a coordenação com o sítios de His-6.

## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

### 4.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS E PERSPECTIVAS

Esta dissertação descreve um estudo de processos de agregação do peptídeo  $\beta$ -amilóide  $A\beta(1-42)_n$ , possuindo um valor de  $n$  unidades de  $A\beta$  variando de 1 até 4. Desta forma, foi possível descrever o comportamento do supra-sistema para implicar em sua estabilização por parte de ocorrência de ligações fortemente interagentes em um cinturão interno de ligações de hidrogênio. Este modelo é descrito aqui como “Laço Amilóide” causado em função dos resíduos de His-13 mais internos aos agregados.

Verificou-se que o protocolo de DM adotado para a primeira fase do projeto foi bem sucedido descrevendo de forma satisfatória a estabilização ao longo do tempo entre os termos não-covalentes e através dele foi possível expressar de forma lógica o

comportamento em dimensionalidade dos agregados formados devido ao número de unidades de A $\beta$ , principalmente em solução. Não há nada na literatura que relate este tipo de comportamento supramolecular de estabilização espontânea entre as unidades individuais do peptídeo ditado por sua unidade, aqui definido de modelo “N-Dimensional Amilóide”. As ligações de hidrogênio encontradas ao longo deste período foram significativas dentro da faixa experimental, caracterizadas entre moderadas e fortes, em função das distâncias e ângulos.

Com este modelo, foi possível perceber em termos de topologia que a forma de ataque, devido ao desimpedimento estérico, seria nos resíduos de His-6 e 14. Assim, optou-se por elucidar o mecanismo neste sítio, formando-se os adutos característicos com 1 unidade apenas de His (modelo Micro), posteriormente com 10 unidades de AA (modelo Intermediário) e em seguida com 42 AA (*pseudo-Real*), com estequiometria 1A $\beta$ :1complexo, adotando-se no segundo e no terceiro modelo a metodologia ONIOM.

Consideramos somente 2 complexos (Comp1 e Comp3) por apresentarem o mesmo tipo de comportamento entre os outros compostos estudados (Comp2 e Comp4) em termos de barreira e saldo energético da energia livre de Gibbs.

Ao nível DFT, o funcional híbrido B3LYP com o conjunto de funções de base 6-31G(d) foi satisfatório em termos de estrutura para todos os tipos de sistemas em camada alta, sendo corrigido a energia em *single point* utilizando-se o funcional híbrido B97-2 na base 6-311+G(2d,p), conforme relatam bons resultados na literatura.

A metodologia ONIOM se mostrou bem concisa para elucidar estas formas de interações entre complexos e peptídeo, mantendo-se sempre a camada alta no complexo e no sítio de His-6. Os demais resíduos foram tratados em camada baixa com mecânica molecular (MM) no campo de força universal UFF.

Foi possível elucidar pela primeira vez a forma de ataque do resíduo de histidina nesta classe de complexos (Figura 30), incluindo tanto efeito de solvente quanto efeito de AA adjacentes, incluídos pela metodologia ONIOM, que por sua vez reportou um processo de auto-catálise quando ocorrido há coordenação no resíduo de His-6. Em um futuro próximo, será estudado o processo de desativação dos resíduos de His-13, responsáveis pela estabilização dos agregados, via modelo “N-Dimensional”.

Os valores de  $\tau$  se mostraram na faixa de  $0,5 \pm 0,1$  para todos os tipos de modelos estudados, sendo traçado um perfil de estrutura do ET em função da sua barreira e notou-se que a porção R2 sendo substituída por um radical fenil reduziria a barreira na ordem de até  $10 \text{ kcal mol}^{-1}$ , outro ponto que merecerá destaque em estudos futuros.

A partir destes resultados é possível constatar que as formas de coordenações mais reativas foram concordantes em termos de energias e estrutura no modelo *pseudo-Real*. Este fato vai em acordo com os dados experimentais disponíveis para as quais estas duas estruturas (Comp1 e Comp3) foram observados maiores efeitos de atividade em testes biológicos, levando a supor que a estrutura/reactividade/estabilidade desta classe de complexos esta relacionada também com sua atividade biológica.

Uma grande surpresa foi constatar que para a molécula derivada de platina(II), menos complexa possível (Comp1), obtivemos uma barreira menor e melhor estabilização, comparada às demais, fato este que embora coincida com os resultados experimentais apontados por Barnham e colaboradores, do ponto de vista teórico aqui foi demonstrado que muitas vezes, as melhores respostas são muito mais simples do que realmente esperamos. Ou seja, para modelos futuros, seria muito interessante agora não mais considerar o grupamento espaçador fenil (conforme Comp3), uma vez que este serviria apenas para ultrapassar a barreira hematoencefálica, pois do ponto de vista eletrônico, o comportamento se assemelha muito com o composto mais simples.

É almejado que outras propostas adotem a estratégia de mimetização estrutural para constatar valores de propriedades cinéticas e termodinâmicas de posse de uma boa caracterização dos estados de transição bem descritos e característicos. Algo interessante de ser estudado em consequências destas análises será analisar os processos de coordenação metálica com os resíduos de His-13 e 14, mas também com os resíduos de Met deste peptídeo, bem como elaborar como aconteceriam as interações destes análogos ao longo dos receptores relacionados com o biociclo do Mal de Alzheimer, como a proteína APP, além de outras rotas de mecanismos envolvidos durante as etapas de peroxidação lipídica.

## 4.2 PRODUÇÕES CIENTÍFICAS RESULTANTES

### 4.2.1 Trabalhos apresentados em eventos sob a forma de pôsteres

**Proposta de aglomerações do peptídeo  $\beta$ -amilóide A $\beta$ (1-42), *in silico*. Forte alvo terapêutico contra o Mal de Alzheimer**

Willian T. G. Novato, Luiz Antônio S. Costa, Hélio F. Dos Santos

XXV Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química-Lavras, MG, 2011.

***Platinum complexes as potencial drugs for Alzheimer's disease***

Willian T. G. Novato, Luiz. A. S. Costa, Wagner B. De Almeida, Hélio F. Dos Santos

XVI Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry, Florianópolis, SC, 2012 (premiado).

### 4.2.2 Artigo em elaboração relacionado com o projeto

**A theoretical model of disabling sites of A $\beta$ (1-42) using complex of Pt(II): A strong therapeutic target against Alzheimer's disease**

Willian T. G. Novato, Wagner B. De Almeida, Luiz Antônio S. Costa, Hélio F. Dos Santos

*Foco: Journal of Biological Inorganic Chemistry*

## 5 REFERÊNCIAS

- ADDISON, A. W., T. N. RAO, *et al.* Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper(II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2[prime or minute]-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, n.7, p.1349-1356. 1984.
- ADLARD, P. A., R. A. CHERNY, *et al.* Rapid restoration of cognition in Alzheimer's transgenic mice with 8-hydroxy quinoline analogs is associated with decreased interstitial A beta. Neuron, v.59, n.1, p.43-55. 2008.
- AHN, H. J., D. ZAMOLODCHIKOV, *et al.* Alzheimer's disease peptide  $\beta$ -amyloid interacts with fibrinogen induces its oligomerization. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v.107, n.50, December 14, p.21812-21817. 2010.
- ALBERTS, B. *Biologia Molecular da Célula*, Ed. Artmed, 4ª edição, 2004. 2004.
- ALDER, B. J. e T. E. WAINWRIGHT. Phase transition for a hard sphere system. Journal of Chemical Physics, v.27, n.5, p.1208-1209. 1957.
- \_\_\_\_\_. Studies in Molecular Dynamics I - General Method. Journal of Chemical Physics, v.31, n.2, p.459-466. 1959.
- ALMEIDA, E., C. ANCONI, *et al.* Box-Behnken design for studying inclusion complexes of triglycerides and  $\alpha$ -cyclodextrin: application to the heating protocol in molecular-dynamics simulations. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, v.71, n.1, p.103-111. 2011.
- BARNHAM, K. J., V. B. KENCHE, *et al.* Platinum-based inhibitors of amyloid-beta as therapeutic agents for Alzheimer's disease. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v.105, n.19, p.6813-6818. 2008.
- BARREIRO, E. J. e C. A. M. FRAGA. *Química Medicinal-As bases moleculares da ação dos fármacos*, Ed. Artmed, 2ª ed., 2008.
- BECKE, A. D. Density-Functional Exchange-Energy Approximation with Correct Asymptotic-Behavior. Physical Review A, v.38, n.6, p.3098-3100. 1988.
- BUTTERFIELD, D. A. e D. BOYD-KIMBALL. Amyloid beta-peptide(1-42) contributes to the oxidative stress and neurodegeneration found in Alzheimer disease brain. Brain Pathology, v.14, n.4, p.426-432. 2004.
- BUTTERFIELD, D. A. e A. I. BUSH. Alzheimer's amyloid beta-peptide (1-42): involvement of methionine residue 35 in the oxidative stress and neurotoxicity properties of this peptide. Neurobiology of Aging, v.25, n.5, p.563-568. 2004.
- CAPPAI, R. e K. J. BARNHAM. Delineating the mechanism of Alzheimer's disease A beta peptide neurotoxicity. Neurochemical Research, v.33, n.3, p.526-532. 2008.

CARAGOUNIS, A., T. Du, *et al.* Differential modulation of Alzheimer's disease amyloid beta-peptide accumulation by diverse classes of metal ligands. Biochemical Journal, v.407, p.435-450. 2007.

\_\_\_\_\_. Modulation of Alzheimer's disease amyloid beta peptide turnover by metal ligands. Journal of Neurochemistry, v.102, p.19-20. 2007.

CHOI, J., J. J. BRAYMER, *et al.* Design of small molecules that target metal-A $\beta$  species and regulate metal-induced A $\beta$  aggregation and neurotoxicity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v.107, n.51, December 21, p.21990-21995. 2010.

CRAMER, C. J. Computational Chemistry - Theories and Models, Ed. Wiley, 2<sup>a</sup> ed. 2004.

DE PAULA, V. J. R., F. M. GUIMARÃES, *et al.* Papel da proteína Tau na fisiologia da demência frontotemporal. Revista de Psiquiatria Clínica, v.36, n.5, p.197-202. 2009.

DE SOUSA, F. B., A. C. LIMA, *et al.* Superstructure based on b-CD self-assembly induced by a small guest molecule. Physical Chemistry Chemical Physics v.14, p.1934–1944. 2012.

DUCE, J. A. e A. I. BUSH. Biological metals and Alzheimer's disease: Implications for therapeutics and diagnostics. Progress in Neurobiology, v.92, n.1, p.1-18. 2010.

FRISCH, M. J. Gaussian 03. Wallingford - CT:Gaussian Inc, 2004. 2009.

GONZALEZ, C. e H. B. SCHLEGEL. An improved algorithm for reaction-path following. Journal of Chemical Physics, v.90, n.4, p.2154-2161. 1989.

GOODMAN, L. S. e A. GILMAN. As bases farmacológicas da terapêutica, Ed. Mcgraw Hill, 9<sup>a</sup> edição, 1996. 1996.

GSPONER, J. e M. VENDRUSCOLO. Theoretical approaches to protein aggregation. Protein and Peptide Letters, v.13, n.3, p.287-293. 2006.

HAILE, J. M. Molecular Dynamics Simulation, Nova York: Wiley, 1997.

HAMAGUCHI, T., K. ONO, *et al.* Curcumin and Alzheimer's Disease. CNS Neuroscience & Therapeutics, v.16, p.285-297. 2010.

HAY, P. J. e W. R. WADT. Ab initio effective core potentials for molecular calculations - Potentials for the transition-metal atoms Sc to Hg. Journal of Chemical Physics, v.82, n.1, p.270-283. 1985.

HEINE, T., H. F. DOS SANTOS, *et al.* Structure and dynamics of b-cyclodextrin in aqueous solution at quantum-mechanical level. Journal of Physical Chemistry A, v.111, p. 5648-5656. 2007.

HONG, L. A., T. M. CARDUCCI, *et al.* Quantification of the Binding Properties of Cu<sup>2+</sup> to the Amyloid Beta Peptide: Coordination Spheres for Human and Rat Peptides and Implication on Cu<sup>2+</sup>-Induced Aggregation. Journal of Physical Chemistry B, v.114, n.34, p.11261-11271. 2010.

HUNG, L. W., G. D. CICCOTOSTO, *et al.* Amyloid-beta Peptide (A beta) Neurotoxicity Is Modulated by the Rate of Peptide Aggregation: A beta Dimers and Trimers Correlate with Neurotoxicity. Journal of Neuroscience, v.28, n.46, p.11950-11958. 2008.

HUNG, Y. H., A. I. BUSH, *et al.* Copper in the brain and Alzheimer's disease. Journal of Biological Inorganic Chemistry, v.15, n.1, p.61-76. 2010.

JENSEN, P. H., H. HAGER, *et al.* Alpha-synuclein binds to Tau and stimulates the 916–926 protein kinase A-catalyzed tau phosphorylation of serine residues 262 and 356. Journal Biology Chemistry, v.274, p.25481–25489. 1999.

KHANDOGIN, J. e C. L. BROOKS. Linking folding with aggregation in Alzheimer's beta-amyloid peptides. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v.104, p.16880-16885. 2007.

KONG, G. K. W., L. A. MILES, *et al.* Copper binding to the Alzheimer's disease amyloid precursor protein. European Biophysics Journal with Biophysics Letters, v.37, n.3, p.269-279. 2008.

KUMAR, A., L. MOODY, *et al.* Inhibition of Aβ<sub>42</sub> Peptide Aggregation by a Binuclear Ruthenium(II)-Platinum(II) Complex: Potential for Multimetal Organometallics as Anti-amyloid Agents. ACS Chemical Neuroscience, v.1, p.691–701. 2010.

KUMAR, R. e H. ATAMNA. Therapeutic Approaches to Delay the Onset of Alzheimer's Disease. Journal of Aging Research, v.2011, p.1-10. 2011.

LEACH, A. R. Molecular Modeling - Principles and applications, Ed. Pearson, 2<sup>a</sup> ed. 2001.

LEE, S., Y. XUE, *et al.* Metal Binding Dictates Conformation and Function of the Amyloid Precursor Protein (APP) E2 Domain. Journal of Molecular Biology, v.416, p.438-452. 2012.

LEVINE, I. Quantum Chemistry; Prentice Hall Inc.: New Jersey, 2000.

LIN, C. J., H. C. HUANG, *et al.* Cu(II) interaction with amyloid-β peptide: A review of neuroactive mechanisms in AD brains Brain Research Bulletin, v.82, n.5-6, p.235-242. 2010.

LOPES, J. F., V. S. A. MENEZES, *et al.* Monte Carlo Simulation of cisplatin Molecule in Aqueous Solution. Journal Physical Chemistry B, v.110, p. 12047-12054. 2006.

MARCIAL, B. L., L. A. S. COSTA, *et al.* Interaction of chemically modified tetracyclines with catalytic Zn(II) ion in matrix metalloproteinase: evidence for metal coordination sites. Theoretical Chemistry Accounts, v.128, p.377–388. 2011.

MATTSON, M. P. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. Nature, v.430, n.7000, p.631-639. 2004.

MILLER, Y., B. MA, *et al.* Polymorphism in Alzheimer A beta Amyloid Organization Reflects Conformational Selection in a Rugged Energy Landscape. Chemical Reviews, v.110, n.8, p.4820-4838. 2010.

MILLER, Y., B. Y. MA, *et al.* Zinc ions promote Alzheimer A beta aggregation via population shift of polymorphic states. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v.107, n.21, p.9490-9495. 2010.

MORGON, N. H. e K. COUTINHO. Métodos Teóricos em Química Computacional e Modelagem Molecular. Campinas: Unicamp. 2006.

MOROKUMA, K. Oniom method and its applications to modeling of chemical and biological systems. Abstracts of papers of the american chemical society, v.228, p.266-phys. 2004.

MUCKE, L. Neuroscience: Alzheimer's disease. Nature, v.461, p.895-897. 2009.

NOVATO, W. T. G., W. B. DE ALMEIDA, *et al.* A new topological parameter for monitoring subtle aggregation events in host–guest inclusion processes. Chemical Physics Letter, v.524, p.100-106. 2012.

O'BRIEN, R. J. e P. C. WONG. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. Annual Review of Neuroscience, v.34, p.185-204. 2011.

PLIEGO Jr., J. R. Modelos contínuos do solvente: Fundamentos. Química Nova, v.29, n.3, p.535-542. 2006.

RAFFA, D. F., G. A. RICKARD, *et al.* Ab initio modelling of the structure and redox behaviour of copper(I) bound to a His–His model peptide: relevance to the  $\beta$ -amyloid peptide of Alzheimer's disease. Journal of Biological Inorganic Chemistry, v.12, n.2, p.147-164. 2007.

RAPPÉ, A. K., C. J. CASEWIT, *et al.* UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. Journal American Chemical Society, v.114, n.25, p.10024-10035. 1992.

REUTERS, D. A. Imagem compara cérebro saudável a outro com Alzheimer. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/equilibrioesaude/888388-imagem-compara-cerebro-saudavel-a-outro-com-alzheimer.shtml>>, 25/06/2012.

SZABO, A. e N. S. OSTLUND. Modern Quantum Chemistry-Introduction to advanced electronic structure theory. Dover Pubs. Inc.: New York. 1996.

TAVARES, T. T., G. F. TEXEIRA, *et al.* Platinum(II) complexes containing long-chain hydrophobic N-alkyl-diamine ligands: Synthesis, characterization, molecular modeling, and cytotoxic activity, *in press*. Journal of Inorganic Biochemistry. 2012.

THINAKARAN, G. e E. H. KOO. Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function. Journal of Biological Chemistry, v.283, n.44, October 31, 2008, p.29615-29619. 2008.

TOMASELLI, S., V. ESPOSITO, *et al.* The  $\alpha$ -to- $\beta$  Conformational Transition of Alzheimer's A $\beta$ -(1-42) Peptide in Aqueous Media is Reversible: A Step by Step Conformational Analysis Suggests the Location of  $\beta$  Conformation Seeding (pages 257-267). Chembiochem, v.7, n.2, February 6, p.257-267. 2006.

TRIGUERO, L., R. SINGH, *et al.* Comparative molecular dynamics studies of wild-type and oxidized forms of full-length Alzheimer amyloid beta-peptides A beta(1-40) and A beta(1-42). Journal of Physical Chemistry B, v.112, n.23, p.7123-7131. 2008a.

\_\_\_\_\_. Molecular dynamics study to investigate the effect of chemical substitutions of methionine 35 on the secondary structure of the amyloid beta (A beta(1-42)) monomer in aqueous solution. Journal of Physical Chemistry B, v.112, n.7, p.2159-2167. 2008b.

VERLET, L. Computer Experiments on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules. Physical Review, v.159, p.98-103. 1967.

VIANNA, J. D. M., A. FAZZIO, *et al.* Teoria Quântica de Moléculas e Sólidos-Simulação Computacional. Ed. Livraria da Física, São Paulo, SP, v.vol.1. 2004.

WEINER, S. J., P. A. KOLLMAN, *et al.* A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins. Journal American Chemical Society, v.106, n.3, p.765-784. 1984.

WILSON, P. J., T. J. BRADLEY, *et al.* Hybrid exchange-correlation functional determined from thermochemical data and ab initio potentials. Journal of Chemical Physics, v.115, n.20, p.9233-9242. 2001.

YANG, L., D. R. POWELL, *et al.* Structural variation in copper(I) complexes with pyridylmethanamide ligands: structural analysis with a new four-coordinate geometry index, t4. Dalton Transactions, n.9, p.955-964. 2007.