

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
INSTITUTO DE CIENCIAS EXATAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

ADJANE DALVANA SAMPAIO BRANCHES

ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL EM NÍVEL DFT E DOCKING  
MOLECULAR PARA ALCALOIDES DO TIPO *7,7-dimetilaporfínicos*  
ISOLADOS DE *Guatteria friesiana* (*Annonaceae*)

MANAUS

2019

ADJANE DALVANA SAMPAIO BRANCHES

ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL EM NÍVEL DFT E DOCKING  
MOLECULAR PARA ALCALOIDES DO TIPO *7,7-dimetilaporfínicos*  
ISOLADOS DE *Guatteria friesiana* (*Annonaceae*)

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química de Materiais e Interfaces.

Orientador: Prof. Dr. Kelson Mota Teixeira de Oliveira

MANAUS

2019

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

B816e Branches, Adjane Dalvana Sampaio  
Estudo teórico e experimental em nível DFT e docking molecular para alcaloides do tipo 7,7-dimetilaporfínicos isolados de Guatteria friesiana (Annonaceae) / Adjane Dalvana Sampaio Branches. 2019 82 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Kelson Mota Teixeira de Oliveira  
Dissertação (Mestrado em Química - Físico-Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Alcaloides 7,7-dimetilaporfínicos. 2. dft. 3. Análises NBO/NLO. 4. Docking molecular. 5. Anti-câncer. I. Oliveira, Kelson Mota Teixeira de II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

ADJANE DALVANA SAMPAIO BRANCHES

**ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL EM NÍVEL DFT E DOCKING MOLECULAR E PARA ALCALÓIDES DO TIPO 7,7-dimetilporfínicos ISOLADOS DE *Guatteria friesiana* (Annonaceae)**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química, área de concentração em Química de Materiais e Interfaces.

Aprovado em 30 de julho de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Kelson Mota Teixeira de Oliveira

Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dra. Jaqueline de Araújo Bezerra

Instituto Federal do Amazonas

Prof. Dr. Jonathas Nunes da Silva

Universidade Estadual Paulista/campus Araraquara

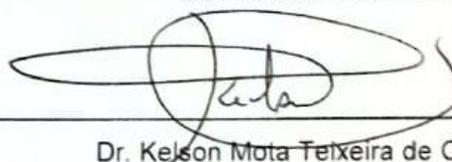
**“ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL EM NÍVEL DFT E DOCKING MOLECULAR PARA ALCALÓIDES DO TIPO 7,7-dimetilporfinicos ISOLADOS<sup>3</sup> E *Guatteria Friesiana* (Annonaceae)”**

**Adjane Dalvana Sampaio Branches**

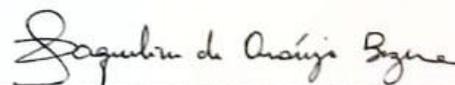
Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Química.

Aprovado, em 30 de julho de 2019.

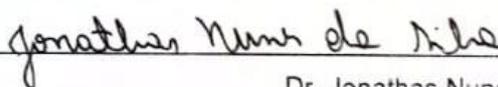
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Kelson Mota Teixeira de Oliveira  
Universidade Federal do Amazonas  
Orientadora



Dra. Jaqueline de Araújo Bezerra  
Membro Externo/IFAM



Dr. Jonathas Nunes da Silva  
Membro Externo/UNESP

Universidade Federal do Amazonas  
Manaus, 30 de julho de 2019.

Dedico este trabalho a Deus, porque d'Ele, por Ele e para Ele são todas as coisas.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, Maria Antônia Melo Sampaio e Dermival Correa Branches, que à sua maneira me deram suporte para chegar aonde cheguei. Agradeço aos meus irmãos e às primas que mais me incentivaram na vida acadêmica.

Agradeço ao meu namorado Gabriel Guimarães Gato que sempre acreditou mais em mim do que eu mesma, por estar do meu lado quando saiu o resultado da prova de ingresso no mestrado.

Às três amigas que me acompanham desde o Ensino Médio, Karine Simas, Samantha Matos e Thaires Aguiar por sempre me darem suporte e apoio quando precisei e por demonstrarem que família não precisa ser de sangue.

Ao professor Dr. Kelson Mota que me guiou por vários anos de graduação e mestrado como professor e orientador, sendo assim considerado meu pai da ciência, aquele que sempre me incentivou a crescer como professora e como pesquisadora.

Aos meus companheiros de laboratório, que me deram todo o suporte e me ajudaram quando eu mais precisei Renyer Costa, Noam Gadelha, Earle Silva, Diego Valois e Guilherme Braule, com ênfase ao Renyer, que me ensinou a manusear o Gaussian, e ao Guilherme que me ajudou na obtenção dos resultados de docking. Estes se tornaram ao longo desses anos mais do que colegas de trabalho, meus amigos.

A todos os companheiros de estudo, profissão e igreja que sempre me apoiaram em cada passo da minha vida acadêmica.

Ao professor Dr. Emmanoel Vilaça Costa por ceder material contribuindo para a realização desse trabalho e aos professores Daniel Bezerra e Milena Soares da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz- Ba) pelos ensaios citotóxicos realizados.

À Universidade Federal do Amazonas e ao departamento de Química por ceder espaço, equipamentos e capacitar professores tornando este trabalho possível.

Aos financiadores CAPES, CNPQ, FAPEAM, FINEP, por disponibilizar bolsas incentivando alunos pesquisadores, destacando o primeiro, que ofertou a bolsa para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Os aporfinoídeos são uma classe de alcalóides isoquinolínicos com mais de 500 compostos já identificados na literatura e são conhecidos por sua ampla utilidade farmacológica tal como anticâncer, anestésica, vasodilatadora e antibacteriana. Dentro dessa classe se encaixam os alcalóides aporfínicos que, por sua vez, compreendem uma classe nova intitulada 7,7-dimetilaporfínicos (devido a presença de duas metilas no C7) que até então não possuíam nenhum dado teórico relacionando suas características estruturais, vibracionais, propriedades quânticas e estudo de docking molecular. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo investigar os alcalóides 9-metoxiguatterfriesina (I), (*R*)-6,6a-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (II) e 4,5-dehidro-9-metoxiguatterfriesina (III), pertencentes a essa nova classe, através de uma abordagem teórica utilizando cálculos DFT com o funcional B3LYP e as bases de cálculo 6-311G (2d,p). Os dados de otimização geométrica para as estruturas foram comparados com dados de raio-x para uma estrutura similar disponível na literatura e obtiveram comprimentos de ligação bem próximos. Cálculos de NBO e NLO foram realizados a fim de ampliar o conhecimento com relação às propriedades quânticas das substâncias além de explicar efeitos de deslocalização eletrônica presentes nas estruturas. Os espectros teóricos de UV-vis e IV foram comparados com dados experimentais obtidos em trabalho anterior e apresentaram semelhanças satisfatórias, além de confirmar a existência da forma dimérica para os três compostos em solução, formas estas estabilizadas por interações de ligação de hidrogênio do tipo OH...N. Foi realizado estudo de docking molecular, a substância III revelou maior potencial bioativo e, para fins comparativos, um estudo de docking também foi realizado para duas substâncias (9-metoxiguatteriscina e 6,6a-diidrodemetoxiguadiscina) com esqueleto semelhante ao das moléculas I, II e III, entretanto com substituintes diferentes nos anéis. Em adição, foi realizado ensaio citotóxico *in vitro* para as substâncias o qual a substância III obteve o maior poder inibitório indicando assim a confiabilidade dos métodos teóricos de docking molecular.

**Palavras chave:** Alcalóides 7,7-dimetilaporfínicos. DFT. Análises NBO/NLO. Docking molecular. Anti-câncer

## ABSTRACT

Apophinoids are a class of isoquinoline alkaloids with more than 500 compounds already identified in the literature and specially recognized for having a range of pharmacological activities such as anticancer, anesthetic, vasodilator and antibacterial. Belonging to this class, the aporphine alkaloids comprise a new class titled 7,7-dimethylaporphinic (due to the presence of two methyls in C7) that until then had no theoretical data relating their structural, vibrational, quantum properties and study of molecular docking. In this context, the objective of this work was to investigate the alkaloids 9-methoxyguatterfriesine (I), (R)-6,6a-dihydro-9-methoxyguatterfriesine (II) and 4,5-dehydro-9-methoxyguatterfriesine (III), part of this new class, through a theoretical approach using DFT calculations with the B3LYP functional and 6-311G (2d, p) bases set. The geometric optimization data for the structures were compared with x-ray data for a similar structure available in the literature and obtained close bond lengths. NBO and NLO calculations were performed in order to increase the knowledge regarding the quantum properties of the substances besides explaining the effects of electronic delocalization in the structures. The theoretical UV-vis and IR spectra were compared with experimental data obtained in previous work and presented satisfactory similarities, besides confirming the existence of the dimeric form for the three compounds in solution, these forms stabilized by OH...N hydrogen bonding interactions type. A molecular docking study was performed, substance III revealed greater bioactive potential, and to compare a docking was performed for two substances (9-methoxyguatteriscine and 6,6a-dihydrodemetoxiguadiscine) with a skeleton similar to molecules I, II and III, however with different substituents in the rings. In addition, an *in vitro* cytotoxic assay was performed in which substance III obtained the highest inhibitory power, thus indicating the reliability of theoretical molecular docking methods.

**Keywords:** 7,7-dimethylaporphine alkaloids. DFT. NBO/NLO analysis. Molecular Docking. Anti-cancer.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Fórmula estrutural da morfina.....	14
<b>Figura 2.</b> Fórmula estrutural da Vimblastina e da Vincristina. ....	15
<b>Figura 3.</b> Isoquinolina e alcalóides derivados de seu esqueleto. ....	18
<b>Figura4.</b> Guatteria Friesiana. Fonte: <a href="https://www.inaturalist.org/taxa/185510-Guatteria/browse_photos">https://www.inaturalist.org/taxa/185510-Guatteria/browse_photos</a> .....	19
<b>Figura 5.</b> Síntese da apomorfina(Costa, 2009). ....	20
<b>Figura 6.</b> Esqueleto básico dos alcalóides 7,7-dimetilporfínicos (Costa, 2009).....	22
<b>Figura 7.</b> Processo de determinação do grid no AutoDock Tools. ....	40
<b>Figura 8.</b> Estruturas otimizadas (esquerda) e mapas de potencial eletrostático (direita) de I, II e III. ....	44
<b>Figura 9.</b> Estruturas otimizadas dos dímeros propostos (esquerda) e mapas de potencial eletrostático (direita) para I, II e III. ....	46
<b>Figura 10.</b> Orbitais moleculares de fronteira para I, II e III. ....	48
<b>Figura 11.</b> Comparação entre os espectros experimental e teórico B3LYP/6-311G(2d,p) em metanol para as estruturas I, II e III. ....	50
<b>Figura 12.</b> Comparação entre os espectros teóricos (monômeros e dímeros) obtidos e espectros experimentais para os compostos I, II e III.....	59
<b>Figura 13.</b> Superposição da estrutura docada (rosa) e co-cristalizada da amsacrina (verde) no sítio de clivagem do DNA- Topoisomerase II humana. ....	68
<b>Figura 14.</b> Superposição das estruturas ancoradas com amsacrina co-cristalizada (verde) a) 9-metoxiguatterfriesina (rosa), b)(R)- 6,6-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (laranja) e c) 4,5-dehidro-9-metoxiguatterfriesina (marrom).....	69
<b>Figura 15.</b> Interações no sítio para estrutura A) I, B)II e C) III.....	70
<b>Figura 16.</b> Fórmula estrutural para os compostos a) 9-metoxigatteriscina e b) 6,6a-diidrometoxiguadiscina.. ....	71
<b>Figura 17.</b> Energia livre de ligação para a 9-metoxigatteriscina (rosa) em comparação com o sítio da amsacrina (verde).....	72
<b>Figura 18.</b> Interações no sítio ativo para a 9-metoxigatteriscina. ....	73
<b>Figura 19.</b> Energia de ligação para a 6,6a-diidrometoxiguadiscina (rosa) em comparação ao sítio da amsacrina (verde).....	74
<b>Figura 20.</b> Interações no sítio ativo para 6,6a-diidrometoxiguadiscina.....	74

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADTV	AutoDock Vina
B3LYP	Becke, <i>three parameter</i> , Lee-Yang-Parr
DFT	Teoria do Funcional da Densidade ( <i>Density Functional Theory</i> )
HF	Hartree-Fock
H-K	Hohenberg-Kohn
HOMO	Orbital Ocupado de Maior Energia ( <i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> )
IV	Infravermelho
KS	Kohn-Sham
LUMO <i>Orbital</i> )	Orbital Desocupado de Menor Energia ( <i>Lowest Unoccupied Molecular</i>
MEPs	Mapa de Potencial Eletrostático ( <i>Molecular Electrostatic Potential Surface</i> )
NBO	Orbital de Ligação Natural ( <i>Natural Bond Orbitals</i> )
NLO	Orbitais Não Lineares ( <i>Nonlinear Orbitals</i> )
pós-HF	pós Hartree Fock
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMSD	Desvio médio quadrático padrão ( <i>Root Mean Square Deviation</i> )
TF	Thomas-Fermi
UV	Ultravioleta

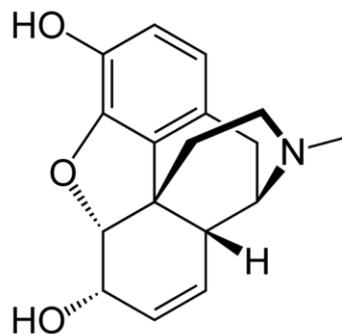
## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	14
1. OBJETIVOS .....	16
1.1. Geral.....	16
1.2. Específicos .....	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	17
2.1. Família <i>Annonaceae</i> .....	17
2.1.1. <i>Guatteria Friesiana</i> .....	19
2.2. Alcaloides aporfínicos .....	19
2.2.1. Alcaloides 7,7-dimetilaporfínicos.....	21
2.3. Estudo teórico de moléculas e vantagens do DFT .....	22
2.4. Cálculos de docking molecular e busca por novos fármacos .....	24
2.4.1. <i>O mecanismo do docking</i> .....	25
3. METODOLOGIA.....	26
3.1. Fundamentação teórica da metodologia .....	26
3.1.1. <i>Método Hartree-Fock</i> .....	26
3.1.2. <i>Teoria do Funcional da Densidade</i> .....	30
3.1.2.1. <i>Modelo Thomas-Fermi</i> .....	31
3.1.2.2. <i>Teoremas Hohenberg-Kohn</i> .....	34
3.1.2.3. <i>Equações de Kohn-Sham</i> .....	
3.2. Metodologia Computacional.....	39
3.3. Docking Molecular .....	39
3.4. Ensaio citotóxico.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
4.1. Estudos de 9-metoguatterfriesina, (R)-6,6a -dihidro-9-metoxiguatterfriesina e 4,5-dehidro-9-metoxiguatterfriesina. ....	42
4.1.1. Parâmetros geométricos.....	42

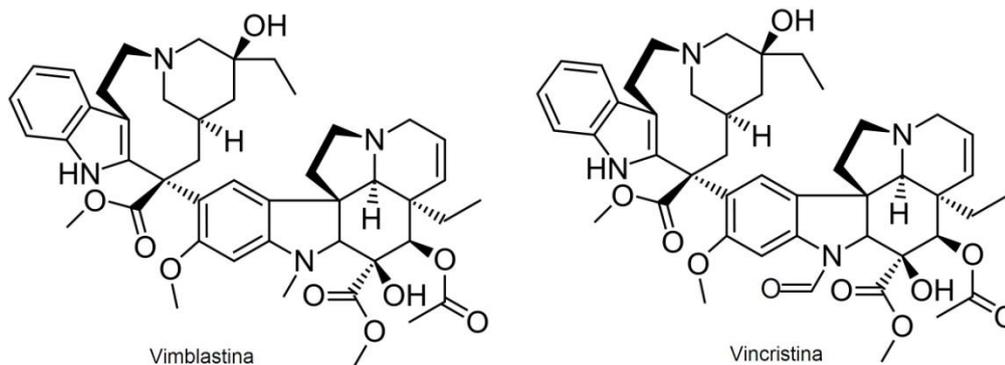
4.1.2.	Mapas de potencial eletrostático.....	45
4.1.3.	Análises HOMO e LUMO.....	47
4.1.4.	<i>Análises UV-VIS</i> .....	49
4.1.5.	<i>Análises IR</i> .....	52
4.1.6.	<i>Análises NBO</i> .....	59
4.1.7.	<i>Análises NLO</i> .....	65
4.1.8.	<i>Estudo de docking molecular</i> .....	67
4.1.9.	<i>Ensaio de citotoxicidade</i> .....	70
4.2.	Estudo de docking molecular para as moléculas 9-metoxiguateriscina e 6,6a-diidrometoxiguadiscina.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....		75
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		77

## INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é, muitas vezes, o único método farmacêutico de algumas comunidades. O uso deste recurso terapêutico no tratamento e até na cura de doenças graves não é novo: estima-se que a prática é tão antiga quanto a raça humana. Até hoje é comum encontrar feiras populares que dispõem da venda de plantas medicinais para produção de chás (MARCEL, 2002). As plantas possuem em sua constituição muitas substâncias que são, atualmente, a matéria prima de fármacos amplamente utilizados no tratamento de diversas doenças e até mesmo em pacientes com câncer (NETO *et al.* 2005; VIEGAS JR *et al.* 2006; SOUZA, 2018). Um exemplo é a muito conhecida morfina (Figura 1), utilizada em pacientes em estágio terminal de câncer devido ao seu forte poder analgésico (OKSMAN-CALDENTY, 2004). Além da morfina, destacam-se também a vincristina (Figura 2), usada em pacientes com leucemia linfoblástica aguda em diferentes tipos de quimioterapia, e a vimblastina, usada amplamente no tratamento de diferentes linfomas (WINK *et al.* 2005; CISTERMINO *et al.* 2001). O que estas três substâncias têm em comum é o fato de serem alcaloides, bases nitrogenadas naturais famosas por possuírem uma gama de utilidades farmacológicas e que por isso chamam bastante atenção.



**Figura 1.** Fórmula estrutural da morfina.



**Figura 2.** Fórmula estrutural da Vinblastina e da Vincristina.

Os alcaloides são compostos oriundos principalmente de metabólitos secundários de plantas, mas também podem ser derivados de fungos, bactérias e até mesmo de animais (DE ALMEIDA *et al.* 2005; PEREIRA *et al.* 2007). Sua fórmula basicamente é composta por nitrogênio, oxigênio, hidrogênio e carbono. Além de sua função anticâncer já citada também possuem propriedades antimicrobiana, antidepressiva, antimalárico, anticolinérgico, anestésico, vasodilatador, dentre muitas outras (NEWMAN, 2003; RAMADINHA *et al.* 2016; SCAZZOCCHIO *et al.* 2001). Estima-se que existem mais de 6000 alcaloides já identificados em mais de 4000 espécies de plantas, muitos deles ainda com utilidades desconhecidas e muitos desses podem estar presentes na região amazônica (CORDELL, 1981 *apud* BAVIATTI, 1994). Desta forma, devido a sua gama de características farmacêuticas e tendo em vista a quantidade de alcaloides já isolados que não possuem propriedades estruturais, eletrônicas, químicas e biológicas conhecidas, o estudo desses compostos ainda é um campo em expansão.

É neste âmbito que está inserida a química teórica computacional que, em conjunto com dados experimentais já obtidos (RMN, UV, IV e EM), torna possível através de cálculos teóricos quânticos uma descrição mais completa acerca da estrutura e do comportamento espectral dessas moléculas (BRANCHES *et al.* 2019; COSTA *et al.* 2018), e até mesmo prever e explicar mecanismos que experimentalmente são inviáveis. Através da matemática de modelos quânticos teóricos como a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e o emprego de softwares como o Gaussian, desenvolvido com o intuito de melhorar a nossa compreensão do mundo atômico/molecular, é possível obter dados que antes eram considerados impossíveis. A quântica em conjunto com o avanço computacional tornou viável observar comprimentos e ângulos de ligação entre átomos,

orbitais HOMO e LUMO e sua influência na reatividade das moléculas, bem como mapas de potencial eletrostático (MEPs) e o estudo de propriedades óticas não lineares das moléculas em questão, além de simular os dados espectrais obtidos experimentalmente. Em adição, a possibilidade de realização de simulações de mecanismos de interação enzima-substrato (TROTTE E OLSON, 2010), por meio da dinâmica molecular faz com que a química teórica se tornasse uma ferramenta poderosa no estudo desses metabólitos secundários.

Entretanto, estudos que combinem dados experimentais a dados quânticos teóricos a respeito de alcaloides ainda está em falta na literatura se comparado com o tanto de moléculas já catalogadas. Por isso, o presente estudo teve como objetivo caracterizar teoricamente (análises de comprimentos de ligação, MEPs, espectros teóricos de IV e UV, análises de HOMO/LUMO, NLO/NBO e estudo de docking molecular) alcaloides oriundos de planta da Amazônia, com o intuito de contribuir para a compreensão destas substâncias em nível molecular.

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1. Geral**

Prover uma descrição mais completa da estrutura, características espectroscópicas e propriedades farmacológicas de três alcaloides do tipo 7,7-dimetilaporfínicos oriundos de uma planta amazônica, através de cálculos DFT, docking molecular e ensaio citotóxico.

### **1.2. Específicos**

✓ Reproduzir os dados espectroscópicos experimentais dos alcalóides 9-metoxiguatterfriesina (I), (*R*)-6,6a-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (II) e 4,5-dehidro-9-metoxiguatterfriesina (III), através de cálculos teóricos em nível DFT, usando a função de base 6-311G(2d,p) e funcional de troca de correlação B3LYP.

✓ Modelar e caracterizar, em nível estrutural e eletrônico, as propriedades dos supracitados alcalóides.

✓ Realizar estudos de docking molecular com DNA-Topoisomerase II humana com a finalidade de avaliar a atividade biológica dos alcaloides estudados e prover comparação com ensaio citotóxico *in vitro*.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Família *Annonaceae*

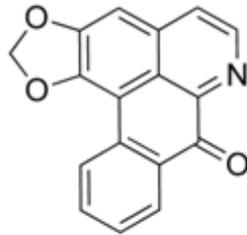
A família *Annonaceae* pertence à ordem Magnoliales sendo uma das maiores famílias compreendendo cerca de 2500 espécies distribuídas em 135 gêneros (CHATROU *et al.* 2004; VAN HEUSDEN, 1992). É geralmente considerada uma família natural e uma das mais primitivas famílias das Angiospermas ocorrendo principalmente em florestas de baixa altitude (VAN HEUSDEN, 1992). Tem predominância pantropical, ou seja, na região tropical de todos os continentes, e geralmente ocorre majoritariamente como árvores e arvoretas, e em pouquíssima proporção como lianas (CHATROU *et al.* 2004). Apesar de apresentar um grande número de gêneros, constitui a família mais homogênea e bem sucedida das Magnoliales, isso porque muitos dos seus gêneros possuem muitas espécies, merecendo destaque o gênero *Guatteria* com 250 espécies (VAN HEUSDEN, 1992).

Com relação aos gêneros e espécies presentes na família, na região Neotropical existem 40 gêneros e cerca de 900 espécies (CHATROU *et al.* 2004), já no Brasil consta 26 gêneros sendo sete endêmicos e cerca de 260 espécies (MAAS *et al.*, 2001; 2007). Dentre os gêneros citados para o Brasil, destacam-se: *Annona*, *Xylopia*, *Rollinia*, *Guatteria* e *Guatteriopsis*. Dentre esses, o gênero *Annona* destaca-se como um dos principais agregadores econômicos para a família, isso devido aos seus provenientes frutos comestíveis que são amplamente apreciados: *A. cherimolia* (cherimólia), *A. crassiflora* (marolo), *A. squamosa* (ata, fruta do conde ou pinha), *A. montana* (graviola da montanha), *A. muricata* (guanabana, graviola) e *A. reticulata* (condessa); e *Rollinia*, tais como: *R. mucosa* (biribá), *R. sylvatica* (araticum) e *R. deliciosa* (biribá) (MORZELLE, 2010).

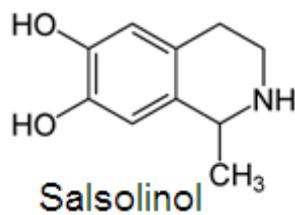
Na Amazônia, além dos frutos que agregam valor comercial, a família é considerada “cargueira” uma vez que suas cascas duras podem ser utilizadas como suporte de carga além de ser de suma importância para madeiras (SÁNCHEZ, 1997; MURILO & RESTREPO, 2000). Além disso, muitas anonáceas são utilizadas como plantas medicinais e muitos dos alcaloides isolados dessas plantas possuem atividades biológicas diferenciadas.

Referente à fitoquímica das anonáceas, a família caracteriza-se por quase todos os alcaloides isolados a partir dela possuírem esqueleto derivado do esqueleto isoquinolínico como, por exemplo, a liriodenina, berberina, sasolinol, dentre outros (Figura 3). Além dos alcaloides, estão presentes nas anonáceas muitas outras substâncias como carboidratos,

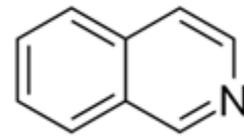
lipídeos, amidas, aminoácidos e proteínas. Algumas espécies de *Annona* estão sendo alvo de estudo devido a importância econômica e nutricional dos açúcares e lipídeos contidos nas suas sementes (LEBOUEF *et al.*1980).



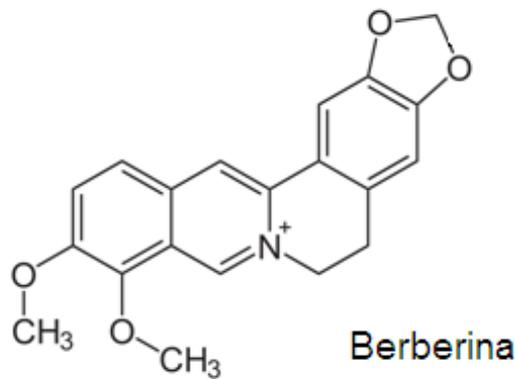
Liriodenina



Salsolinol



Isoquinolína



Berberina

**Figura 3.** Isoquinolína e alcalóides derivados de seu esqueleto.

### 2.1.1. *Guatteria friesiana*

É uma espécie de árvoreta que faz parte do gênero *Guatteria*, gênero da *Annonaceae* que possui o maior número de espécies, que varia de 3-10 m de altura e 4-10 cm de diâmetro e é conhecida pelo nome popular de envireira ou envira (Figura 4). Possui ramos jovens e pecíolos densamente cobertos com indumento de velutino de pêlos pequenos eretos (RIBEIRO *et al.* 1999).

Possui de 10-20 nervuras secundárias obscuras e é considerada rara com hábito de vertente e platô. Está presente tanto na Amazônia brasileira quanto colombiana (RIBEIRO *et al.* 1999; ERKENS *et al.*, 2007; MAAS *et al.*, 2007).

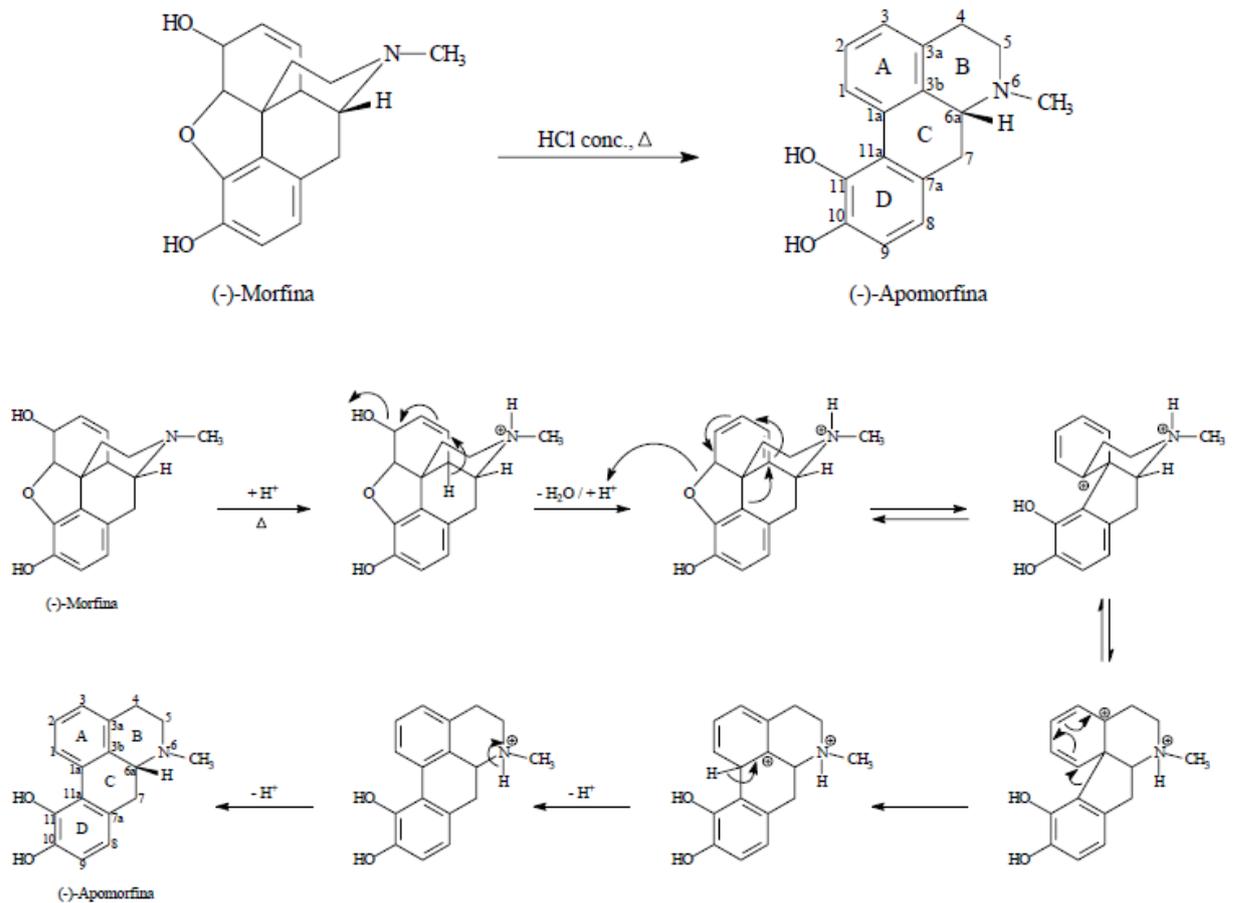


**Figura 4.** *Guatteria friesiana*. Fonte: [https://www.inaturalist.org/taxa/185510-Guatteria/browse\\_photos](https://www.inaturalist.org/taxa/185510-Guatteria/browse_photos)

## 2.2. Alcaloides aporfínicos

Os alcaloides aporfínicos fazem parte do grupo dos aporfinoídeos, um grupo que compreende cerca de 500 compostos isolados e identificados até o momento, e são os principais produtos biossintéticos de espécies de anonáceas como a *Guatteria friesiana* (WAECHTER *et al.* 1999; COSTA *et al.* 2016; CAVE *et al.* 1987; GUINAUDEAU *et al.*, 1982). São bases tetracíclicas que possuem um esqueleto muito semelhante ao da apomorfina, sintetizada a partir da morfina (Figura 5), que possivelmente teria originado o

termo aporfinoide (SHAMMA E GUINAUDEA, 1984). Neste trabalho a numeração utilizada é a mesma da oficial para a apomorfina, apenas os anéis A e B foram invertidos, os anéis C e D são os mesmos.



**Figura 5.** Síntese da apomorfina (COSTA, 2009).

Os alcalóides aporfínicos ou aporfíno são divididos em quatro subgrupos (SHAMMA E GUINAUDEAU, 1984):

- Os aporfínicos *sensu stricto* com esqueleto típico da estrutura da morfina (Figura 5) que exibem O-substituição apenas no anel A ou nos anéis A e D, geralmente são grupos OH, OCH<sub>3</sub> ou OCH<sub>2</sub>O. Esses alcaloides são também freqüentemente compostos oticamente ativos;
- Os desidroaporfínicos que são um subgrupo distinto dos aporfínicos *sensu stricto* pela adição de uma insaturação entre C6a e C7;

- *7-alquilporfínicos* em que um grupo alquil sempre se origina como uma metila substituinte, também contém um centro de insaturação, algumas vezes como um desidroaporfino, ou como um 6,6a-desidroaporfino, ou em alguns casos como 4,5,6,6a-tetradeshidroaporfino com uma aromaticidade total no anel B;
- E os *7-oxigenados* ou ocasionalmente *4,7-dioxigenados* que incluem alguns alcalóides com substituintes metilas geminais ou hidroxilas no C-7.

Os alcaloides aporfínicos são conhecidos pelas diversas atividades biológicas atribuídas a eles tais como: efeito citotóxico *in vitro* contra linhagens de células cancerígenas, atividade antiagregação plaquetária *in vivo*, ação vasodilatadora, atividade antiparasitária *in vitro*, atividade antimicrobiana (antibacteriana e antifúngica), antioxidante, larvicida e antiviral (PAULO *et al.* 1992; QUEIROZ *et al.* 1996; CHANG *et al.* 1998; MONTENEGRO *et al.* 2003; STÉVIGNY *et al.* 2005).

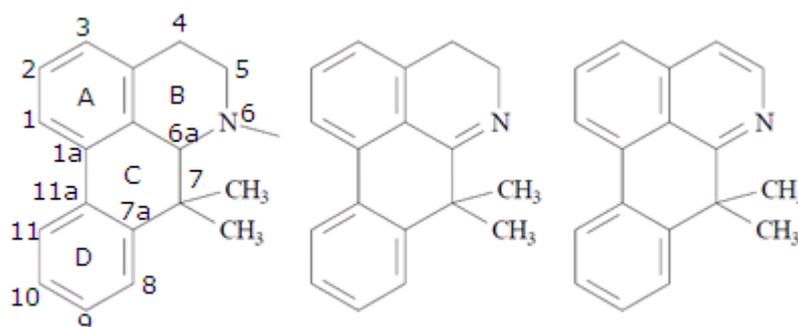
O alcaloide aporfino *sensu stricto* anonaína apresenta atividades antimicrobiana (PAULO *et al.* 1992), antitumoral (STÉVIGNY *et al.* 2005) e tripanomicina *in vitro* (QUEIROZ *et al.* 1996). A atividade antiagregação plaquetária *in vivo* tem sido atribuída aos alcaloides *7-hidroxi-desidrothalicsimidina*, *thalicsimidina*, *norpurpureina*, *lirinidina* e *N-metilasimilobina* (CHANG *et al.* 1998). A atividade leishmanicida foi determinada para os aporfínicos *sensu stricto* *xylopina*, *nornuciferina*, *cryptodorina* e *nornatenina* (MONTENEGRO *et al.* 2003).

Todos esses alcaloides citados possuem dois ou mais anéis aromáticos que podem influenciar nas suas características físico-químicas além de ser um fator importante no que se refere ao potencial bioativo dessas moléculas. Uma vez que a aromaticidade implica em planaridade, supõe-se que moléculas planares tem maior facilidade em adentrar o sítio ativo de enzimas como a DNA topoisomerase II humana (BRANCHES *et al.* 2019). Esse é, então, um dos motivos para o alcaloide *liriodenina*, um alcaloide oxoaporfínico planar, ter tantas atividades tais como leishmanicida *in vitro* (QUEIROZ *et al.* 1996), antitumoral (WU *et al.* 1993; STÉVIGNY *et al.* 2005) e antimicrobiana (KHAN *et al.* 2002; LÓPEZ *et al.* 2002; RAHMAN *et al.* 2005).

### 2.2.1. Alcaloides 7,7-dimetilaporfínicos

Dentro dos alcaloides aporfínicos existe um novo tipo de alcalóides denominados de *7,7-dimetilaporfínicos* (Figura 6) que, como o próprio nome diz, diferenciam-se dos demais alcalóides pela presença de duas metilas no carbono C7. Estes alcalóides foram

isolados apenas uma vez (COSTA *et al.* 2016) podem aparecer com uma, duas insaturações ou até mesmo com aromaticidade completa no anel B e podendo sofrer O-substituição do tipo OH e OCH<sub>3</sub> nos anéis A e D.



**Figura 6.** Esqueleto básico dos alcalóides 7,7-dimetilporfínicos (Costa, 2009).

### 2.3. Estudo teórico de moléculas e vantagens do DFT

Diante de uma gama de moléculas já catalogadas, com inúmeras propriedades ainda desconhecidas, e devido ao avanço da química teórica computacional dos últimos 30 anos, o auxílio de ferramentas computacionais tornou-se indispensável no avanço da área de química.

Ao digitar as palavras “DFT studies” e “molecules” no site periódico capes, você será redirecionado a uma quantidade aproximada de 89.400 resultados de trabalhos acadêmicos que relacionam estudos com variados dados teóricos sobre várias moléculas. Isso porque os métodos quânticos teóricos disponíveis, tais como o DFT e o Hartree-Fock, tornaram possível o desenvolvimento de programas e plataformas que possibilitam cálculos de otimização, energia de ligação, energia de adsorção, propriedades físico-químicas, descritores de reatividade, dentre muitos outros (SILVA, 2016; FAHIM E SHALABY, 2019; BRANCHES *et al.* 2019; PRASAD *et al.* 2019; COSTA *et al.*, 2019).

Para a comunidade científica, a pesquisa com abordagem teórica de moléculas já está consolidada, e seus frutos têm permitido desenvolver diversas áreas, como a farmacológica, estabelecer estratégias para aumentar a especificidade e desempenho de catalisadores e compreender mecanismos impossíveis de serem estudados experimentalmente (ABREU, 2004; YANG E AYERS, 2003). Todas essas informações

são em nível molecular e levam ao problema da correlação eletrônica, uma vez que é errado ignorar as interações eletrônicas em um sistema molecular; o termo correlação vem da estatística e significa que duas funções de distribuição não são independentes uma da outra. Métodos que não considerem a interação elétron-elétron e elétron-núcleo levam a resultados que necessitam de processos posteriores, como é o caso do método Hartree-Fock que descreve um conjunto de elétrons aproximado por um só determinante de Slater (LOWDIN, 1955). O método DFT, por outro lado, reduziu o problema de muitos elétrons a um funcional de energia exato da densidade eletrônica, partindo do pressuposto de que os elétrons estão distribuídos uniformemente no espaço. Por isso, a DFT tem atraído cada vez mais atenção no tocante a estudos teóricos de sistemas cada vez mais complexos (DUARTE, 2001) de forma que leva a quase cinco milhões de trabalhos numa busca pelo Google acadêmico.

Além de tratar do problema de múltiplos elétrons, a DFT é vantajosa por apresentar baixo custo computacional (o esforço computacional do DFT é na ordem  $N^3$  contra  $N^4$  para cálculos HF, onde  $N$  é o número de funções de base orbitalar) o que a coloca como preferência em relação aos demais métodos ou níveis de teoria. Há uma qualidade respeitável para cálculos em nível DFT no tocante a várias propriedades, incluindo geometrias, constantes de forças e potenciais de ionização em comparação com HF, desta forma a redução no tempo computacional é obtida com pouca ou até mesmo nenhuma deterioração das respectivas propriedades calculadas (BERNARDO, 2006).

Por isso, os resultados obtidos usando o DFT são uma melhoria sobre os obtidos em nível HF além de contemplar satisfatoriamente vários métodos pós-HF que incluem efeitos de correlação eletrônica tal como a teoria de perturbação de Moller-Plesset de segunda ordem (MP2) (BERNARDO, 2006). Além disso, a teoria tem sido amplamente utilizada para prever dados de espectroscopia como espectros infravermelho, ultravioleta-visível e ressonância magnética nuclear com ótima precisão e que servem, por exemplo, para confirmar dados experimentais obtidos para moléculas inéditas (BRANCHES *et al.* 2019; PRASAD *et al.* 2019; COSTA *et al.* 2019; COSTA *et al.* 2017; SIEVÄNEN *et al.* 2010).

## 2.4. Cálculos de docking molecular e busca por novos fármacos

Existe uma grande quantidade de medicamentos que podem ser utilizados de diversas formas no tratamento e na cura de diversas doenças. Contudo, a busca por novos fármacos que impliquem em menores efeitos colaterais e melhor eficácia contra quaisquer doenças é um campo que talvez nunca pare de crescer (CERA E PANCOTE, 2012). Aliado a isso, o auxílio de ferramentas computacionais tem se mostrado um contribuinte eficaz visto que pode reduzir em até 50 % tanto o custo quanto o tempo de pesquisa para essa busca (PHILLIPS *et al.* 2018).

Dentre essas ferramentas, destaca-se o *docking* molecular que proporciona a investigação de fármacos em potencial e as possíveis orientações que estes, por sua vez, podem assumir no interior do sítio ativo de macromoléculas. O processo de *docking* envolve dois passos: (1) predição da conformação, posição, orientação do ligante dentro dos sítios e (2) avaliação da afinidade de ligação. Desta forma, além de prever o sítio ativo de uma estrutura, permite elucidar as interações moleculares existentes entre receptor-ligante o que o caracteriza como forte ou fraco inibidor potencial (MORRIS *et al.* 2008; MENG *et al.* 2011).

Muitas ferramentas de *docking* não permitem que a macromolécula seja flexível, embora este seja um aspecto muito importante do reconhecimento molecular, uma vez que as estruturas não ficam estáticas no organismo *in vivo* (MURRAY *et al.*,1999). Para resolver este e outros problemas, a dinâmica molecular encontrou número crescente de aplicações em conjunto com o *docking* molecular, desde a preparação do alvo antes do encaixe, até a explicação da flexibilidade do receptor, efeitos de solvente, e ajuste induzido, ao cálculo de energias livres de ligação e classificação de ligantes ancorados (ALONSO, 2006). Isso porque a caracterização do comportamento de ligação desempenha um papel importante no desenho racional de fármacos, bem como para elucidar processos bioquímicos fundamentais (MORRIS *et al.*, 2008) .

Durante o processo de acoplamento, o ligante e a proteína ajustam sua conformação para alcançar um "melhor ajuste" geral e esse tipo de ajuste conformacional que resulta na ligação global é referido como "ajuste induzido". Esse ajuste induzido é resultado do chamado "método complexo relaxado" desenvolvido no laboratório de McCammon (LIN *et al.* 2002) que gera snapshots a partir da dinâmica molecular e tem sido aplicado para desenvolver novos inibidores da integrase do HIV (SCHAMES *et al.*, 2004). Desta forma,

o principal objetivo do *docking* é obter uma conformação otimizada para a proteína e o ligante além da orientação relativa entre a proteína e o ligante, para que a energia livre do sistema geral seja minimizada.

#### 2.4.1. O mecanismo do docking

Paralelo à busca por novos fármacos com menos efeitos colaterais possíveis, encontra-se uma ferramenta de mecânica molecular muito utilizada atualmente: o docking molecular. Trata-se de uma plataforma que calcula a energia livre de ligação de um ligante em uma macromolécula, num sítio ativo, visando formar um complexo estável (MENG *et al.* 2011). Existem muitos programas que fazem esse processo, dentre eles pode-se citar Amber, Charm, Discovery, Surflex e o AutoDock Vina (BARREIRO, 1997; WANG *et al.* 2010).

De forma resumida, um programa de docking permite inserir uma molécula pequena chamado de ligante no sítio ativo de um fármaco padrão, que normalmente já vem complexado na enzima de interesse. Esta ferramenta tem sido amplamente utilizada no ramo de química biológica e farmácia por apresentar boa acurácia com relação a seus resultados e servir de complemento na descrição completa de uma estrutura recém-descoberta (COSTA *et al.* 2019; BRANCHES *et al.* 2019).

Uma vez escolhido o sítio da enzima em questão, é feito um cálculo de varredura com as moléculas alvo de estudo, os novos fármacos em potencial. Este processo envolve fatores entálpicos e entrópicos considerando a flexibilidade do ligante e da proteína, o efeito do ambiente proteico na distribuição de cargas do ligante, e possíveis interações com moléculas de água presentes no meio, principalmente quando se refere ao organismo humano (MENG *et al.*, 2011).

O sucesso, ou não, dessa varredura é atribuído a dois componentes: o algoritmo de busca e a função de pontuação (scoring function). Os programas de docking molecular em geral funcionam trabalhando na busca da melhor configuração possível para o ligante no sítio (ligante flexível) e tentam simular um receptor flexível, independente do algoritmo utilizado. No AutoDock Vina (ADTV), programa utilizado para obtenção dos resultados deste trabalho, o cálculo usa um algoritmo que leva uma sucessão de etapas. Em cada etapa há uma mutação (uma perturbação aleatória da conformação) e uma otimização local usando o algoritmo de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (NOCEDAL E WRIGHT,

1999; TROTT E OLSON, 2010). O número de etapas envolvidas no cálculo é determinado de acordo com a complexidade do problema e cada etapa envolve muitas “avaliações” da função de pontuação. O número de avaliações em uma otimização local é guiado pela convergência (TROTT E OLSON, 2010).

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Fundamentação teórica da metodologia**

##### **3.1.1. Método Hartree-Fock**

O método Hartree-Fock também conhecido como método do campo autoconsistente é um modelo que considera cada elétron se move sob a influência de um potencial atrativo devido ao núcleo e a média das interações repulsivas dele com os elétrons restantes. Neste modelo, cada elétron é considerado como independente em um sistema multieletrônico e é descrito por uma função de onda própria (HARTREE, 1928).

A função total de um sistema eletrônico é determinada por meio de um procedimento iterativo, ou seja, as funções de onda de um elétron são melhoradas até que as funções de onda total de duas iterações consecutivas sejam idênticas (HARTREE, 1928).

A função de onda total de Hartree não apresentava anti-simetria em relação à troca de coordenadas espacial e de spin de dois elétrons quaisquer do sistema. Por isso, o método sofreu uma generalização por Slater e Fock (SLATER, 1930; FOCK, 1930) que considera o spin eletrônico e a anti-simetria da função de onda total imposta de acordo com o princípio de exclusão de Pauli. Esta generalização da teoria de Hartree levou o nome conhecido de método HF (SLATER, 1951).

No método HF define-se uma função de onda polieletrônica,  $\Psi$  para os estados estacionários que pode ser calculada, em princípio, pela resolução da equação de Schrödinger não relativista, que não considera o spin do elétron, de forma que:

$$H\Psi = E\Psi \quad (1)$$

Onde  $H$  é o hamiltoniano que contém os termos de energia cinética dos elétrons, a atração elétron-núcleo, as interações elétron-elétron e, no caso de moléculas, a repulsão entre os núcleos.

A teoria de HF é uma teoria aproximada que se baseia no método variacional o que significa que a energia total do sistema pode ser escrita como um conjunto de parâmetros variacionais,  $\lambda$ , e a energia total do estado fundamental pode ser calculada como o mínimo do funcional,  $E[\Psi(\lambda)]$ , ou seja,  $E^0 = \min E[\Psi(\lambda)]$  (ABREU, 2004).

Com relação a este hamiltoniano, a equação de Schrödinger pode ser resolvida na aproximação de Born-Oppenheimer, onde se considera os eletros num átomo ou molécula se movendo num campo de núcleo fixo, dando soluções  $\psi_i(r)$  (PISANA *et al.* 2007; COMBES *et al.* 1981). Ao considerar as coordenadas de spin, definem-se funções  $\chi_i(x)$  nas coordenadas de espaço e spin,  $x$ , como os produtos das orbitais espaciais  $\psi_i(r)$  pelas componentes de spin  $\sigma_i(\omega) = \alpha$  ou  $\beta$ , como:

$$\chi_i(X) = \Psi_i(r)\sigma_i(\omega) \quad (2)$$

O termo “orbitais-spin” é dado para  $\chi_i(X)$  e o termo “orbitais” é dado para  $\Psi_i(r)$ . As funções  $\chi_i(X)$  satisfazem a equações de autovalores nas quais os elétrons ocupam orbitais-spin  $\chi_i$  de energia  $\varepsilon_i$ , ou seja:

$$h\chi(X) = \varepsilon_i\chi_i(x) \quad (3)$$

Uma vez que as interações elétron-elétron são ignoradas é possível imaginar um sistema com N elétrons independentes com o hamiltoniano:

$$H = \sum_{i=1}^N h(i) \quad (4)$$

Assim, a equação (1) que se reduz a um conjunto de N equações semelhantes a (3), sendo  $\Psi$  o produto a seguir:

$$\Psi(x_1, x_2, \dots, \dots, x_n) = \chi_a(X_1)\chi_b(X_2) \dots \dots X_n(X_n) \quad (5)$$

$$E = \varepsilon_a + \varepsilon_b + \dots + \varepsilon_n \quad (6)$$

Dessa forma se pode verificar que está atendendo à condição de que as funções de onda sempre terão uma dependência temporal do tipo  $\chi_{(X,t)} = \chi(X)e^{i(\frac{E}{\hbar}t)}$ .

A função de onda total de um sistema com N elétrons será então uma combinação linear, ou a sobreposição dos orbitais atômicos de todas as possíveis permutações de pares

de elétrons, obedecendo à condição de que em cada troca de dois elétrons a função de onda muda de sinal, ou seja (FISCHER, 1987):

$$\Psi(x_1, x_2, \dots, x_k, \dots, x_2, x_1) = -\Psi(\dots, x_k, \dots, x_2, x_1)$$

Esses orbitais são chamados orbitais do tipo Slater uma vez que um modo de obter funções de onda anti-simétricas é construindo o chamado determinante de Slater da seguinte forma (SLATER, 1951):

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{bmatrix} \chi_a(X1) & \dots & \chi_n(X1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_a(Xn) & \dots & \chi_n(Xn) \end{bmatrix}$$

Que abreviadamente é dado como:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} |\chi_a(X1), \chi_b, \dots, \chi_n(Xn)| \equiv |\chi_a(X1)\chi_b(X2) \dots \chi_n(Xn)| \quad (7)$$

Num exemplo para um sistema de dois elétrons, como ocorre para o átomo de hélio, o determinante de Slater seguiria a forma:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{vmatrix} \chi_a(X1) & \chi_b(X1) \\ \chi_a(X2) & \chi_b(X2) \end{vmatrix} = \frac{1}{\sqrt{2}} |\chi_a(X1)\chi_b(X2) - \chi_b(X1)\chi_a(X2)| \quad (8)$$

O princípio de exclusão de Pauli segue a equação (8) quando se tenta encaixar dois elétrons no mesmo orbital-spin (MASSIMI, 2005). Além disso, um determinante de Slater pode ser usado como uma função de onda de um sistema com N elétrons independentes que é apropriada a um hamiltoniano  $H = \sum_i^N h(i)$ . O que para o estado fundamental seria:

$$(E_0) = (\Psi_0 | H | \Psi_0) = \int \Psi_0 H \Psi_0 d\tau \quad (9)$$

$$He = -\sum_1^N \frac{1}{2} \nabla_1^2 - \sum_i^N \sum_A^N \frac{Za}{|r_i - R_A|} + \sum_i^N \sum_{k>i}^N \frac{Za}{|r_k - k_l|} = T + Vne + Vee \quad (10)$$

Onde  $d\tau$  é o elemento de volume das coordenadas x, y e z de espaço e spin de todos os elétrons. A equação (10) pode ser escrita da seguinte forma:

$$He = -\sum_1^N h(i) + \sum_i^N \sum_{k>i}^N \frac{1}{|r_k - k_l|} = H^{mono} + Vee \quad (11)$$

Na equação (11)  $H^{mono}$  é a soma de operadores monoelétrônicos  $h(i)$ ,  $eVee$  é o operador que representa as interações elétron-elétron — é uma soma de operadores de dois

elétrons. Desta forma, é possível escrever o hamiltoniano para um sistema de N elétrons e M núcleos como a soma de operadores de Fock (EDWARDS E ZERNER, 1987):

$$H = \sum_{i=1}^N f(i)$$

Onde as funções orbitais-spin  $\chi_a(x)$  são soluções para as equações de Hartree-Fock da forma:

$$f\chi_a = \varepsilon_a\chi_a \quad a = 1, 2, \dots, n$$

É preciso distinguir se a molécula ou átomo tem suas camadas completas ou não, ou seja, se é paramagnético ou diamagnético. Para elementos paramagnéticos usa-se a versão não restrita do método HF (UHF, *unrestricted Hartree-Fock*). Para elementos diamagnéticos o estado é singlete e cada um de seus orbitais (espaciais) possuem dois elétrons de spins opostos. Para o último, usa-se a versão restrita do método HF (RHF, *restricted Hartree-Fock*) (AMOS E SNYDER, 1964; EDWARDS E ZERNER, 1987). A energia da versão restrita é dada por:

$$E_{HUF} = \sum_{a=1}^{OSOC} haa + \frac{1}{2} \sum_{a,b=1}^{OSOC} (Jab - Kab) \quad (12)$$

O uso do método restrito implica em orbitais espaciais duplamente ocupados, para isso:

$$E_{RHF} = 2 \sum_{a=1}^{odoc} haa + \sum_{a,b=1}^{odoc} (2Jab - Kab) \quad (13)$$

Para efeitos de cálculo computacional convém usar notação matricial. Pode ver-se que a expressão (13) se pode escrever em notação matricial sob a forma  $(F - \varepsilon S)C = 0$ , ou:

$$FC = \varepsilon SC \quad (14)$$

Em que C é a matriz cujas colunas são as orbitais moleculares de coeficientes  $C^a = (C_p^a)$ , F e S são as matrizes de Fock e de sobreposição de componentes  $F_{pq}$  e  $S_{pq}$ , respectivamente. A forma (14) não é, no entanto, muito conveniente, por não ter a forma simples de uma equação de valores próprios (a base de C não é ortogonal). Então a equação (14) se torna numa equação da seguinte forma:

$$F' C' = \varepsilon C' \quad (15)$$

### 3.1.2. Teoria do Funcional de Densidade

A teoria do funcional de densidade (DFT, *density functional theory*) surgiu há alguns anos como uma alternativa a métodos de estrutura eletrônica convencional de *ab initio* molecular e tem sido amplamente utilizada devido ao baixo esforço computacional que exige em comparação a métodos HF. O baixo esforço computacional vem do conceito de densidade de probabilidade eletrônica na qual a teoria está firmada. É por isso que a DFT pode ser utilizada em cálculos de moléculas de 100 ou mais átomos num tempo significativamente menor do que os correspondentes obtidos com métodos HF. Como exemplo desses métodos pós-HF temos Interação de Configuração (CI), a Teoria de perturbação Moller-Plesset (MP2, MP3, MP4, etc), Coupled-cluster (CC) e o Campo multiconfiguracional autoconsistente (MCSCF).

O conceito básico por trás da DFT é que, embora a função de onda não tenha um significado físico, ela pode ser definida em termos de densidade eletrônica,  $\rho$  (ZIEGLER, 1991). Em um sistema de N elétrons,  $\rho(r)$  denota a densidade eletrônica total com valor bem definido em um ponto do espaço  $r$ . Sendo representada de forma (SZABO E OSTLUND, 2012):

$$\rho(r) = \sum_i n_i |\Psi_i(r)|^2 \quad (16)$$

Onde,

$$\rho(r) = \sum_i^{OC} n_i |\Psi_i(r)|^2 \quad (17)$$

$$\int \rho(r) dr = N \quad (18)$$

A densidade eletrônica no ponto de coordenadas  $r$  está associada ao orbital molecular  $\psi_i(r)$  supostamente ocupada por  $n_i$  elétrons. A densidade eletrônica total será o somatório estendido a todas as orbitais ocupadas e a integração da função densidade eletrônica para todo o espaço da molécula dá o número total de elétrons.

O conceito de um funcional de densidade era a base de alguns modelos aproximativos com o método Thomas-Fermi (FERMI, 1927; THOMAS, 1927) e o método  $X\alpha$  (SLATER, 1930), mas só em 1964 foi legitimado que a energia e todas as outras propriedades eletrônicas são unicamente determinadas pela densidade eletrônica (HOHENBERG E KOHN, 1964). Hohenberg e Kohn forneceram os fundamentos da DFT

moderna e mostraram que os modelos baseados nela devem ser vistos como uma aproximação exata (DUARTE, 2001). Os dois teoremas mostram que existe um funcional de energia exato da densidade eletrônica  $E[\rho]$  e um princípio variacional exato para este funcional, semelhante a :

$$\delta\{E_{TDF}[\rho] - \mu N(\rho)\} = 0 \quad (19)$$

No ano seguinte, em 1965 surge o método KS, no qual Kohn e Sham propuseram uma forma de contornar o problema de se encontrar o funcional de energia exato (KOHN E SHAM, 1965) e desde então a DFT tem se popularizado muito sendo aplicada em vários programas de modelagem molecular bem como o programa Gaussian utilizado neste trabalho.

### 3.1.2.1. Modelo Thomas-Fermi

Para compreender a DFT, é preciso entender o modelo de Thomas-Fermi (FERMI, 1927; THOMAS, 1927) uma vez que esse é o modelo precursor da DFT que é conhecida hoje. Nesse modelo, utiliza-se a densidade eletrônica  $\rho$ , que é definida em três dimensões ao invés de utilizar funções de onda que possuem  $3N$  coordenadas. Desta forma, o número de integrais para a descrição de um sistema foi reduzido e, conseqüentemente, o custo computacional também foi reduzido.

O modelo Thomas-Fermi está firmado no pressuposto que os elétrons estão uniformemente distribuídos no espaço e, partindo de argumentos estatísticos para aproximar a distribuição dos mesmos, foi desenvolvido o funcional de energia TF. O modelo TF considera um sistema multieletrônico, que pode ser uma molécula, superfície metálica ou qualquer agrupamento de átomos, como um gás de Fermi (gás composto por partículas denominadas de férmions que não interagem entre si e férmion é qualquer partícula que obedecem ao princípio da exclusão de Pauli) sujeito à energia potencial resultante dos todos os núcleos (PARR E YANG, 1989).

Desta forma, para um elemento de volume  $\Delta V$ , considerando o átomo em seu estado fundamental, podemos definir um volume de espaço de momento esférico até o momento Fermi  $p_f$  para a partícula de forma que:

$$V_f = \frac{4}{3}\pi p_f^3(\vec{r}) \quad (20)$$

Na qual  $\vec{r}$  é um ponto em  $\Delta V$ . O correspondente volume de fase para o conjunto de partículas do sistema considerado é definido como:

$$\Delta V_{ph} = V_f \Delta V = \frac{4}{3} \pi p_f^3(\vec{r}) \Delta V \quad (21)$$

Os elétrons que ocupam o espaço  $\Delta V_{ph}$  estão distribuídos uniformemente em dois elétrons por  $h^3$  do volume considerado, onde  $h$  é a constante de Planck. Então o numero de elétrons pode ser descrito como:

$$\Delta N_{ph} = \frac{2}{h^3} \Delta V_{ph} = \frac{8\pi}{3h^3} p_f^3(\vec{r}) \Delta V \quad (22)$$

O número de elétrons em  $\Delta V$  é definido como produto da densidade eletrônica, ( $\rho$ ) ou ( $\vec{n}$ ), pelo volume do sistema:

$$\Delta N = n(\vec{r}) \Delta V \quad (23)$$

Aplicando na equação (22):

$$(\vec{n}) = \frac{8\pi}{3h^3} p_f^3(\vec{r}) \quad (24)$$

A fração de elétrons em  $\vec{r}$  que possuem momento entre  $p$  e  $p + dp$ , ou seja, variando infinitesimalmente  $p$ , pode ser avaliado por elétron da seguinte forma:

$$F_{\vec{r}}(p) dp = \frac{(d\vec{n}/dp)}{2\vec{n}} = \frac{(dV_f/dp)}{\vec{n}} = \frac{4\pi p^2 dp}{\frac{4}{3}\pi p_f^3(\vec{r})} \quad (25)$$

Usando a expressão clássica da energia cinética de uma partícula, tomando a massa do elétron, variando em  $dp$ , a densidade de energia cinética de uma fração de um volume de elétrons pode ser obtida como:

$$t(\vec{r}) = \int_0^{p_f} \frac{p}{2m_e} n(\vec{r}) F_{\vec{r}}(p) dp \quad (26)$$

Substituindo as (24) e (25) e tendo que o momento de Fermi é dado por  $p_f = \sqrt{2mE_F}$  (onde  $E_F = \frac{h^2}{2m\pi^2} \left(\frac{3\pi^2 N}{V}\right)^{\frac{2}{3}}$ ) a energia cinética por volume, ou a densidade de energia cinética é definida:

$$t(\vec{r}) = C_F [n(\vec{r})]^{\frac{5}{3}} \quad (27)$$

Integrando a energia cinética por unidade de volume  $t(\vec{r})$  por todo o espaço ( $d^3r$ ) obtêm-se a energia cinética total dos elétrons que não interagem (férmions que não interagem)

$$T = \int t(\vec{r}) d^3r, C_F = \frac{3}{10} (3\pi^3)^{2/3} = 2.871 \quad (28)$$

Substituindo na equação (27) a seguinte expressão para energia cinética para elétrons (férmions) no modelo Thomas-Fermi é obtida:

$$T = C_F \int [n(\vec{r})]^{5/3} d^3r \quad (29)$$

Na qual o limite  $\Delta V \rightarrow 0$ , com  $n(\vec{r}) = \Delta N / \Delta V$  finito, foi tomada para dar uma integração em vez de um somatório. A expressão (29) é o funcional de energia cinética de Thomas-Fermi citado anteriormente, o qual Thomas e Fermi ousaram aplicar aos elétrons nos átomos em sistemas complexos.

A expressão (29) realiza a aproximação da energia cinética em termos da densidade eletrônica  $n(\vec{r})$ , também representada por  $\rho(r)$ , e partindo desta definição é possível montar um funcional da energia em termos da densidade eletrônica. A energia total é dada pela soma da energia cinética e energias potenciais:

$$E_{[\rho]} = T + U_{eN} + U_{ee} \quad (30)$$

Na qual:

$$U_{eN} = \int \rho(r) V_N(\vec{r}) d^3r \quad (31)$$

A equação (31) é a energia potencial devido à atração que o núcleo carregado positivamente exerce sobre os elétrons:

$$U_{ee} = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_1 - r_2} d^3r_1 d^3r_2 \quad (32)$$

Substituindo as expressões (29), (32) e (31) na expressão (30) obtêm-se a descrição da energia total em termos de  $\rho(r)$ :

$$E_{TF[\rho]} = C_F \int [n(\vec{r})]^{5/3} d^3r + \int \rho(r) V_N(\vec{r}) d^3r + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_1 - r_2} d^3r_1 d^3r_2 \quad (33)$$

O defeito dessa teoria é que ela não prevê a ligação entre átomos, o que faria com que deixassem de existir moléculas e sólidos, o que é resultado da aproximação da energia

cinética de forma tão grosseira, além dos erros na energia de troca e pela completa negligência da correlação de elétrons (PARR E YANG, 1989). Outra desvantagem paralela a isso é a descrição simplificada das interações elétron-elétron, que são tratadas classicamente de forma que não leva em conta fenômenos quânticos como a interação de troca. Esses problemas são contornados anos depois na teoria do funcional de Kohn-Sham (KS) (KOHN E SHAM, 1965).

### 3.1.2.2. Teoremas Hohenberg-Kohn

Embora a DFT tenha sido em parte fruto da teoria de Thomas e Fermi, ela foi primeiramente colocada em uma base teórica sólida no contexto de dois teoremas elaborados por Kohn e Hohenberg (teoremas H-K) (KOHN E SHAM, 1965).

Hohenberg e Kohn (1964) mostraram através de dois teoremas que, a partir da densidade eletrônica do sistema no estado fundamental, é possível obter a energia do estado fundamental de maneira exata. O primeiro teorema comprova que as propriedades de estado fundamental de um sistema de muitos elétrons são unicamente determinadas através da densidade eletrônica ou densidade de carga  $\rho(\mathbf{r})$  dependente de três coordenadas espaciais.

A energia do estado fundamental e a função de onda do estado fundamental são determinadas pela minimização do funcional:

$$E[\psi] = \frac{\langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle}{\langle \psi | \psi \rangle}, \text{ onde } \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle = \int \psi^* \hat{H} \psi dx \quad (34)$$

Isso implica que cada medida de energia fornece um autovalor de  $\hat{H}$  onde  $E[\psi] \geq E_0$ , ou seja, a energia mínima será maior que a verdadeira energia do estado fundamental. Em um sistema com N elétrons o potencial externo  $v(r)$  conserta o hamiltoniano e dessa forma N e  $v(r)$  determinam todas as propriedades do estado fundamental. No entanto, no lugar do número de elétrons e do potencial externo, o primeiro teorema de H-K torna legítimo o uso da densidade eletrônica  $\rho(\mathbf{r})$  ou  $n(\vec{r})$  como variável básica e diz que *a densidade eletrônica do estado fundamental de um sistema de muitos elétrons é determinada de maneira unívoca, a menos de uma constante aditiva, pelo potencial externo* (PARR & YANG, 1989).

O primeiro teorema tem como consequência fundamental a definição da densidade eletrônica  $\rho$ , que determina o número de elétrons com  $\rho(r)$  encontrando o estado fundamental da função de onda  $\psi$  e todas as demais propriedades do sistema. Por outro lado, dois valores diferentes de  $v(r)$  e  $\psi$  não fornecem o mesmo  $\rho$  para seus estados fundamentais. Assim podemos expressar a equação (33) em dependência de  $v(r)$  em termos de  $\rho$  da seguinte maneira:

$$E_v[\rho] = T_{[\rho]} + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho]$$

$$E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + F_{HK}[\rho] \quad (35)$$

Com,

$$F_{HK}[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (36)$$

O termo  $V_{ee}[\rho]$  referente ao potencial de repulsão elétron-elétron tem como componentes:

$$V_{ee}[\rho] = J[\rho] + \text{termo não clássico} \quad (37)$$

O termo  $J[\rho]$  refere-se a repulsão clássica dado por  $J[\rho] = \frac{1}{2} \iint \frac{1}{r_{12}} \rho(r_1)\rho(r_2)dr_1dr_2$  e o termo não clássico refere-se à uma quantidade muito importante, que antes era desconsiderada no modelo Thomas-Fermi, a energia de troca e correlação.

O segundo teorema de H-K define uma energia funcional para o sistema e prova que a densidade eletrônica correta do estado fundamental minimiza essa energia funcional. Baseado no princípio variacional da energia, o segundo teorema diz que *para uma tentativa de densidade eletrônica  $\check{\rho}(r)$ , onde  $\check{\rho}(r) \geq 0$  e  $\int \check{\rho}(r)dr = N$ , a energia total do sistema será sempre maior ou igual a energia exata do sistema, ou seja  $E_0 \leq E_v[\check{\rho}]$ , onde  $E_v[\check{\rho}]$  é o funcional de energia da equação (35). De acordo com o primeiro teorema  $\check{\rho}(r)$  determina seu próprio  $\check{v}(r)$ ,  $\check{H}$  e função de onda  $\check{\psi}$ . A função de onda, por sua vez, pode ser usada como uma função tentativa para um sistema com potencial externo  $v$ . De acordo com o segundo teorema tem-se (HOHENBERG E KOHN, 1964):*

$$E_0 = E_v[\rho] = F_{HK}[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr \leq E_v[\check{\rho}] = F_{HK}[\check{\rho}] + \int \check{\rho}(r)v(r)dr \quad (38)$$

### 3.1.2.3. Equações de Kohn-Sham

A equação de Kohn-Sham pode ser vista como sendo a equação de Schrodinger para um sistema fictício composto de partículas que não interagem entre si, de tal forma que a densidade gerada seja exatamente a do sistema real original com partículas que interagem entre si.

Para um sistema de muitos elétrons o estado fundamental de energia pode ser obtido a partir do mínimo da energia do funcional:

$$E[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + F[\rho] \quad (39)$$

Com:

$$F[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (40)$$

A densidade do estado fundamental é a densidade que minimiza  $E[\rho]$ , partindo do pressuposto que o número de elétrons por unidade de volume é a densidade eletrônica

$$N = N[\rho(r)] = \int \rho(r)dr \quad (41)$$

Pode-se inserir essa condição pelo método de Lagrange, onde a densidade eletrônica do estado fundamental deve satisfazer o seguinte princípio variacional

$$\delta\{E[\rho] - \mu[\int \rho(r)dr - N]\} = 0 \quad (42)$$

Com:

$$\mu = \frac{\delta E[\rho]}{\delta p(r)} = v(r) + \frac{\delta F[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (43)$$

Neste caso,  $\mu$  é o multiplicador de Lagrange e se refere ao potencial químico. Esse funcional tem como estrutura base o modelo Thomas-Fermi que consiste em uma aproximação das formas da energia cinética  $T[\rho]$  e potencial de repulsão eletrônica  $V_{ee}$ , no entanto essa aproximação impõe limitações a ele. Por isso, Kohn e Sham propuseram a introdução de orbitais no funcional de energia cinética, dessa forma poderia ser computado de modo simples, mas com uma boa precisão, deixando uma pequena correção residual que é tratada separadamente (PARR E YANG, 1989). É conveniente utilizar a fórmula exata da energia cinética para o estado fundamental:

$$T_s = \sum_i^N n_i \left\langle \psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i \right\rangle \quad (44)$$

Na equação (44),  $\psi_i$  não é uma função de onda, mas sim o spin-orbital e  $n_i$  os números de ocupação (número partículas que ocupam um determinado estado quântico), onde de acordo com o princípio de Pauli,  $0 \leq n_i \leq 1$ . Segundo os princípios dos teoremas de Hohenberg-Kohn,  $T$  é um funcional da densidade eletrônica total que é dada por:

$$\rho(r) = \sum_i^N n_i \sum_s |\psi_i(r, s)|^2 \quad (45)$$

Para um sistema interativo, existem infinitos termos para as equações (44) e (45), entretanto Kohn e Sham mostraram um termo que poderia resolver o problema assumindo  $n_i = 1$  para  $N$  orbitais e a representação da energia cinética se torna válida para a função de onda determinante que descreve elétrons não interativos, onde se tem:

$$T_s[\rho] = \sum_i^N \left\langle \psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i \right\rangle \quad (46)$$

Onde:

$$\rho(r) = \sum_i^N \sum_s |\psi_i(r, s)|^2 \quad (47)$$

O que é válido para a função de onda determinante que descreve elétrons não interativos:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \det[\psi_1 \psi_2 \psi_3 \dots \psi_N] \quad (48)$$

E

$$T_s[\rho] = \left\langle \Psi \left| \sum_i^N \left( -\frac{1}{2} \nabla^2 \right) \right| \Psi \right\rangle = \sum_i^N \left\langle \psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i \right\rangle \quad (49)$$

Na fórmula (49),  $\psi_i$  se refere aos  $N$  estados referentes aos autovalores da função de onda. Entretanto a energia cinética definida  $T_s[\rho]$  continua não sendo o exato funcional da energia cinética que foi idealizado no modelo Thomas-Fermi. A fim de ter uma única decomposição em termos de orbitais que fornecessem um único valor de  $T_s[\rho]$ , Kohn e Sham propuseram que  $T[\rho]$  fosse o funcional de cinética puro e exato de um sistema em que os elétrons não interagissem, desta forma a teoria acaba sendo de partículas independentes (PARR E YANG, 1989; KOHN E SHAM, 1965). Para isso é necessário invocar o funcional  $F[\rho]$  (42) de modo que:

$$F[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (50)$$

Com:

$$E_{xc}[\rho] = T[\rho] - T_s + V_{ee}[\rho] - J[\rho] \quad (51)$$

Assim, o funcional  $E_{xc}[\rho]$  reflete a diferença entre  $T[\rho]$  e  $T_s$ , refletindo a diferença entre o termo calculado e o termo puro (que se refere ao estado fundamental). Aplicando tal premissa na equação (43):

$$\mu = v_{\text{eff}}(r) + \frac{\delta T_s[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (52)$$

Na qual  $v_{\text{eff}}(r)$  é o potencial efetivo de Kohn-Sham, que é definido por:

$$v_{\text{eff}} = v(r) + \frac{\delta J[\rho]}{\delta \rho(r)} + \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(r)} = v(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} dr' + v_{xc}(r) \quad (53)$$

onde  $v_{xc}$  é o potencial de troca de correlação e é dado por

$$v_{xc}(r) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (54)$$

O potencial efetivo possui uma densidade eletrônica que satisfaz a equação (52) pela simples relação de  $N$  elétrons:

$$\left[ -\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{\text{eff}}(r) \right] \psi_i(r) = \varepsilon_i \psi_i \quad (55)$$

$$\rho(r) = \sum_i^N \sum_s |\psi_i(r, s)|^2 \quad (56)$$

Esse conjunto de equações trabalha de forma autoconsistente, onde a partir de uma  $\rho$  tentativa é obtido um  $v_{\text{eff}}$  (53) que aplicado nas equações (55) e (56) geram uma nova  $\rho(r)$ , onde um valor ideal que satisfaça as condições (valor da convergência) é utilizado na equação (39) computando-se assim a energia total mínima do sistema em questão. Todas essas equações de Kohn-Sham deram base à teoria do funcional de densidade (Duarte, 2001). Para sistemas multieletrônicos o aspecto de suma importância é a aplicação de funcionais de troca e de correção como os expressos nas equações (50), (51), (53) e (54).

O funcional mais utilizado atualmente é utilizado neste trabalho, o funcional B3LYP o qual tem três parâmetros de Becke e mais outros três de Lee, Yang e Parr:

$$E_{xc}^{B3LYP} = E_{xc}^{LDA} + a_0(E_X^{HF} - E_X^{LDA}) + a_x(E_X^{GGA} - E_X^{LDA}) + a_c(E_C^{GGA} - E_C^{LDA})$$

No qual  $a_0=0.20$ ,  $a_x=0.72$  e  $a_c=0.81$ ,  $E_X^{HF}$  é o funcional de troca e correlação de Hartree-Fock,  $E_X^{GGA}$  é o funcional de troca de Axel Becke (Kohn & Becke, 1996) e  $E_C^{GGA}$  é o funcional de correlação eletrônica de C.Lee, Weitao Yang e Robert Parr (PARR E YANG, 1989; KOHN, BECKE E PARR, 1996).

### 3.2. Metodologia Computacional

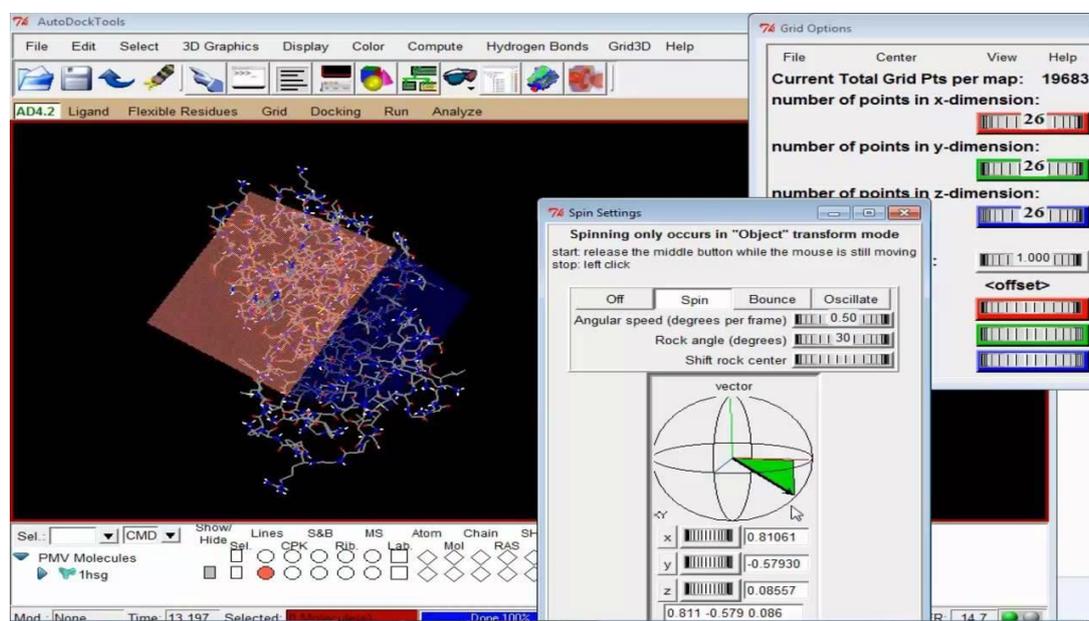
Os cálculos quânticos foram realizados em PC INTEL Quadcore™ PC (8 GB RAM) usando plataforma Debian LINUX (versão 5.0) e o software Gaussian 09 (Frisch *et al.* 2009). Os cálculos de otimização geométrica foram realizados a nível DFT usando funcional B3LYP e a função de base 6-311G (2d,p). Os espectros UV-Vis teóricos foram calculados usando as respectivas bases para cada alcaloide a nível TD-DFT. Os cálculos NBO (Natural Bond Orbitals) e de NLO (Non Linear Optics) foram realizados nas mesmas bases. Às atribuições das bandas teóricas calculadas com as bandas IV-FT obtidas experimentalmente foram realizadas através do da opção de animação oferecida pelo software Gaussian, o qual possibilita a apresentação visual dos modos vibracionais e pelo cálculo do potencial de distribuição de energia provido pelo software VEDA4 (Jamroz, 2004).

### 3.3. Docking Molecular

Para realizar um estudo de docking molecular é necessário ter em mente a enzima de interesse onde se vai fazer o cálculo de varredura. Normalmente é possível obter uma estrutura receptora complexada com um fármaco padrão no repositório internacional/banco de dados *Protein Data Bank* (PDB: <http://www.rcsb.org/pdb/>). A palavra “docking” em inglês significa encaixe e é disso que se trata o mecanismo do docking: uma busca pela configuração de menor energia para uma molécula que encaixe num determinado sítio de uma macromolécula. Esse sítio é determinado a partir de um processo chamado padronização (MENG *et al.* 2011).

O fármaco padrão geralmente já vem complexado com a enzima em questão e seu sítio foi determinado experimentalmente a partir de alguma técnica como cristalografia de

raios X ou espectroscopia de RMN, mas também pode derivar da construção de modelagem de homologia. No processo de padronização, são determinadas as coordenadas de gridbox que melhor abrangem o sítio do fármaco padrão para que nesse mesmo sítio seja encaixado o novo ligante, a molécula alvo de estudo. Uma vez determinadas as coordenadas do gridbox (Figura 7), o ligante padrão é removido e depois reinserido no sítio utilizando essas mesmas coordenadas, num processo conhecido como *redocking*, e um valor de RMSD é calculado a fim de validar o grid. Um valor de desvio até 2 é aceitável (KIRCHMAIR *et al.*, 2008). Após o processo de *redocking* a substância de estudo pode ser inserida no sítio do mesmo gridbox pré-determinado e a energia livre de ligação é obtida.



**Figura 7.** Processo de determinação do grid no AutoDock Tools.

A estrutura cristalina da DNA topoisomerase II humana complexada com DNA (Topo II-DNA) e amsacrina (WU *et al.* 2013) foi obtida no site Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>) sob o código 4G0U. Essa enzima foi tratada no programa *Visual Molecular Dynamics* (VMD), onde foram retiradas as moléculas de água existentes no arquivo. Após isso, utilizando o software *AutoDock Tools* (ADT) (HUEY; MORRIS; FORLI, 2012) foi feito o *gridbox*, área onde é realizado o cálculo em que o programa busca a menor energia de ligação entre o ligante e o sítio ativo da macromolécula (TROTT; OLSON, 2010). O *gridbox* utilizado foi o seguinte (tabela 1):

**Tabela 1.** Coordenadas e dimensões do *gridbox* para o arquivo 4G0U.

<b>4G0U</b>	<b>X</b>	<b>Y</b>	<b>Z</b>
<b>COORDENADAS</b>	27,194	98,611	32,333
<b>DIMENSÕES</b>	16 Å	18 Å	16 Å
<b>RMSD</b>	1,0178 Å		

Uma vez obtidos as melhores coordenadas do *gridbox*, as mesmas foram inseridas individualmente no software *AutoDockVina* (ADV) (TROTT; OLSON, 2010), assim como o arquivo da enzima e do ligante co-cristalizado que são separados anteriormente no tratamento das enzimas, para um processo de sobreposição chamado de redocking. O valor de RMSD indica se há uma boa sobreposição e valores até 2 Å são aceitáveis, o valor obtido foi de 1,0178 que gera uma confiabilidade nas coordenadas do *gridbox*. A partir disso, pôde-se realizar os cálculos com os alcalóides 7,7-dimetilporfínicos no processo de docking.

### 3.4. Ensaio citotóxico

Apesar de este trabalho ser de cunho teórico, alguns dados experimentais foram obtidos exclusivamente para esse trabalho. Nesse contexto, foram realizados ensaios citotóxicos para os alcalóides I, II e III. Os ensaios foram feitos pelos professores colaboradores Daniel Bezerra e Milena Soares da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz-BA), e a metodologia utilizada foi a seguir.

HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), HL-60 (leucemia promielocica humana aguda), K-562 (leucemia mielogica humana crica), B16-F10 (melanoma de murganho) foram obtidas da American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, EUA). Isolaram-se células mononucleares de sangue periférico primário (PBMC) utilizando o gradiente de densidade padrão de Ficoll a partir de sangue heparinizado recolhido de doadores saudáveis com o consentimento informado (# 031019/2013 / CEP-FIOCRUZ / IGM). As células foram cultivadas como descrito anteriormente (SANTOS *et al.* 2017) e um kit de coloração de microplasma (Sigma-Aldrich Co.) foi usado para validar o uso de células livres de contaminação. A citotoxicidade foi medida usando o ensaio de alamar blue (AHMED *et al.* 1994) e foi realizada conforme descrito por Santos *et al.* (SANTOS *et*

al. 2017). Os compostos foram adicionados a cada poço, em concentrações crescentes, e incubados por 72 h. A doxorubicina (pureza  $\geq 95\%$ , cloridrato de doxorubicina, Laboratory IMA S.A.I.C., Buenos Aires, Argentina) foi utilizada como controle positivo. Antes do final do tratamento (4 h para linhas celulares e 24 h para PBMC), 20  $\mu\text{L}$  de uma solução estoque (0,312 mg / mL) do azul de alamar (resazurina, Sigma-Aldrich Co.) foram adicionados a cada poço. A absorvância a 570 nm e 600 nm foi medida utilizando o Leitor de Microplacas SpectraMax® 190 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Estudos de 9-metoxigatterfriesina, (R)-6,6a –dihidro-9-metoxigatterfriesina e 4,5-dehidro-9-metoxigatterfriesina.

#### 4.1.1. Parâmetros geométricos

Os resultados para otimização geométrica (Figura 9) de I, II e III utilizando B3LYP/6-311G (2d,p) foram comparados com dados de raio-X para (-)-*N*-acetilanonaina (Tabela 2) devido a similaridade estrutural dos compostos. As estruturas apresentaram momentos dipolo de 1.06, 2.99 e 0.23 Debye, respectivamente. As estruturas também mostram conformação estável, com uma simetria C1, e boa coesão estrutural revelando valores energéticos de -1170,01 a.u. ( $-3071,885 \times 10^3$  kJ/mol) para I, -1171,22 a.u. ( $-3075,054 \times 10^3$  kJ/mol) para II e -1168,55 a.u. ( $-3068,041 \times 10^3$  kJ/mol) para III.

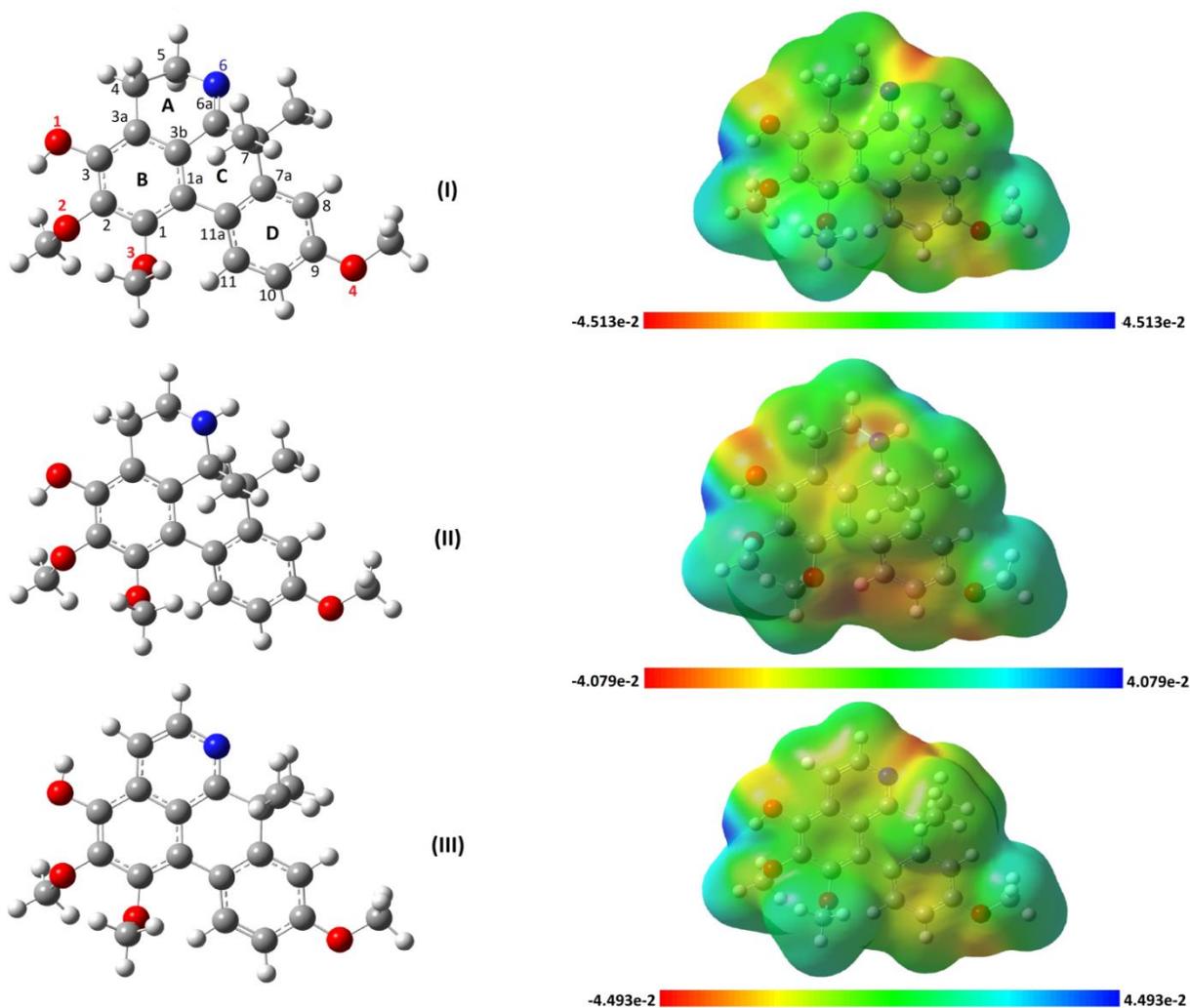
**Tabela 2.** Parâmetros geométricos calculados para 9-metoxigatterfriesina (I), (R)-6,6a-dihidro-9-metoxigatterfriesina (II) and 4,5-dehidro-9-metoxigatterfriesina (III).

Parâmetro	I	II	III	Experimental
<i>Comprimento de ligação</i>				
C1-C2	1,40	1,40	1,42	1,39
C1-C1a	1,41	1,41	1,39	1,37
C2-C3	1,40	1,39	1,38	1,36
C3-C3a	1,39	1,40	1,42	1,41
C3a-C4	1,51	1,51	1,41	--
C3a-C3b	1,40	1,39	1,43	1,39
C4-C5	1,53	1,52	1,37	--
C5-N6	1,46	1,46	1,35	--
N6-C6a	1,27	1,46	1,32	--

C6a-C3b	1,48	1,51	1,42	--
C3b-C1a	1,41	1,41	1,44	1,43
C1a-C11a	1,48	1,48	1,48	1,48
C11a-C7a	1,41	1,41	1,41	1,41
C7a-C7	1,53	1,53	1,53	1,51
C7-C6a	1,53	1,56	1,53	1,53
C11-C11a	1,41	1,40	1,41	1,40
C10-C11	1,38	1,38	1,38	1,38
C9-C10	1,39	1,39	1,40	1,38
C9-C8	1,39	1,39	1,39	1,37
C8-C7a	1,40	1,40	1,40	1,39
<i>Ângulo de ligação</i>				
C1-C2-C3	120,60	120,00	121,20	121,3
C2-C3-C3a	119,53	120,55	119,02	120,4
C3-C3a-C3b	119,30	118,96	119,39	119,5
C1-C1a-C3b	116,54	117,75	116,10	118,5
C4-C5-N6	112,94	108,37	123,20	109,0
C5-N6-C6a	117,19	112,40	119,24	118,4
C3b-C1a-C11a	118,51	118,17	118,93	119,3
C1a-C11a-C7a	119,75	119,46	120,34	118,6
C11a-C7a-C7	120,44	119,10	122,97	120,6
C7a-C7-C6a	109,24	105,65	112,99	121,5
C7-C6a-C3b	116,43	110,21	122,06	118,6
C1a-C3b-C6a	120,07	117,21	121,58	119,3
C10-C11-C11a	122,02	122,20	122,39	119,6
C9-C10-C11	119,80	119,74	118,88	120,7
C10-C9-C8	119,27	119,26	118,85	119,4
C9-C8-C7a	121,22	121,85	121,67	121,3
C7a-C11a-C11	117,85	117,69	117,26	120,8

Parâmetros geométricos da estrutura I indicou uniformidade em todas a estrutura mostrando pequenas distorções e uma conformação não planar com os anéis A e C apresentando uma conformação de meia cadeira, refletida pelo valor do ângulo diedro de  $-51,860^\circ$  (C3a-C4-C5-N6). Inicialmente, a cerca do comprimento de ligações, o composto I apresentou relativa não uniformidade. O anel A mostra valores diferentes para todos os seus comprimentos de ligações, 1,51 Å (C3a-C4), 1,53 Å (C4-C5), 1,46 Å (C5-N6), 1,27 Å (N6-C6a) e 1,48 Å (C6a-C3b). O anel C também mostra diferentes comprimentos de ligações, com valores de 1,48 Å (C6a-C3b), 1,53 Å (C6a-C7), 1,53 Å (C7-C7a), 1,41 Å

(C7a-C11a) e 1,48 Å (C11a-C1a). Os anéis B e D mostram uniformidade com comprimento de ligações em torno de ~ 1,40 Å, exceto o C10-C11 (anel D), cujo valor é 1,38 Å. Em relação aos ângulos de ligação, em comparação com os dados experimentais para (-)-*N*-acetilanonaina, a estrutura não mostra valores distantes, exceto pelo ângulo C7a-C7-C6a (anel C) cujo valor é 109,2°, enquanto em comparação ao valor do raio-X é de 121,5°. Em relação à própria estrutura, a molécula inteira mostra distorções em seus ângulos, merecendo destaque os valores: 109,44° (C3a-C4-C5), 112,94° (C4-C5-N6), 117,19° (C5-N6-C6a), 123,71° (N6-C6a-C3b) e 117,27° (C6a-C3b-C3a) no anel A; 120,59° (C1-C2-C3), 119,53° (C2-C3-C3a), 119,30° (C3-C3a-C3b), 122,61° (C3a-C3b-C1a) e 116,54° (C3b-C1a-C1) no anel B; 116,43° (C3b-C6a-C7), 109,24° (C6a-C7-C7a), 120,44° (C7-C7a-C11a), 119,75° (C7a-C11a-C1a) e 118,52° (C11a-C1a-C3b) no anel C; 119,78° (C11a-C7a-C8), 121,22° (C7a-C8-C9), 119,28° (C8-C9-C10), 119,80° (C9-C10-C11) e 122,02° (C10-C11-C11a) no anel D.



**Figura 8.** Estruturas otimizadas (esquerda) e mapas de potencial eletrostático (direita) de I, II e III.

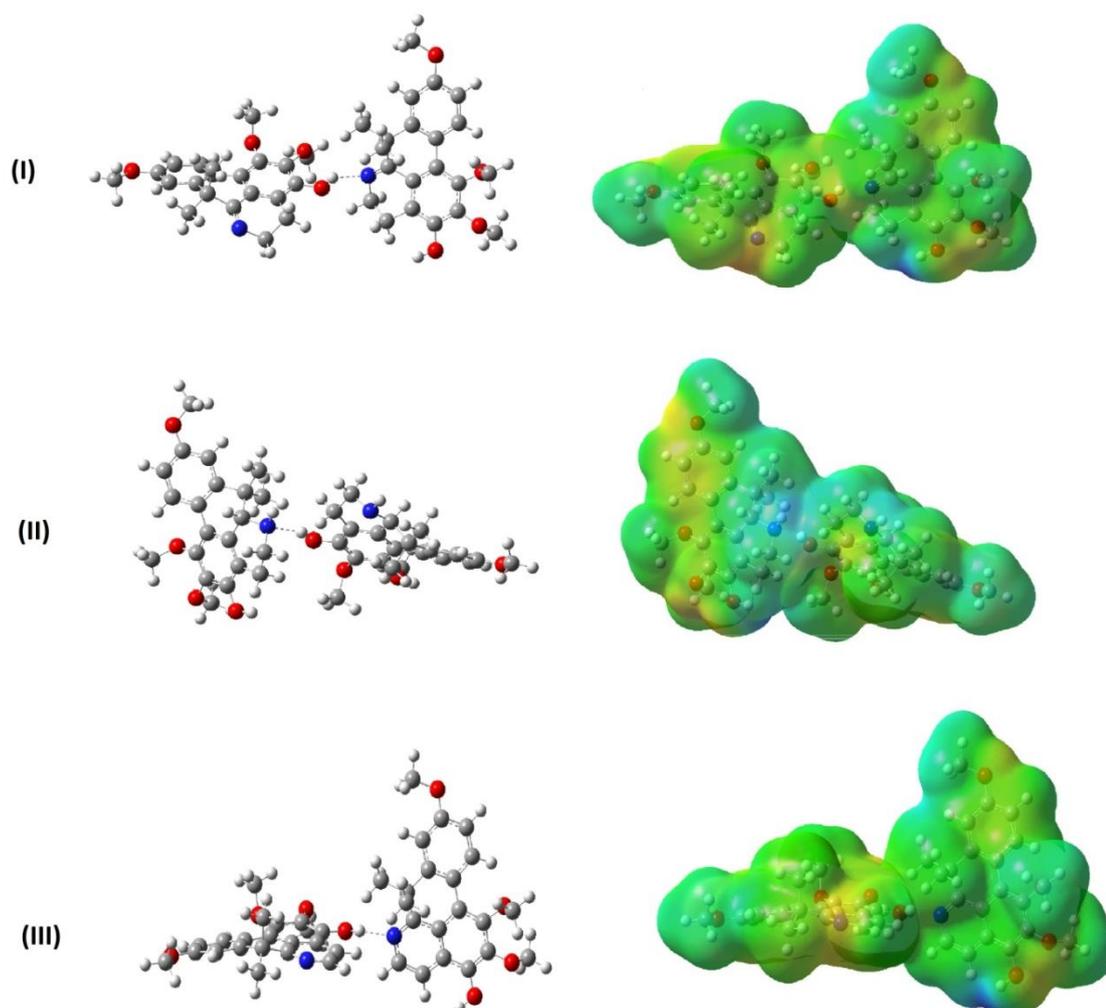
A estrutura II (Figura 9), que difere da I somente pela ausência da ligação dupla no nitrogênio do anel A, mostra uma conformação não planar. Os anéis A e C apresentaram uma conformação quase meia-cadeira refletida pelo valor do ângulo diedro de  $-49,96^\circ$  (C3a-C4-C5-N6). Em relação aos valores de comprimento de ligações, a estrutura II mostrou valores similares comparados a estrutura I, exceto pelas ligações N6-C6a (1,46 Å) e C6a-C3b (1,51 Å). O anel C apresentou comprimentos de ligações semelhantes a estrutura I, exceto C6a-C3b (1,51 Å) e C7-C6a (1,56 Å). Os anéis B e D mostraram uniformidade com comprimento de ligações em torno de  $\sim 1,40$  Å, com exceção dos comprimentos C11-C7a (anel B) e C10-C11 (anel D), cujo valor é, respectivamente, 1,41 e 1,38 Å. Relativo a ângulos de ligação, a estrutura II não mostra grandes valores de distância em comparação aos dados experimentais, salvo o ângulo C7a-C7-C6a ( $105,6^\circ$ ) que é um pouco menor em relação ao experimental ( $121,5^\circ$  para os dados de raio-X). Com relação à própria estrutura, toda a molécula mostrou distorções em todos seus ângulos, semelhante às distorções que ocorrem na estrutura I, merecendo destaque os valores:  $108,37^\circ$  (C4-C5-N6) e  $112,40^\circ$  (C5-N6-C6a) no anel A;  $105,65^\circ$  (C7a-C7-C6a),  $110,21^\circ$  (C7-C6a-C3b) e  $117,21^\circ$  (C1a-C3b-C6a) no anel C (veja a tabela 1).

A estrutura III (Figura 9) mostra uma conformação planar devido a aromaticidade do anel A, refletido pelo valor do ângulo diédrico de  $-0,90^\circ$  (C3a-C4-C5-N6). Em relação aos comprimentos de ligação, a estrutura mostrou relativa não uniformidade em toda sua estrutura. O anel A mostrou diferentes comprimentos para todas as ligações com valores de 1,43 Å (C3a-C3b), 1,42 Å (C3b-C6a), 1,32 Å (C6a-N6), 1,34 Å (N6-C5), 1,37 Å (C5-C4) e 1,41 Å (C4-C3a). O anel B mostrou valores ao redor de  $\sim 1,43$  Å, menos as ligações C1-C1a (1,39 Å) e C2-C3 (1,37 Å). O anel C apresentou valores de 1,48 Å (C1a-C11a), 1,44 Å (C1a-C3b), 1,42 Å (Cb-C6a), 1,53 Å (C6a-C7), 1,53 Å (C7-C7a) e 1,40 Å (C7a-C11a). O anel D mostrou uniformidade com o comprimento de ligações em torno de 1,40 Å, com exceção da ligação C10-C11 (1,38 Å). Quanto aos ângulos de ligação, a estrutura III possuiu valores próximos da estrutura I, com exclusão do ângulo C4-C5-N6 ( $123,20^\circ$ ).

#### 4.1.2. Mapas de potencial eletrostático

O código de cores para os MEPs de I,II e III é da em unidades atômicas (a.u) e é indicado na figura 9, onde o vermelho indica uma alta densidade de elétrons e o azul indica uma concentração mínima de elétrons, portanto, a ordem decrescente de potencial é azul>verde>amarelo>vermelho. As MEPs calculadas para o composto I indicou regiões

com potenciais positivos sobre os hidrogênios nas posições 3 (0,043 a.u ou 1,17eV), 2 (0,022 a.u ou 0,60 eV), 1 (0,013 a.u ou 0,35 eV) e 9 (0,016 a.u ou 0,43 eV). Regiões com potencial negativos estão localizadas sobre N6 (-0,044 a.u or -1,20 eV), O1 (-0,029 a.u ou -0,79 eV), O3 e O4 no anel B (-0,015 a.u ou -0,41 eV) e sobre os anéis B (-0,016 a.u ou -0,43 eV) e D (-0,022 a.u ou -0,60 eV).



**Figura 9.** Estruturas otimizadas dos dímeros propostos (esquerda) e mapas de potencial eletrostático (direita) para I, II e III.

O mapa potencial calculado para o composto II indicou regiões com potenciais positivos sobre os hidrogênios nas posições 3 (0,038 a.u ou 1,03 eV), 2 (0,016 a.u ou 0,43 eV), 1 (0,014 a.u ou 0,38 eV), 9 (0,015 a.u ou 0,41 eV) e no hidrogênio ligado ao nitrogênio do anel A. Os potenciais negativos estão localizados sobre os átomos O3

(-0,033 a.u ou -0,90 eV), N6 (-0,033 a.u ou -0,90 eV), O1 (-0,040 a.u ou -1,09 eV), O4 (-0,030 a.u ou -0,82 eV) e sobre os anéis B (-0,020 a.u ou -0,55 eV) e D (-0,033 a.u ou -0,90 eV).

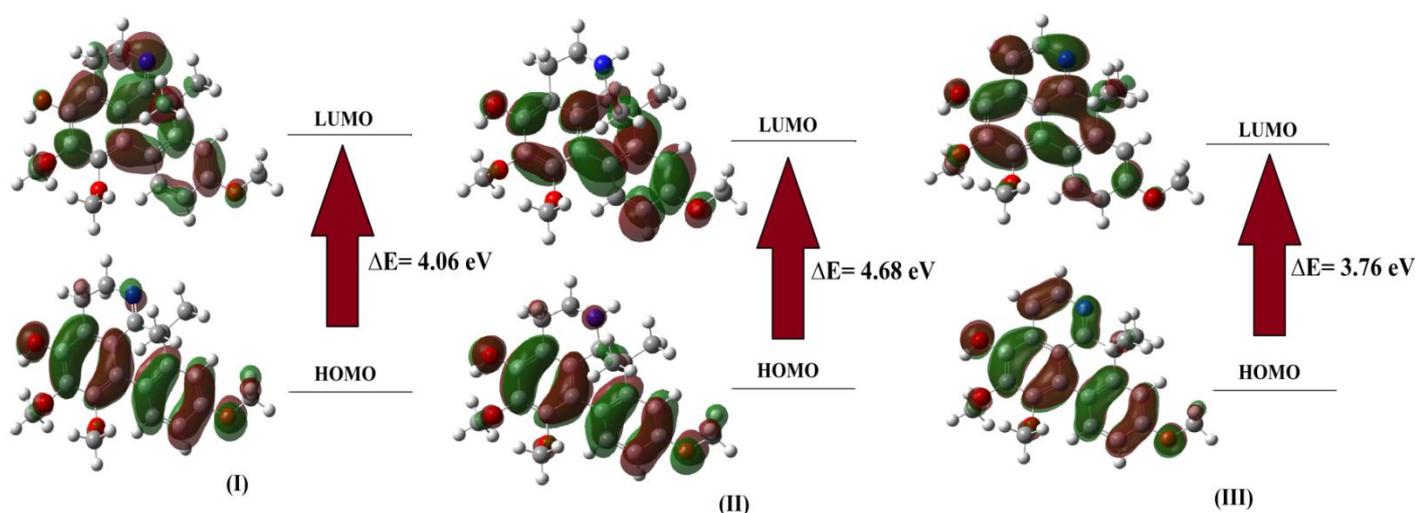
O mapa potencial para o composto III indicou regiões com potenciais positivos sobre os hidrogênios nas posições 3 (0,044 a.u ou 1,20 eV), 2 (0,018 a.u ou 0,48 eV), 1 (0,015 a.u ou 0,41 eV) e 9 (0,017 a.u ou 0,46 eV). Os potenciais negativos estão localizados sobre os átomos N6 (-0,040 a.u ou -1,09 eV), O3 (-0,025 a.u ou -0,68 eV), O1 (-0,016 a.u ou -0,43 eV), O3 (-0,015 a.u ou -0,40 eV) e O4 (-0,026 a.u ou -0,71 eV) e sobre os anéis A (-0,015 a.u ou 0,41 eV), B (-0,014 a.u ou -0,35 eV) e D (-0,025 a.u ou -0,68 eV).

É importante enfatizar que os átomos de nitrogênio dos anéis A apresentaram potencial negativo, indicando que os pares isolados não são incorporados ao sistema aromático nas três estruturas, estando disponível para interação de ligação de hidrogênio nos dímeros. Por outro lado, é notável que a perda de insaturação tenha aumentado o potencial sobre o nitrogênio, o que torna os elétrons menos disponíveis para o meio, tornando a estrutura mais ácida. Baseado nos Meps calculados, a basicidade aumenta na ordem II<I<III. Em vista das cargas opostas sobre os átomos OH e N6 nas moléculas estudadas, dímeros foram propostos para cada estrutura, formando uma ligação de hidrogênio O-H...N (ver Figura 10). A energia de interação ( $\Delta E$ ) para cada complexo ligado a hidrogênio foi calculada como a diferença entre a energia do complexo dimérico e a soma das energias de cada monômero constituinte ( $\Delta E = E_{\text{dímero}} - \sum E_{\text{monômero}}$ ). A estabilidade relativa dos complexos pode ser justificada pelos valores calculados de  $\Delta E$  de -0,047 kJ/mol, -0,026 kJ/mol e -1,439 kJ/mol para I, II e III, respectivamente.

#### 4.1.3. Análises HOMO e LUMO

Os orbitais moleculares ocupados de maior energia (HOMO) e os orbitais moleculares de menor energia (LUMO), também conhecido como orbitais moleculares de fronteira (FMOs), são importante para determinar a maneira como a molécula interage com outras espécies, propriedades elétricas e ópticas, estabilidade cinética, reatividade molecular e descritores de reatividade química, como moleza e dureza (RANI *et al.* 2012; KARAKURT *et al.* 2010). As características de ligação quântica de I, II e III são representadas por um gráfico do HOMO e LUMO na Figura 11.

Os descritores de reatividade foram calculados para o estudo de alcalóides 7, 7-dimetilporfínicos em metanol (modelo PCM) com o conjunto de bases B3LYP/6-311G(2d,p). Os valores para as três estruturas são mostrados na Tabela 3. Ambos os HOMO e LUMO são orbitais de ligação e compreendem toda a estrutura de cada molécula, com exceção da II, onde os átomos N6, C5 e C4 não contribuem para os orbitais moleculares. Em relação à diferença energética HOMO-LUMO, a estrutura III tem o menor valor comparado ao calculado para outras moléculas (diferenciado por 0,92 eV de II e 0,30 de I), indicando assim, que III é a mais reativa. De fato, a adição de insaturações no anel A reduziram a diferença de energia HOMO-LUMO indicando que a aromaticidade neste anel influencia diretamente os descritores de reatividade e, portanto, pode influenciar em suas propriedades farmacológicas (ver seção 3.8). Os cálculos dos valores de dureza ( $\eta$ ) para I (2,02 eV), II (2,34 eV) e III (1,88 eV) mostram III como mais macio e reativo, e II como mais duro e uma molécula menos reativa, confirmando a evidência obtida pelo cálculo da variação de energia. Comparando estes valores de dureza com os calculados para outros alcalóides conhecidos, como liriodenina ( $\eta=1,81$ ) (COSTA *et al.* 2017), annomontina ( $\eta=1,94$ ), N-hidroxiannomontina ( $\eta= 1,69$ ) (COSTA *et al.* 2018) e 9-metoxicanthin-6-one ( $\eta=1,98$ ) (COSTA *et al.* 2018) os alcalóides 7,7-dimetilporfínicos apresentam valores que os classificam como moléculas moles. O índice de eletrofilicidade acima de 1.5 para cada estrutura revela que os compostos em questão têm um significativo poder de atrair elétrons.



**Figura 10.** Orbitais moleculares de fronteira para I, II e III.

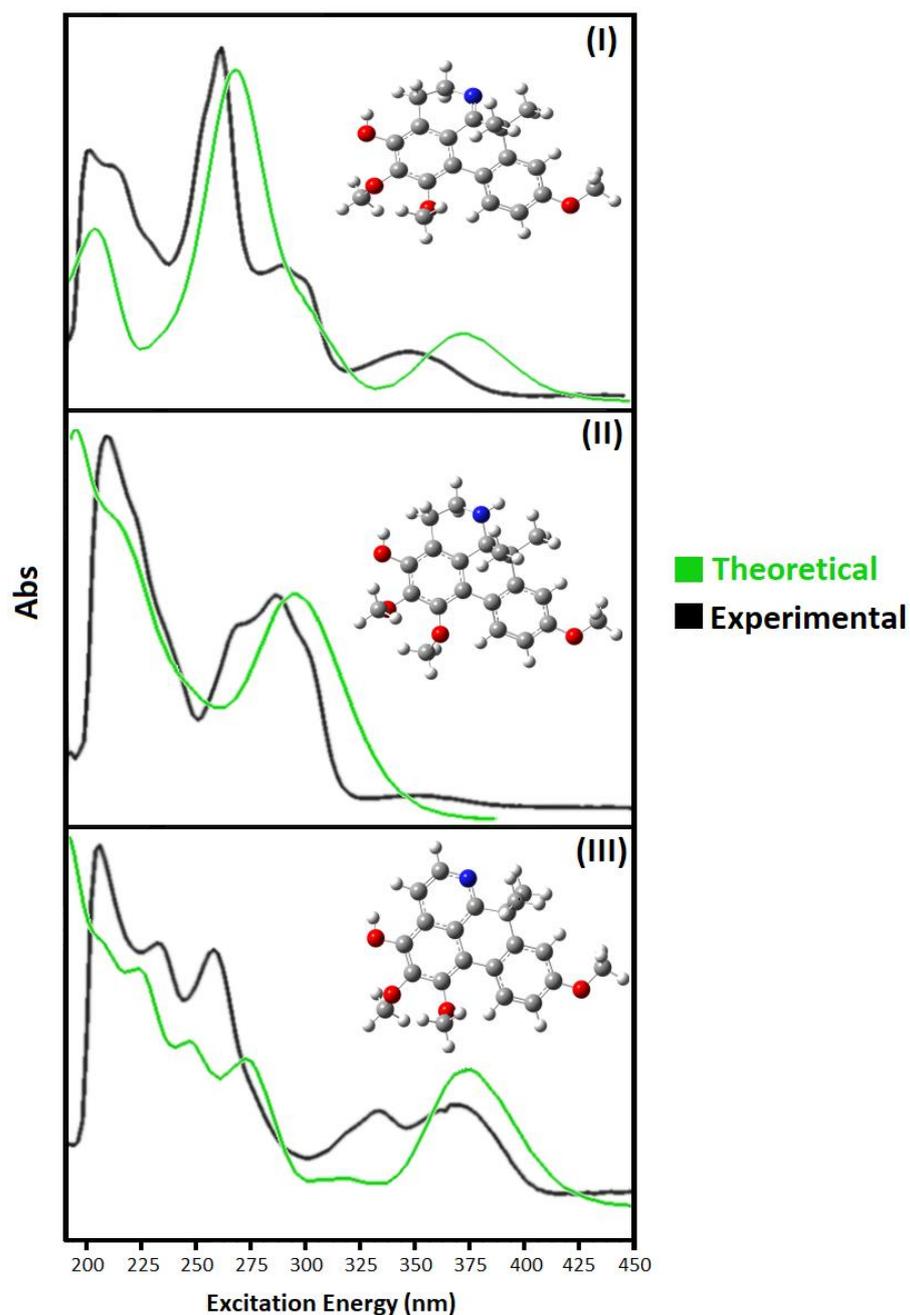
**Tabela 3.** Valores de energia calculados para 9-metoxiguatterfriesina (I), (R)- 6,6-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (II) e 4,5-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (III) usando o conjunto de base B3LYP/6-311G (2d,p).

Parâmetros	I	II	III
Energia (a.u)	-1170,01	-1171,22	-1168,55
Momento dipolar (Debye)	1,06	2,99	0,23
$E_{\text{HOMO}}$ (eV)	-5,38	-5,19	-5,02
$E_{\text{LUMO}}$ (eV)	-1,32	-0,51	-1,26
$E_{\text{HOMO-LUMO}}$ (eV)	4,06	4,68	3,76
$E_{\text{HOMO-1}}$ (eV)	-6,28	-6,04	-6,29
$E_{\text{LUMO+1}}$ (eV)	-0,55	-0,01	-0,51
$E_{(\text{HOMO-1})-(\text{LUMO+1})}$ (eV)	5,73	6,03	5,78
Dureza ( $\eta$ )	2,02	2,34	1,88
Potencial químico ( $\mu$ )	-3,35	-2,85	-3,14
Eletronegatividade ( $\chi$ )	3,35	2,85	3,14
Índice de eletrofilicidade( $\omega$ )	2,78	1,74	2,62

#### 4.1.4. Análises UV-VIS

O espectro teórico foi calculado em conformidade com o funcional da densidade utilizando o conjunto de bases B3LYP-6311G (2d, p) e comparado com os espectros eletrônicos registrados em solução de metanol (Figura 12). O espectro experimental para I mostrou bandas em 203-207, 271, 300 e 350 nm, características de anéis aromáticos. Devido à presença de dois anéis aromáticos, as bandas de absorção primária e secundária para estrutura I, referindo-se ao tipo de transição to  $\pi \rightarrow \pi^*$ , foram deslocadas para comprimentos de onda maiores e a presença de insaturação no anel A (formando um anel 2,3-dihidropiridina) permitindo a transição do tipo  $n \rightarrow \pi^*$  (banda em 350 nm). O espectro calculado prediz uma transição eletrônica intensa de 5,8795 eV a 210,88 nm com uma força de oscilador  $f = 0,1193$ , mostrando uma boa concordância com os dados medidos experimentalmente (207 nm). O espectro calculado também prediz bandas a 267,78 nm (4,6301 eV), 294,52 nm (4,2097 eV) e 355,82 nm (3,4844 eV), que correspondem às bandas experimentais a 271, 300 e 350 nm. Em respeito as transições eletrônicas, o

máximo de comprimentos de onda de absorções calculados correspondem as contribuições de HOMO-2→LUMO+2 (62 %) para 210.88 nm (203-207 nm no espectro experimental), HOMO-1→LUMO (25%), HOMO→LUMO+1(29%) e HOMO→LUMO+2 (23%) para 267,78 nm (271 nm no espectro experimental e HOMO→LUMO (96%) para 355,82 nm (350 nm no espectro experimental).



**Figura 11.** Comparação entre os espectros experimental e teórico B3LYP/6-311G(2d,p) em metanol para as estruturas I, II e III.

O espectro experimental para II mostrou duas bandas fortes em 217 e 295 nm em acordo com o espectro uv registrado para alcalóides do tipo 7,7-dimetilaporfírico na literatura. As bandas de absorção primária e secundária referem-se a soma dos tipos de transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $n \rightarrow \sigma^*$ . O espectro calculado prevê duas transições eletrônicas intensas de 5,8604 eV a 211,56 nm (com uma força de oscilador  $f=0.2193$ ) e 4,2352 eV a 292,81 nm (com uma força de oscilador  $f= 0,0452$ ) indicando boa concordância com os dados experimentais medidos, 217 e 295 nm, respectivamente. Em relação às transições eletrônicas, os dois comprimentos máximos de onda de absorções calculados correspondem as contribuições de HOMO-3 $\rightarrow$ LUMO+1 (46 %) para 211.56 nm e HOMO $\rightarrow$ LUMO (91%) para 292,81 nm.

O espectro experimental para III apresentou bandas em 210, 235, 255 e 375 que foram atribuídas a soma das características de transição de alcalóides aporfínicos  $n \rightarrow \pi^*$  e  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Esta estrutura possui um sistema aromático adicional (anel A) em relação às estruturas I e II, sendo classificada como composto aromático policíclico e a conjugação estendida muda as absorções primária e secundária nos comprimentos de onda mais altos do espectro UV (ver Figura 5). O espectro calculado prediz transições eletrônicas de 5,9659 eV a 207,82nm (com uma força de oscilador  $f=0.0011$ ), 5,3832 eV a 230,32 nm (com  $f= 0,0061$ ), 4,7122 eV a 263,11 nm (com  $f = 0,0256$ ) e 3,2888 eV a 376,99 nm (com  $f=0,2699$ ), também mostrou boa concordância com o dado experimental. Referindo-se as transições eletrônicas calculadas, os comprimentos de onda das absorções correspondem as contribuições de HOMO $\rightarrow$ LUMO+5 (91 %) para 207,82 nm (relacionado a banda em 210 nm no espectro experimental), HOMO-2 $\rightarrow$ LUMO+1 (64%) e HOMO-3 $\rightarrow$ LUMO+1 (24%) para 230,32 nm (relacionado a banda em 235 nm no espectro experimental), HOMO-3 $\rightarrow$ LUMO (51%) e HOMO-2 $\rightarrow$ LUMO (27%) para 263.11 nm, e HOMO $\rightarrow$ LUMO (97%) para 376,99 nm (relacionado a banda em 375 nm no espectro experimental).

Analisando a absorção teórica relacionada à transição HOMO $\rightarrow$ LUMO para as três estruturas (355,82 nm para estrutura I, 292,81 nm para II e 376,99 nm para III) ocorre um deslocamento batocrômico devido à diminuição de diferença de energia HOMO-LUMO causado pela adição de insaturação no anel A (ver seção 3.3), isto significa que quanto mais insaturado está o anel A, mais voltada para comprimentos de onda maiores é a banda relacionada à transição eletrônica HOMO-LUMO. Como dito na seção 3.3 a adição de insaturação no anel A diminui a diferença de energia de HOMO-LUMO e influencia nos

valores de descritores reativos para alcalóides 7, 7-dimetilporfínicos, tornando-os mais reativos e propensos a apresentar atividade farmacológica, já que o anel A tende à aromaticidade. Com base nessas premissas, é justo afirmar que os alcalóides 7, 7-dimetilporfírico que possuem bandas UV próximas a 376,99 nm são possíveis candidatos a moléculas antitumorais, como é o caso do alcalóide III (ver seção 3.8 e 3.9).

#### 4.1.5. Análises IV

A Figura 15 mostra uma comparação entre o espectro IV teórico e experimental para as moléculas 9-metoxiguatterfriesina (I), (*R*)-6,6a-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (II) e 4,5-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (III). Um total de 141, 147 e 135 modos normais de vibração foram obtidos para as estruturas I, II e III respectivamente, mas somente modos entre 800 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  foram comparados com o espectro experimental. A atribuição das bandas experimentais para os modos normais de vibração foram feitas utilizando o cálculo de distribuição de energia potencial (PED) para as estruturas otimizadas com a menor energia potencial no nível de cálculo B3LYP/6-311G(2d,p) (ver tabelas 4, 5 e 6). Para melhores resultados, um fator de escala de 0.98 foi adotado (ANTHONY, 1996).

Para o composto I, as bandas experimentais (Tabela 4) em 3500-2800  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a estiramento da ligação O-H (banda larga em 3416  $\text{cm}^{-1}$ ), de aromático C-H (banda em 3005  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde ao número de ondas escalado teórico 3120.64  $\text{cm}^{-1}$ ) e modos de estiramento do metil C-H (banda em 2835  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde ao número de onda escalonado calculado 3045.44  $\text{cm}^{-1}$ ). As bandas entre 1700-1000  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a N-C (banda em 1626  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde ao número de onda teórico 1649.46  $\text{cm}^{-1}$ ) e vibrações de estiramento C=C (bandas em 1608 e 1578  $\text{cm}^{-1}$  correspondentes aos números de onda 1610.22 e 1594.56  $\text{cm}^{-1}$ ), dobra H-C-H, torções H-C-O-C (distorções entre ângulos diédricos) e torções H-C-N-C (bandas em 1463, 1430, 1213 e 1143  $\text{cm}^{-1}$  equivalentes aos comprimentos de onda teóricos calculados 1479,27, 1443,74, 1181,12 e 1143,38  $\text{cm}^{-1}$ ). As bandas entre 999-800  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas aos modos de torção para HCCC (bandas em 975 e 829  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo aos números de onda teórico calculado 963,29 e 836,89  $\text{cm}^{-1}$ ).

Para o composto II (tabela 5), as bandas experimentais entre 3500-2800  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas ao modo de estiramento da ligação O-H (banda larga em 3433  $\text{cm}^{-1}$ ), N-H (banda em 3433  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo ao número de ondas escalado teórico 3467.82  $\text{cm}^{-1}$ ) e modos vibracionais de estiramento do aromático C-H (banda em 2934 e 2836  $\text{cm}^{-1}$  que

corresponde aos números de onda teórico calculado 2925.42 e 2858.31  $\text{cm}^{-1}$ ) (ver Tabela 4). As bandas experimentais entre 1700-1000  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas ao estiramento do aromático C=C/ C-C e modos vibracionais de dobramento H-C=C, C-C=C, H-C-H (banda em 1608  $\text{cm}^{-1}$  equivalendo ao número de onda escalonado calculado 1613.77  $\text{cm}^{-1}$ ), dobramento H-C-H, torções H-C-O-C, vibrações de estiramento O-C (bandas em 1460, 1430 e 1297  $\text{cm}^{-1}$  que assemelha aos números de onda escalados teóricos de 1463,09, 1453,43 e 1300,60  $\text{cm}^{-1}$ ) e vibrações fora do plano CCCC (banda em 1030  $\text{cm}^{-1}$  é relacionado a banda teórica escalada em 1055,83  $\text{cm}^{-1}$ ). Bandas entre 1100-800  $\text{cm}^{-1}$  foram designadas a ligação N-C (banda em 1070  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde ao número de onda escalado calculado 1085  $\text{cm}^{-1}$ ) e vibrações de estiramento O-C (bandas em 1070 e 1030  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde aos números de onda escalado calculado 1085 e 1055,83  $\text{cm}^{-1}$ ), vibração de dobra N-C=C (banda em 980  $\text{cm}^{-1}$  que equivale ao número de onda escalado calculado 1007,50  $\text{cm}^{-1}$ ), vibração de estiramento do aromático C-C e modo de torção de aromático HCCC (banda em 817  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao número de onda teórico 826,73  $\text{cm}^{-1}$ ).

Para o composto III, as bandas experimentais (Tabela 5) entre 3500-2800  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas a ligação O-H (banda larga em 3439  $\text{cm}^{-1}$ ), e modos vibracionais C-H de metil (bandas em 2955, 2936, 2848, 2834  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo a 2980,20, 2967,38, 2964,48, 2947,87  $\text{cm}^{-1}$ ). As bandas entre 1700-1000  $\text{cm}^{-1}$  foram atribuídas ao estiramento C=C, C-C, N-C (bandas em 1610, 1595, 1570  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo a 1630,99, 1606,96 e 1580,51  $\text{cm}^{-1}$ ), modos vibracionais de dobramento H-C-H, H-C-C, vibrações de torção H-C-O-C (bandas em 1489, 1453, 1376  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo a 1491,55, 1483,71, 1385,85  $\text{cm}^{-1}$ ), C-C, aromático C=C, estiramento O-C, H-C-H, H-C=C, dobramento H-C-C e modos vibracionais de torção H-C-O-C (bandas em 1348, 1293, 1279, 257, 1199, 1187, 1093 e 1044  $\text{cm}^{-1}$  equivalendo às bandas teóricas 1351,11, 1298,13, 1280,81, 1252,00, 1198,24, 1196,26, 1093,94 e 1055,46  $\text{cm}^{-1}$ ). As bandas de 999 a 800 foram atribuídas a vibrações de estiramento O-C, C-C, torções H-C-C-C, H-C-N-C, N-C=C-C, H-C=C-C e modos vibracionais fora do plano da ligação aromática CCCC (bandas em 983, 956, 917, 884, 834 e 818  $\text{cm}^{-1}$  correspondendo a 982,79, 957,83, 923,50, 878,27, 840,07 e 819,89  $\text{cm}^{-1}$ ).

A grande diferença entre 3400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  foram relatadas ao estiramento O-H que somados aos resultados do mapa são indicativos das interações entre moléculas 7,7-dimetilporfínicas envolvendo esse grupo 2, como declarado na seção 3.2. Para os dímeros propostos (que apresentam ligação de hidrogênio O-H---N para os três casos) os valores teóricos atribuídos ao estiramento O-H foram mais próximos aos dados experimentais nos

três casos. Para estrutura I, os valores de comprimentos de onda escalados calculados são 3749.84  $\text{cm}^{-1}$  para o monômero e 3412.36  $\text{cm}^{-1}$  para o dímero, enquanto a banda do espectro experimental está em 3416  $\text{cm}^{-1}$ . Para estrutura II, os valores calculados são 3757,43  $\text{cm}^{-1}$  para o monômero e 3389,02  $\text{cm}^{-1}$  para o dímero, enquanto a banda do espectro experimental aparece em 3433  $\text{cm}^{-1}$ . Para estrutura III, os valores calculados são 3760,42  $\text{cm}^{-1}$  para o monômero e 3366,55  $\text{cm}^{-1}$  para o dímero, enquanto a banda do espectro experimental está em 3439  $\text{cm}^{-1}$ . Estes valores implicam que as ligações de hidrogênio intermolecular O-H---N que formam os dímeros dos alcalóides 7,7-dimetilporfínico são plausíveis e influenciam diretamente no espectro de infravermelho pela diminuição da frequência do oscilador harmônico relacionado ao estiramento O-H (Figura 13).

**Tabela 4.** Comprimentos de onda experimental e calculado ( $\text{cm}^{-1}$ ) e atribuições para estrutura I.

IR sólido	B3LYP 6-311(2d,p)			Atribuição (PED>10%)
	Calculado (sem escala)	Calculado (escalado)	Intensidade IR	
-	3826,37	3749,84	65,10	STRE O1-H (100%)
3416	3482,00 <b>(Dímero)</b>	3412,36 <b>(Dímero)</b>	1614,62 <b>(Dímero)</b>	STRE O1-H (100%)
-	3238,30	3173,53	4,61	STRE C11-H (97%)
-	3230,47	3165,86	7,56	STRE C8-H (98%)
-	3184,33	3120,64	8,92	STRE C9-H (98%)
-	3131,90	3069,26	12,05	STRE C-H $\alpha$ (grupo dimetil) (85%) + STRE C-H $\beta$ (grupo dimetil) (10%)
-	3107,59	3045,44	24,68	STRE C-H $\alpha$ (dimethyl group)(73%) + STRE C-H $\beta$ (grupo dimetil) (19%)
3005	3067,44	3006,09	56,22	STRE C5-H (95%)
-	3021,68	2961,25	50,54	STRE C4-H (71%)
2835	2991,29	2931,47	32,88	STRE C4-H (22%) + STRE C5-H (60%)
-	2983,50	2923,83	32,75	STRE C4-H (63%) + STRE C5-H (29%)
1626	1683,12	1649,46	65,04	STRE N6-C6a(70%)
1608	1643,08	1610,22	190,16	STRE C10=C11 (25%) + STRE C7a-C7 (15%)
1578	1627,10	1594,56	5,83	STRE C3a=C3 (12%) + STRE C2=C3 (24%)
1463	1509,46	1479,27	11,81	BEND H1-C-H3 (grupo metoxi O3) (31%) + BEND H3-C-H2 (37%) + TORS H3-C-O3-C1(12%)
-	1494,12	1464,24	8,43	BEND H1-C-H-3 (grupo metoxiO3) (36%) + BEND H2-C-H1 (39%) + TORS H1-C1-O3-C9 (16%)
-	1493,36	1463,63	2,28	BEND H $\alpha$ -C5-H $\beta$ (78%)
-	1492,36	1462,51	1,93	BEND H1-C-H3 (grupo metoxiO2) (38%) + BEND H2-C-H1(33%) + TORS H1-C-O2-C2 (15%)

1430	1473,20	1443,74	2,66	BEND H $\alpha$ -C4-H $\beta$ (81%)
1213	1205,23	1181,12	5,01	BEND H $\alpha$ -C4-C3a(37%) + BEND H $\alpha$ -C5-N6(18%) + TORS H $\beta$ -C5-N6-C6a(15%)
1143	1166,71	1143,38	2,25	BEND H1-C-H3 (grupo metoxiO2) (10%) + BEND H2-C-H1 (11%) + TORS H1-C-O2-C2(28%) + TORS H3-C-O2-C2(14%) + TORS H3-C-O2-C2(11%)
1045	1067,65	1046,30	51,44	STRE C10=C9 (11%) + STRE O3-C(63%)
975	982,95	963,29	3,10	TORS H-C11=C10-C9(60%) + TORS H-C-O2-C2 (28%)
829	853,97	836,89	13,30	TORS H-C11=C10-C9 (11%) + TORS H-C10-C9=C8 (32%)

**Tabela 5.** Comprimentos de onda experimental e calculado (cm<sup>-1</sup>) e atribuições para estrutura II.

IR sólido	B3LYP 6-311(2d,p)			Atribuições (PED>10%)
	Calculado (não escalado)	Calculado (escalado)	Intensidade IR	
-	3834,11	3757,43	74,33	STRE O1-H (100%)
3433	3458,18	3389,02	1506,14	STRE O1-H (100%)
-	<b>(Dímero)</b> 3538,59	<b>(Dímero)</b> 3467,82	<b>(Dímero)</b> 0,54	STRE N6-H (100%)
-	3254,64	3189,55	4,77	STRE C11-H (98%)
-	3227,25	3162,71	10,21	STRE C8-H (99%)
-	3183,89	3120,21	9,41	STRE C10-H (99%)
-	3063,60	3002,33	57,58	STRE C5-H (98%)
-	3013,70	2953,43	29,69	STRE C4-H $\alpha$ (57%)+C4-H $\beta$ (41%)
2934	2985,12	2925,42	45,23	STRE C4-H $\alpha$ (41%)+C4-H $\beta$ (58%)
2836	2916,64	2858,31	81,65	STRE C5-H $\beta$ (97%)
-	2871,37	2813,94	48,47	STRE C6a-H (99%)
1608	1646,70	1613,77	147,26	STRE C10=C11(13%) + C7a-C8(22%) + C11-C11a (10%) + BEND H-C8=C9 (10%)
-	1638,22	1605,46	3,26	BEND C3b=C3a-C3(11%)
-	1610,69	1578,48	11,26	STRE C3b=C3a(19%)+C9-C10(10%)+ C1-C2(10%)+C1a=C1 (11%)
-	1604,27	1572,19	19,54	STRE C9-C10(27%)+ C11-C11a (14%)
-	1529,53	1498,94	65,97	BEND H-C10=C11 (17%)+ H-C8-C9 (12%)
-	1521,45	1491,02	6,34	BEND H $\alpha$ -C-H $\beta$ (27%)+ BEND H $\gamma$ -C-H $\beta$ (54%)+ TORS H $\beta$ -C-O3-C1(12%)
-	1507,70	1477,55	3,83	BEND H $\beta$ -C5-H $\alpha$ (62%)
-	1506,29	1476,17	23,68	BEND H $\alpha$ -C-H $\gamma$ (21%)+ H $\gamma$ -C-H $\beta$ (45%)+ TORS H $\gamma$ -C-O2-C2 (11%)
-	1500,39	1470,38	36,39	BEND H-N6-C5 (16%)+ H $\beta$ -C5-H $\alpha$ (10%)
1460	1492,95	1463,09	7,06	BEND H $\alpha$ -C-H $\gamma$ (40%)+ H $\beta$ -C-H $\alpha$ (35%)+ TORS H $\alpha$ -C-O3-C9 (15%)
-	1489,34	1459,55	30,19	BEND H-N6-C5(12%)
1430	1483,09	1453,43	3,87	BEND H $\beta$ -C25-H $\alpha$ (50%)
-	1450,16	1421,16	126,52	BEND H-C10-C9 (10%)
-	1436,54	1407,81	26,19	STRE C10=C11 (12%)
-	1413,58	1385,31	40,82	BEND H-C6a-N6 (16%)+ TORS

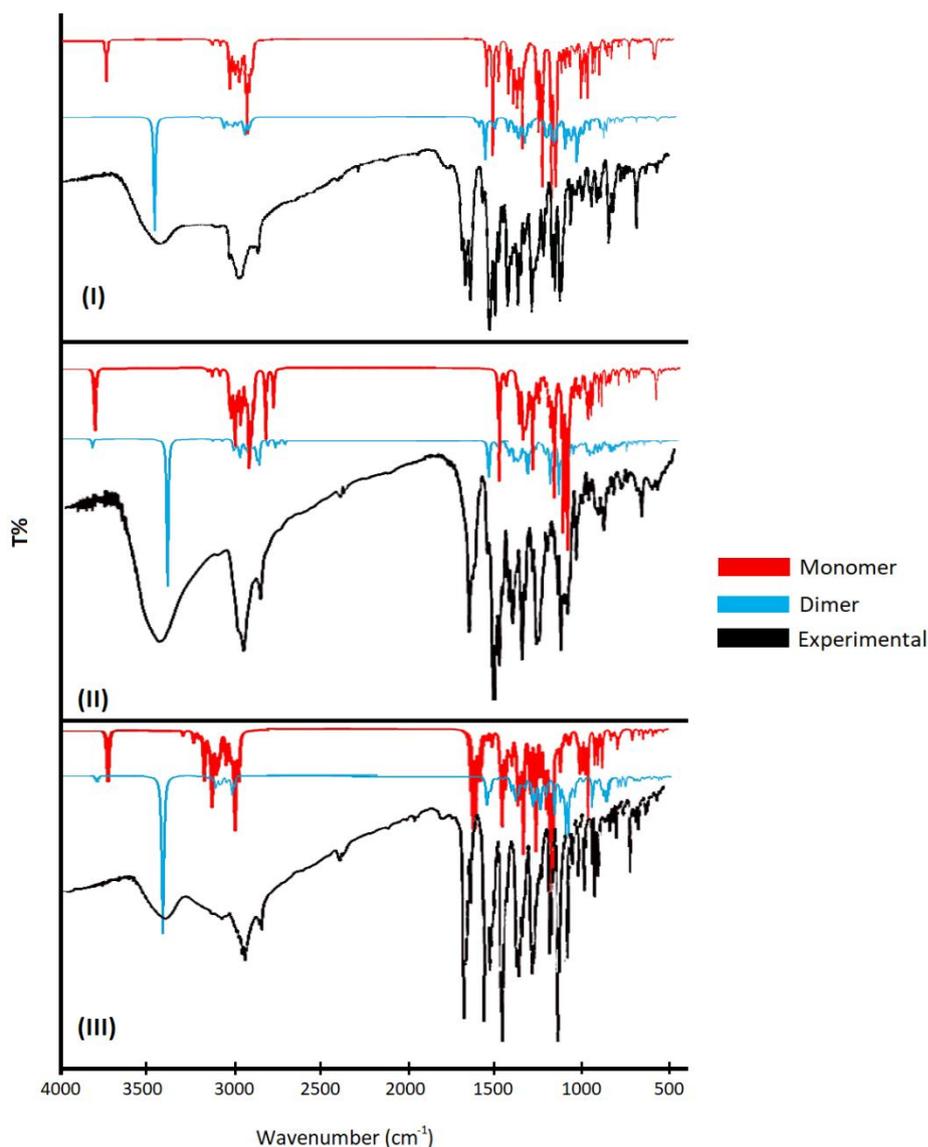
				H-C5-N6-C6a (17%)
-	1377,04	1349,50	17,81	TORS H-C4-C3a=C3b(10%)+ H-C4-C3a=C3b (21%)
-	1361,08	1333,86	41,34	STRE C1a-C11a (12%) + C11a-C1a (13%)+ C4-C3a (10%)
-	1347,92	1320,96	63,82	TORS H-C6a-C3b-C1a (27%)
1297	1327,14	1300,60	163,33	STRE O3-C9 (13%)+ BEND H-C11=C10 (14%)
-	1317,22	1290,88	22,58	BEND H-O1-C3 (18%)
-	1295,44	1269,53	15,56	STRE O3-C7 (10%)+ BEND H-C6a-N6(28%)
-	1261,06	1235,84	47,58	STRE O3-C9 (10%)+ BEND H $\alpha$ -C5-N6(30%)
1212	1248,40	1223,44	222,72	BEND H-O1-C3 (13%)+ H $\alpha$ -C4-C5 (13%)
1196	1233,18	1208,52	24,68	BEND H $\alpha$ -C4-C5 (29%)+ TORS H $\alpha$ -C4-C3a=C3b (12%) + H $\beta$ -C4-C3a=C3b (13%)
-	1223,10	1198,64	3,75	TORS H-C-C7-C6a(13%)
-	1209,70	1185,51	3,77	BEND H35-C1-H36(13%)+ TORS H35-C1-O2-C31(25%)+ H36-C1-O2-C31 (22%)
-	1189,40	1165,61	32,33	STRE C10=C11 (11%)+ BEND H-C10-C9 (10%)
-	1175,01	1151,51	32,71	STRE N6-C5 (12%)+ N6-C6a (15%)+ BEND H-C11=C10 (11%)+ H-C10-C9(10%)
-	1161,33	1138,10	24,47	STRE N6-C5 (20%)+ N6-C6a (10%)
1070	1107,53	1085,38	3,46	STRE O1-C3 (13%)+O3-C1 (11%) + O3-C(13%)
1030	1077,38	1055,83	53,33	STRE O3-C1 (11%)+ TORS C5-N6-C6a-C3b (10%) + OUT C4-C3b-C3-C3a (23%)
980	1027,70	1007,15	34,55	STRE N6-C3 (15%)+ STRE O3-C (15%)+ BEND C4-C3a-C3(14%)+ BEND N6-C6a=C3b(13%)
-	851,75	834,71	18,57	STRE C6a-C3b (11%)+ TORS H-N6-C5-C4(20%)
817	843,60	826,73	3,96	STRE C-C7 (11%)+ TORS H38-C10-C9-C8 (17%)

**Tabela 6.** Comprimentos de onda experimental e calculado (cm<sup>-1</sup>) e atribuições para estrutura III.

IR sólido	B3LYP 6-311(2d,p)			Atribuição (PED>10%)
	Calculado (escalado)	Calculado (não escalado)	Intensidade IR (Dímero)	
-	3837,16	3760,42	53,03	STRE O1-H (100%)
3439	3435,26 (Dímero)	3366,55 (Dímero)	2429,90 (Dímero)	STRE O1-H (100%)
-	3275,25	3209,75	6,73	STRE C11-H (99%)

-	3224,76	3160,26	12,52	STRE C8-H (99%)
-	3199,02	3135,04	9,04	STRE C10-H (99%)
-	3174,38	3110,89	54,59	STRE C5-H (46%) + STRE C4-H (53%)
-	3154,81	3091,71	7,46	STRE C5-H28 (53%) + STRE C4-H (47%)
2955	3041,02	2980,20	23,58	STRE (grupo metil) C-H $\alpha$ (24%) + STRE C-H $\beta$ (39%) + STRE C-H $\gamma$ (34%)
2936	3027,94	2967,38	47,46	STRE (grupo metoxi O3) C-H $\alpha$ (16%) + STRE C-H $\beta$ (59%) + STRE C-H $\gamma$ (24%)
2848	3024,98	2964,48	63,80	STRE (grupo metoxi O2) C-H $\alpha$ (15%) + STRE C-H $\beta$ (52%) + STRE C-H $\gamma$ (33%)
2834	3008,03	2947,87	58,82	STRE (grupo metoxi O3) C-H $\alpha$ (45%) + STRE C-H $\beta$ (46%)
1610	1664,28	1630,99	61,07	STREE C3=C2 (38%)
-	1657,27	1624,12	117,46	STRE C10=C11 (23%) + STRE C7a-C8 (13%)
1595	1639,75	1606,96	65,15	STRE C5=C4 (31%) + BEND H-C4-C3a (11%)
1570	1612,77	1580,51	14,89	STRE C8=C9 (14%) + STRE C9-C10(23%) + STRE C11a-C7a (16%) + STRE C11-C11a (10%)
-	1585,84	1554,12	22,78	STRE N6-C6a (20%) + STRE C1-C1a (15%) + STRE C3a-C3b(15%)
-	1544,63	1513,74	34,29	STRE C11a=C7a (11%) + BEND H-C11-C10 (18%) +BEND H-C8-C7a (11%)
-	1533,26	1502,59	143,06	STRE N6-C5 (14%) + BEND H-C5-N6 (22%)
1489	1521,99	1491,55	4,56	BEND (grupo dimetil) H $\alpha$ -C $\alpha$ -H $\beta$ (28%) + BEND H $\alpha$ -C $\beta$ -H $\beta$ (20%)
1453	1513,99	1483,71	60,30	BEND (grupo metoxi O3) H $\alpha$ -C-H $\gamma$ (14%) + BEND H $\gamma$ -C-H $\beta$ (52%) + TORS H $\gamma$ -C-O3-C9 (10%)
-	1513,18	1482,92	15,74	BEND (grupo metoxi O3) H $\alpha$ -C-H $\gamma$ (32%) + BEND H $\gamma$ -C-H $\beta$ (36%) + TORS H $\gamma$ -C-O3-C1 (12%)
-	1510,27	1480,06	4,16	BEND (grupo metoxi O2) H $\alpha$ -C-H $\gamma$ (23%) + BEND H $\gamma$ -C-H $\beta$ (43%) + TORS H $\gamma$ -C-O2-C2 (11%)
-	1449,10	1420,12	93,73	STRE N6-C6a (11%)+ STRE C3a-C3(10%) + BEND H-C5-N6(11%)
1376	1414,13	1385,85	16,37	BEND (grupo metil) H $\alpha$ -C-C $\gamma$ (13%) + BEND H $\beta$ -C-H $\alpha$ (10%) + BEND H $\gamma$ -C-H $\beta$ (11%)
-	1392,19	1364,35	6,52	BEND (grupo dimetil) H $\alpha$ -C $\alpha$ -H $\gamma$ (17%) + BEND H $\beta$ -C $\alpha$ -H $\alpha$ (11%) + BEND H $\gamma$ -C $\alpha$ -H $\beta$ (15%) + BEND H $\alpha$ -C $\beta$ -H $\gamma$ (19%) + BEND H $\beta$ -C $\beta$ -H $\alpha$ (18%) + H $\gamma$ -C $\beta$ -H $\beta$ (14%)
-	1386,02	1358,30	49,68	STRE C5=C4 (11%) + STRE C6a-C3b (18%)
1348	1378,68	1351,11	71,44	STRE C2-C1 (18%) + STRE C3b-C3a (16%) + BEND H-C4-C3a (13%)
-	1352,09	1325,05	153,82	STRE C8=C9 (10%) + STRE C11a-C7a (19%) + STRE O3-C9 (11%) + STRE C7-C7a(10%)
1293	1324,62	1298,13	51,97	STRE C7a-C8 (10%) + BEND H-C11=C10 (15%) + BEND H-C8-C7a (11%)

1279	1306,95	1280,81	63,69	STRE O2-C2 (13%) + BEND H-O1-C3 (20%)
-	1296,28	1270,35	83,09	STRE N6-C5 (10%) + BEND H-C11=C10 (12%)
1257	1277,55	1252,00	234,76	STRE O34-C9 (18%) + BEND H-C8-C7a(15%)
-	1261,29	1236,06	171,02	BEND H-O1-C3 (31%)
-	1245,44	1220,53	13,64	STRE C7-C7a(14%)
-	1235,46	1210,75	22,58	STRE C1a-C3b (10%)
1199	1222,69	1198,24	26,70	TORS H $\beta$ -C-O2-C2 (10%)
1187	1220,67	1196,26	25,32	TORS H $\beta$ -C-O2-C2 (13%) + TORS H $\gamma$ -C-O2-C2 (10%) + TORS H $\beta$ -C-O3-C1(17%) + TORS H $\gamma$ -C-O3-C1 (13%)
-	1216,30	1191,97	1,87	BEND H $\gamma$ -C-H $\beta$ (12%) + TORS H $\beta$ -C-O3-C9 (23%) + TORS H $\gamma$ -C-O3-C9 (22%)
-	1130,41	1107,80	11,58	STRE C5=C4 (11%) + STRE N6-C5 (24%) + BEND H-C4-C3a(17%)
1093	1116,27	1093,94	67,58	STRE O1-C3 (11%) + STRE O3-C1 (15%) + STRE O3-C (10%)
-	1099,04	1077,05	48,25	STRE O2-C (11%) + BEND C9-C10=C11(10%) + BEND C7a-C8=C9 (15%)
1044	1077,00	1055,46	65,95	STRE C9-C10 (11%) + STRE O3-C (67%)
-	1055,20	1034,10	124,32	STRE O3-C (25%) + STRE O2-C(25%)
983	1002,85	982,79	45,37	STRE O3-C (37%) + STRE O2-C (14%)
-	988,63	968,86	2,38	TORS H-C11=C10-C9 (63%) + TORS H-C10=C11-C11a (19%) + TORS C8=C9-C10=C11(12%)
956	977,38	957,83	48,23	STRE C7-C6a (11%) + STRE O2-C (24%)
-	954,43	935,34	0,51	TORS H-C5-N6-C6a(67%) + TORS H-C4-C3a-C3b (11%) + TORS N6-C5=C4-C3a (13%)
917	942,35	923,50	39,26	STRE (grupo dimetil) C $\alpha$ -C7(11%)
884	896,20	878,27	1,46	STRE(grupo dimetil) C $\alpha$ -C7(15%) + STRE C $\beta$ -C7 (18%)
834	857,22	840,07	10,85	TORS H-C11=C10-C9 (13%) +TORS H-C10=C11-C11a(54%)
818	836,62	819,89	7,28	TORS C5-C4-C3a-C3b (10%) + TORS C3-C3a-C3b-C1a (16%) + OUT C6a-C3a-C1a-C3b (26%) + OUT C4-C3b-C3-C3a (17%)
-	824,95	808,45	14,84	BEND N6-C5=C4 (11%)
-	804,48	788,39	11,26	TORS H-C4-C3a-C3b (55%)



**Figura 12.** Comparação entre os espectros teóricos (monômeros e dímeros) obtidos e espectros experimentais para os compostos I, II e III.

#### 4.1.6. Análises NBO

Para 9-metoxiguatterfriesina (I) a análise de perturbação de segunda ordem (Tabela 7) mostra que os maiores valores  $E^{(2)}$  são de hiperconjugações  $\pi \rightarrow \pi^*$  C7a-C11a  $\rightarrow$  C3b-C1a (13,79 kcal/mol), C7a-C11a  $\rightarrow$  C8-C9 (17,40 kcal/mol), C7a-C11a  $\rightarrow$  C11-C10 (21,95 kcal/mol), C2-C1  $\rightarrow$  C3-C3a (19,75 kcal/mol), C2-C1  $\rightarrow$  C3b-C1a (17,35 kcal/mol), C3-C3a  $\rightarrow$  C2-C1 (19,57 kcal/mol), C3-C3a  $\rightarrow$  C2-C1 (19,57 kcal/mol), C3b-C1a  $\rightarrow$  C7a-C11a (12,28 kcal/mol), C3b-C1a  $\rightarrow$  C2-C1 (21,83 kcal/mol), C3b-C1a  $\rightarrow$  C3-C3a (20,30 kcal/mol), C3b-C1a  $\rightarrow$  N6-C6a (14,82 kcal/mol), C8-C9  $\rightarrow$  C7a-C11a (23,23 kcal/mol), C8-C9  $\rightarrow$  C11-

C10 (15,71 kcal/mol), C11-C10→C7a-C11a (16,00 kcal/mol) e C11-C10→C8-C9 (22,89 kcal/mol), as conjugações  $n \rightarrow \pi^*$  O3→C8-C9 (30,32 kcal/mol) e O1→C3-C3a (26,84 kcal/mol) e interações  $\pi^* \rightarrow \pi^*$  C2-C1→C3b-C1a (224,59 kcal/mol), C8-C9→C7a-C11a (217,68 kcal/mol) e C8-C9→C11-C10 (231,57 kcal/mol).

**Tabela 7.** Energias de segunda perturbação selecionadas para o composto I.

Donor orbital (i)	Type	Acceptor orbital (j)	Type	$E_{(j)} - E_{(i)}$ a,u,	$E^{(2)}$ (kcal/mol)
C7a-C11a	$\pi$	C3b-C1a	$\pi^*$	0,28	13,79
C7a-C11a	$\pi$	C8-C9	$\pi^*$	0,27	17,40
C7a-C11a	$\pi$	C11-C10	$\pi^*$	0,28	21,95
C2-C3	$\sigma$	C3-C3a	$\sigma^*$	1,28	5,37
C2-C1	$\pi$	C3-C3a	$\pi^*$	0,30	19,75
C2-C1	$\pi$	C3b-C1a	$\pi^*$	0,31	17,35
C3-C3a	$\sigma$	C2-C3	$\sigma^*$	1,25	5,05
C3-C3a	$\pi$	C2-C1	$\pi^*$	0,29	19,57
C3a-C3b	$\sigma$	C3b-C1a	$\sigma^*$	1,27	5,07
C3b-C1a	$\sigma$	C3a-C3b	$\sigma^*$	1,26	5,30
C3b-C1a	$\pi$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,29	12,28
C3b-C1a	$\pi$	C2-C1	$\pi^*$	0,27	21,83
C3b-C1a	$\pi$	C3-C3a	$\pi^*$	0,28	20,30
C3b-C1a	$\pi$	N6-C6a	$\pi^*$	0,29	14,82
C5-N6	$\sigma$	C6a-C7	$\sigma^*$	1,10	6,68
N6-C6a	$\pi$	C3b-C1a	$\pi^*$	0,35	6,71
C6a-C7	$\sigma$	C5-N6	$\sigma^*$	0,97	5,16
C8-C9	$\pi$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,30	23,23
C8-C9	$\pi$	C11-C10	$\pi^*$	0,30	15,71
C11-C10	$\pi$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,29	16,00
C11-C10	$\pi$	C8-C9	$\pi^*$	0,28	22,89
O3	LP(1)	C8-C9	$\sigma^*$	1,12	7,36
O3	LP(2)	C8-C9	$\pi^*$	0,35	30,32
O3	LP	C3-H $\alpha$	$\sigma^*$	0,69	5,77

O3	LP	C3-H $\beta$	$\sigma^*$	0,69	5,75
O2	LP(1)	C2-C1	$\pi^*$	0,57	5,92
O2	LP	C2-C3	$\sigma^*$	0,86	6,37
O2	LP(2)	C2-C1	$\sigma^*$	0,87	8,04
O2	LP(2)	C1-H	$\sigma^*$	0,71	6,10
O3	LP(2)	C2-H	$\sigma^*$	0,74	5,83
O1	LP	C3-C3a	$\pi^*$	0,36	26,84
N6	LP(1)	C6a	RY	1,22	5,69
N6	LP(1)	C3b-C6a	$\sigma^*$	0,82	14,13
C2-C1	$\pi^*$	C3b-C1a	$\pi^*$	0,02	224,59
C8-C9	$\pi^*$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,02	217,68
C8-C9	$\pi^*$	C11-C10	$\pi^*$	0,01	231,57
<i>Dimer</i>					
<i>Monomer 2</i>			<i>Monomer 1</i>		
N6	LP(1)	O1-H	$\sigma^*$	0,78	8,24

Para o composto (*R*)-6,6a-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (II), os maiores valores  $E^{(2)}$  (Tabela 8) são de hiperconjugações de  $\pi \rightarrow \pi^*$  C11-C10  $\rightarrow$  C7a-C11a (16,18 kcal/mol), C11-C10  $\rightarrow$  C9-C8 (22,80 kcal/mol), C1-C1a  $\rightarrow$  C2-C3 (19,06 kcal/mol), C1-C1a  $\rightarrow$  C3a-C3b (22,10 kcal/mol), C1-C1a  $\rightarrow$  C11a-C7a (11,82 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C1-C1a (21,78 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C3a-C3b (17,40 kcal/mol), C3a-C3b  $\rightarrow$  C1-C1a (16,86 kcal/mol), C3a-C3b  $\rightarrow$  C2-C3 (22,82 kcal/mol), C11a-C7a  $\rightarrow$  C11-C10 (22,09 kcal/mol), C11a-C7a  $\rightarrow$  C1-C1a (13,85 kcal/mol), C9-C8  $\rightarrow$  C11-C10 (15,89 kcal/mol) e C9-C8  $\rightarrow$  C11a-C7a (22,73 kcal/mol), as hiperconjugações  $n \rightarrow \pi^*$  O3  $\rightarrow$  C8-C9 (29,87 kcal/mol) e O1  $\rightarrow$  C2-C3 (26,82 kcal/mol) e conjugações  $\pi^* \rightarrow \pi^*$  C1-C1a  $\rightarrow$  C3a-C3b (346,94 kcal/mol), C1-C1a  $\rightarrow$  C11a-C7a (152,43 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C1-C1a (344,86 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C3a-C3b (174,44 kcal/mol), C9-C8  $\rightarrow$  C11-C10 (227,17 kcal/mol) e C9-C8  $\rightarrow$  C11a-C7a (191,88 kcal/mol).

**Tabela 8.** Energias de segunda perturbação selecionadas para o composto II.

Donor orbital (i)	Type	Acceptor orbital (j)	Type	$E_{(j)} - E_{(i)}$ a,u,	$E^{(2)}$ (kcal/mol)
C11-C10	$\pi$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,29	16,18
C11-C10	$\pi$	C9-C8	$\pi^*$	0,28	22,80
C11-C11a	$\sigma$	C11a-C7a	$\sigma^*$	1,26	5,10
C1-C1a	$\pi$	C2-C3	$\pi^*$	0,28	19,06
C1-C1a	$\pi$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,30	22,10
C1-C1a	$\pi$	C11a-C7a	$\pi^*$	0,30	11,82
C2-C3	$\sigma$	C3-C3a	$\sigma^*$	1,27	5,32
C2-C3	$\pi$	C1-C1a	$\pi^*$	0,30	21,78
C2-C3	$\pi$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,31	17,40
C3-C3a	$\sigma$	C2-C3	$\sigma^*$	1,25	5,06
C3-C3a	$\sigma$	C3a-C3b	$\sigma^*$	1,30	5,20
C3a-C3b	$\pi$	C1-C1a	$\pi^*$	0,29	16,86
C3a-C3b	$\pi$	C2-C3	$\pi^*$	0,27	22,82
C11a-C7a	$\pi$	C11-C10	$\pi^*$	0,28	22,09
C11a-C7a	$\pi$	C1-C1a	$\pi^*$	0,27	13,85
C9-C8	$\pi$	C11-C10	$\pi^*$	0,30	15,89
C9-C8	$\pi$	C11a-C7a	$\pi^*$	0,30	22,73
C8-H	$\sigma$	C11a-C7a	$\sigma^*$	1,10	5,06
O3	LP(1)	C9-C8	$\sigma^*$	1,12	7,32
O3	LP(2)	C3-H $\beta$	$\sigma^*$	0,69	5,91
O3	LP(2)	C3-H $\alpha$	$\sigma^*$	0,69	5,76
O3	LP(2)	C9-C8	$\pi^*$	0,35	29,87
O3	LP(1)	C1-C2	$\sigma^*$	1,06	5,80
O3	LP(2)	C1-C1a	$\pi^*$	0,39	9,57
O3	LP(2)	C2-H	$\sigma^*$	0,74	6,00
O2	LP	C1-H	$\sigma^*$	0,71	6,15
O2	LP	C1-C2	$\sigma^*$	0,87	7,61
O2	LP	C2-C3	$\sigma^*$	0,87	5,58
O1	LP(1)	C3-C3a	$\sigma^*$	1,18	6,47

O1	LP(2)	C2-C3	$\pi^*$	0,35	26,82
N6	LP(1)	C6a-H	$\sigma^*$	0,70	7,66
N6	LP(1)	C5-H $\beta$	$\sigma^*$	0,69	7,89
C1-C1a	$\pi^*$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,01	346,94
C1-C1a	$\pi^*$	C11a-C7a	$\pi^*$	0,01	152,43
C2-C3	$\pi^*$	C1-C1a	$\pi^*$	0,01	344,86
C2-C3	$\pi^*$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,02	174,44
C9-C8	$\pi^*$	C11-C10	$\pi^*$	0,01	227,17
C9-C8	$\pi^*$	C11a-C7a	$\pi^*$	0,02	191,88
<i>Dimer</i>					
<i>Monomer 2</i>			<i>Monomer 1</i>		
N6	LP(1)	O1-H	$\sigma^*$	0,76	11,58

---

Para 4,5-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (III) as interações intramoleculares hiperconjugativas mais fortes (Tabela 9) são as conjugações  $\pi \rightarrow \pi^*$  C11-C10  $\rightarrow$  C7a-C11a (12,39 kcal/mol), C11-C10  $\rightarrow$  C9-C8 (16,02 kcal/mol), C7a-C11a  $\rightarrow$  C11-C10 (14,86 kcal/mol), C7a-C11a  $\rightarrow$  C1a-C1 (16,85 kcal/mol), C7a-C11a  $\rightarrow$  C9-C8 (11,71 kcal/mol), C6a-N6  $\rightarrow$  C5-C4 (18,47 kcal/mol), C5-C4  $\rightarrow$  C6a-N6 (10,98 kcal/mol), C5-C4  $\rightarrow$  C3a-C3b (13,30 kcal/mol), C3a-C3b  $\rightarrow$  C6a-N6 (19,42 kcal/mol), C3a-C3b  $\rightarrow$  C5-C4 (12,40 kcal/mol), C3a-C3b  $\rightarrow$  C1a-C1 (13,80 kcal/mol), C3a-C3b  $\rightarrow$  C2-C3 (13,71 kcal/mol), C1a-C1  $\rightarrow$  C7a-C11a (13,40 kcal/mol), C1a-C1  $\rightarrow$  C3a-C3b (13,60 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C3a-C3b (12,95 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C1a-C1 (13,60 kcal/mol), C9-C8  $\rightarrow$  C11-C10 (11,09 kcal/mol), C9-C8  $\rightarrow$  C7a-C11a (15,13 kcal/mol), as conjugações  $n \rightarrow \sigma^*$  N6  $\rightarrow$  C6a-C3b (12,36 kcal/mol), O3  $\rightarrow$  C11-H (10,89 kcal/mol) and O3  $\rightarrow$  C1-C2 (10,43 kcal/mol) e interações  $\pi^* \rightarrow \pi^*$  C1a-C1  $\rightarrow$  C7a-C11a (106,71 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C3a-C3b (203,60 kcal/mol), C2-C3  $\rightarrow$  C1a-C1 (165,01 kcal/mol), C9-C8  $\rightarrow$  C11-C10 (149,15 kcal/mol) and C9-C8  $\rightarrow$  C7a-C11a (112,79 kcal/mol).

**Tabela 9.** Energias de segunda perturbação selecionadas para o composto III.

Donor orbital (i)	Type	Acceptor orbital (j)	Type	$E_{(j)} - E_{(i)}$ a.u,	$E^{(2)}$ (kcal/mol)
C11-C11A	$\sigma$	C7-C7a	$\sigma^*$	1,04	5,00
C11-C10	$\pi$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,32	12,39
C11-C10	$\pi$	C9-C8	$\pi^*$	0,30	16,02
C11-H	$\sigma$	C10-C9	$\sigma^*$	0,99	5,62
C7a-C11a	$\pi$	C11-C10	$\pi^*$	0,31	14,86
C7a-C11a	$\pi$	C1a-C1	$\pi^*$	0,30	16,85
C7a-C11a	$\pi$	C9-C8	$\pi^*$	0,30	11,71
C7a-C8	$\sigma$	C9-O3	$\sigma^*$	1,02	5,48
C6a-N6	$\pi$	C5-C4	$\pi^*$	0,33	18,47
C6a-N6	$\pi$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,35	9,48
C5-C4	$\pi$	C6a-N6	$\pi^*$	0,30	10,98
C5-C4	$\pi$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,33	13,30
C5-H	$\sigma$	C4-C3a	$\sigma^*$	1,01	5,27
C4-H	$\sigma$	N6-C5	$\sigma^*$	1,00	5,10
C3a-C3b	$\pi$	C6a-N6	$\pi^*$	0,29	19,42
C3a-C3b	$\pi$	C5-C4	$\pi^*$	0,30	12,40
C3a-C3b	$\pi$	C1a-C1	$\pi^*$	0,32	13,80
C3a-C3b	$\pi$	C2-C3	$\pi^*$	0,31	13,71
C3b-C1a	$\sigma$	C1-O3	$\sigma^*$	1,04	5,52
C1a-C1	$\pi$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,34	13,40
C1a-C1	$\pi$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,33	13,60
C1-C2	$\sigma$	C3-O1	$\sigma^*$	1,04	5,05
C2-C3	$\pi$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,34	12,95
C2-C3	$\pi$	C1a-C1	$\pi^*$	0,34	13,60
C10-H	$\sigma$	C11-C11a	$\sigma^*$	1,02	5,63
C9-C8	$\pi$	C11-C10	$\pi^*$	0,33	11,09
C9-C8	$\pi$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,33	15,13
C8-H	$\sigma$	C10-C9	$\sigma^*$	1,01	5,43
O1-H	$\sigma$	C2-C3	$\sigma^*$	1,36	5,25

N6	LP(1)	C6a	RY*	1,53	5,13
N6	LP(1)	C6a-C3b	$\sigma^*$	0,82	12,36
N6	LP(1)	C5-C4	$\sigma^*$	0,95	7,78
O3	LP(1)	C11-H	$\sigma^*$	1,09	5,19
O3	LP(1)	C1a-C1	$\pi^*$	0,61	5,67
O3	LP(2)	C11-H	$\sigma^*$	0,89	10,89
O3	LP(2)	C1-C2	$\sigma^*$	0,82	10,43
O2	LP(2)	C2-C3	$\pi^*$	0,61	5,41
O2	LP(2)	C1-H	$\sigma^*$	0,74	6,01
O2	LP(2)	C1-C2	$\sigma^*$	0,77	8,50
O2	LP(2)	C2-C3	$\sigma^*$	0,91	8,80
O1	LP(2)	C2-C3	$\pi^*$	0,36	29,41
C1a-C1	$\pi^*$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,02	106,71
C2-C3	$\pi^*$	C3a-C3b	$\pi^*$	0,01	203,60
C2-C3	$\pi^*$	C1a-C1	$\pi^*$	0,01	165,01
C9-C8	$\pi^*$	C11-C10	$\pi^*$	0,01	149,15
C9-C8	$\pi^*$	C7a-C11a	$\pi^*$	0,02	112,79
<i>Dimer</i>					
<i>Monomer</i> 2		<i>Monomer</i> 1			
N6	LP(1)	H (O1-H)	LP *	0,48	8,63

A ligação de hidrogênio intermolecular N6---O1-H, que dá estabilidade aos dímeros propostos, são justificados pelo tipo de interação hiperconjugativa LP→ $\sigma^*$  de N6→O1-H (Figura 9) que mostrou valores de 8,24, 11,58 e 8,63 kcal/mol para as estruturas I, II e III respectivamente.

#### 4.1.7. Análises NLO

Visto que os valores de polarizabilidades do output do Gaussian são relatados em unidades atômicas (a.u.), os valores calculados foram convertidos em unidades eletrostáticas (esu) (Para  $\alpha$ : 1 a.u.= 0,1482x 10<sup>-24</sup> esu; Para  $\beta$ : 1 a.u. = 8,639x 10<sup>-33</sup> esu). A teoria DFT no nível B3LYP/6-311G(2d,p) tem sido utilizada para prever momentos

dipolar, polarizabilidade e hiperpolarizabilidade de primeira ordem para os três compostos (Tabelas 10-12).

Como visto na Tabela 10, o componente dipolar com valor mais elevado para I é o  $\mu_y = 0,4134$  D e o momento dipolar total é  $\mu_{total} = 0,57$  D. A polarizabilidade média calculada  $\alpha_0$  e anisotropia da polarizabilidade  $\Delta\alpha_{total}$  são  $3,962 \times 10^{-23}$  e  $4,81 \times 10^{-20}$  esu, respectivamente. O valor da hiperpolarizabilidade de primeira ordem calculada  $\beta$  é  $4,34 \times 10^{-30}$  esu, 22 vezes maior que a  $\beta$  da ureia ( $\sim 0,2 \times 10^{-30}$  esu). O componente dipolar de maior valor para II (Tabela 11) é o  $\mu_y = 1,1641$  D e o total é  $\mu_{total} = 1,5205$  D. O  $\alpha_0$  e  $\Delta\alpha_{total}$  calculados são  $3,970 \times 10^{-23}$  esu e  $5,01 \times 10^{-20}$  esu, respectivamente. O valor calculado de  $\beta$  é  $2,35 \times 10^{-30}$  esu, 12 vezes maior que  $\beta$  da uréia. O maior valor do componente dipolar para III (Tabela 12) é o  $\mu_y = 0,0791$  D e o total é  $\mu_{total} = 0,0213$  D. O  $\alpha_0$  e  $\Delta\alpha_{total}$  calculados são  $3,91 \times 10^{-23}$  e  $4,58 \times 10^{-20}$  esu, respectivamente. O valor calculado de  $\beta$  é  $7,46 \times 10^{-30}$  esu, 37 vezes o valor de  $\beta$  da uréia, indicando III como um melhor candidato potencial para aplicações ópticas não lineares comparados aos compostos I e II.

**Tabela 10.** Momento dipolo, polarizabilidade e hiperpolarizabilidade em fase gasosa para composto I usando B3LYP 6-311G(2d,p)

Dipolo, D	Polarizabilidade, au	Hiperpolarizabilidade, au
$\mu_x = -0,3725$	$\alpha_{xx} = 352,5850$	$\beta_{xxx} = -364,3296$
$\mu_y = 0,4134$	$\alpha_{xy} = -3,7126$	$\beta_{xxv} = 235,9155$
$\mu_z = 0,1535$	$\alpha_{yy} = 298,2512$	$\beta_{xyv} = 53,9990$
$\mu_{total} = 0,5670$	$\alpha_{xz} = 0,4771$	$\beta_{yyy} = 293,5788$
	$\alpha_{yz} = 0,0477$	$\beta_{xxz} = -13,9658$
	$\alpha_{zz} = 151,2777$	$\beta_{xyz} = 11,1750$
	$\alpha_{total} = 3,962 \times 10^{-23}$ esu	$\beta_{yyz} = 0,1215$
	$\Delta\alpha_{total} = 4,81 \times 10^{-20}$ esu	$\beta_{xzz} = -11,8669$
		$\beta_{vzz} = 39,4754$
		$\beta_{zzz} = 7,0329$
		$\beta_{total} = 4,34 \times 10^{-30}$ esu

**Tabela 11.** Momento dipolo, polarizabilidade e hiperpolarizabilidade em fase gasosa para o composto II usando B3LYP 6-311G(2d,p)

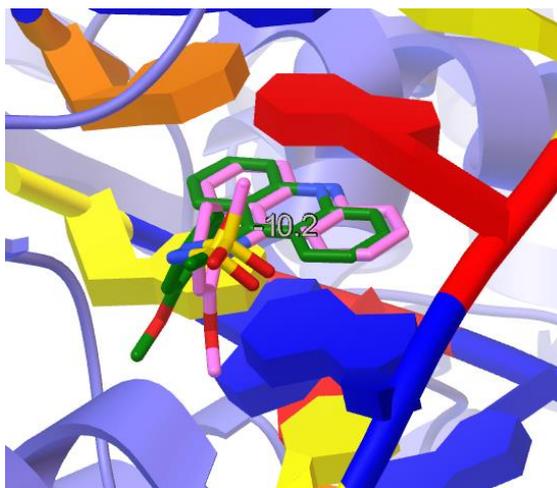
Dipolo, D	Polarizabilidade, au	Hyperpolarizabilidade, a,u,
$\mu_x = 0,1620$	$\alpha_{xx} = 355,1012$	$\beta_{xxx} = 153,2600$
$\mu_y = 1,1641$	$\alpha_{xy} = -7,2089$	$\beta_{xxv} = 49,6434$
$\mu_z = -0,0578$	$\alpha_{yv} = 282,3135$	$\beta_{xvv} = -27,6559$
$\mu_{total} = 1,5205$	$\alpha_{xz} = -0,7478$	$\beta_{yvv} = 130,3710$
	$\alpha_{yz} = 5,6126$	$\beta_{xxz} = 21,8291$
	$\alpha_{zz} = 166,2785$	$\beta_{xyv} = 42,3031$
	$\alpha_{total} = 3,970 \times 10^{-23} \text{esu}$	$\beta_{yyz} = 64,5783$
	$\Delta\alpha_{total} = 5,01 \times 10^{-20} \text{esu}$	$\beta_{xzz} = 14,6599$
		$\beta_{yzz} = 34,9008$
		$\beta_{zzz} = 4,8825$
		$\beta_{total} = 2,35 \times 10^{-30} \text{esu}$

**Tabela 12.** Momento dipolo, polarizabilidade e hiperpolarizabilidade em fase gasosa para o composto III usando B3LYP 6-311G(2d,p)

Dipolo, D	Polarizabilidade, au	Hyperpolarizabilidade, a,u,
$\mu_x = -0,0129$	$\alpha_{xx} = 363,7174$	$\beta_{xxx} = -743,3788$
$\mu_y = 0,0791$	$\alpha_{xy} = -6,9044$	$\beta_{xxv} = 226,7444$
$\mu_z = -0,0467$	$\alpha_{yv} = 297,7546$	$\beta_{xvv} = 15,9287$
$\mu_{total} = 0,0213$	$\alpha_{xz} = 2,3155$	$\beta_{yvv} = 260,3187$
	$\alpha_{vz} = 1,2494$	$\beta_{xxz} = 33,5707$
	$\alpha_{zz} = 131,9443$	$\beta_{xvz} = 14,1509$
	$\alpha_{total} = 3,91 \times 10^{-23} \text{esu}$	$\beta_{yyz} = -12,1046$
	$\Delta\alpha_{total} = 4,58 \times 10^{-20} \text{esu}$	$\beta_{xzz} = 1,2038$
		$\beta_{yzz} = -20,8916$
		$\beta_{zzz} = 13,8551$
		$\beta_{total} = 7,46 \times 10^{-30} \text{esu}$

#### 4.1.8. Estudo de docking molecular

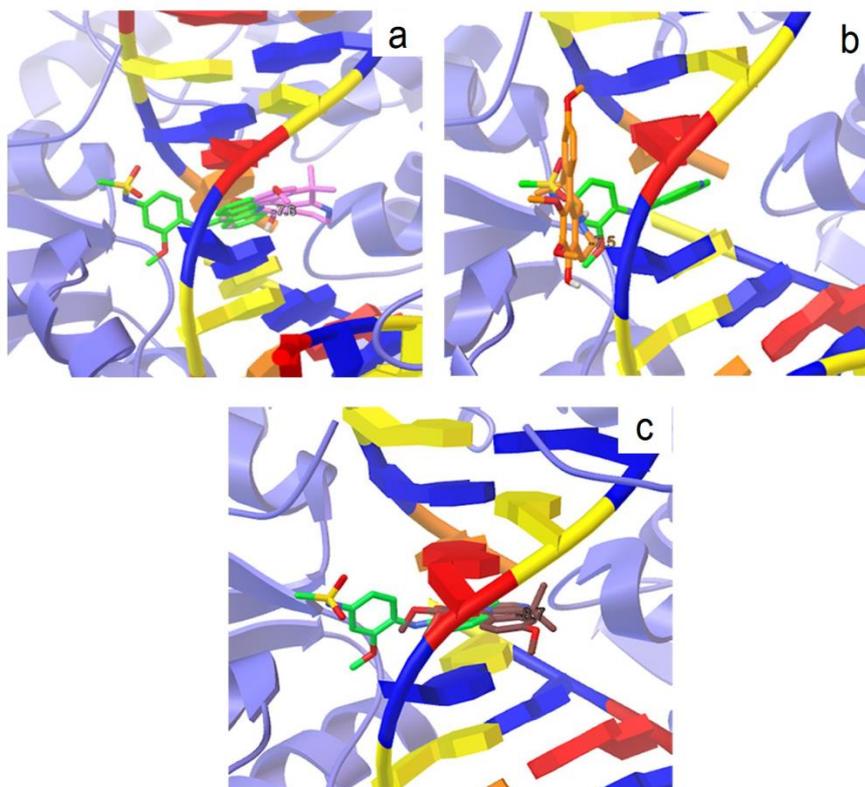
O protocolo de ancoragem foi testado pela remoção do inibidor amsacrina co-cristalizada da proteína, e então a reinserção do mesmo no mesmo sítio a partir dos valores de gridbox pré-estabelecidos (Figura 7). O valor de RMSD obtido para sobreposição de estruturas foi de 1,0178 Å, valores de RMSD até 2 Å são aceitáveis para um protocolo de ancoragem molecular (KIRCHMAIR *et al.* 2008)



**Figura 13.** Superposição da estrutura docada (rosa) e co-cristalizada da amsacrina (verde) no sítio de clivagem do DNA- Topoisomerase II humana.

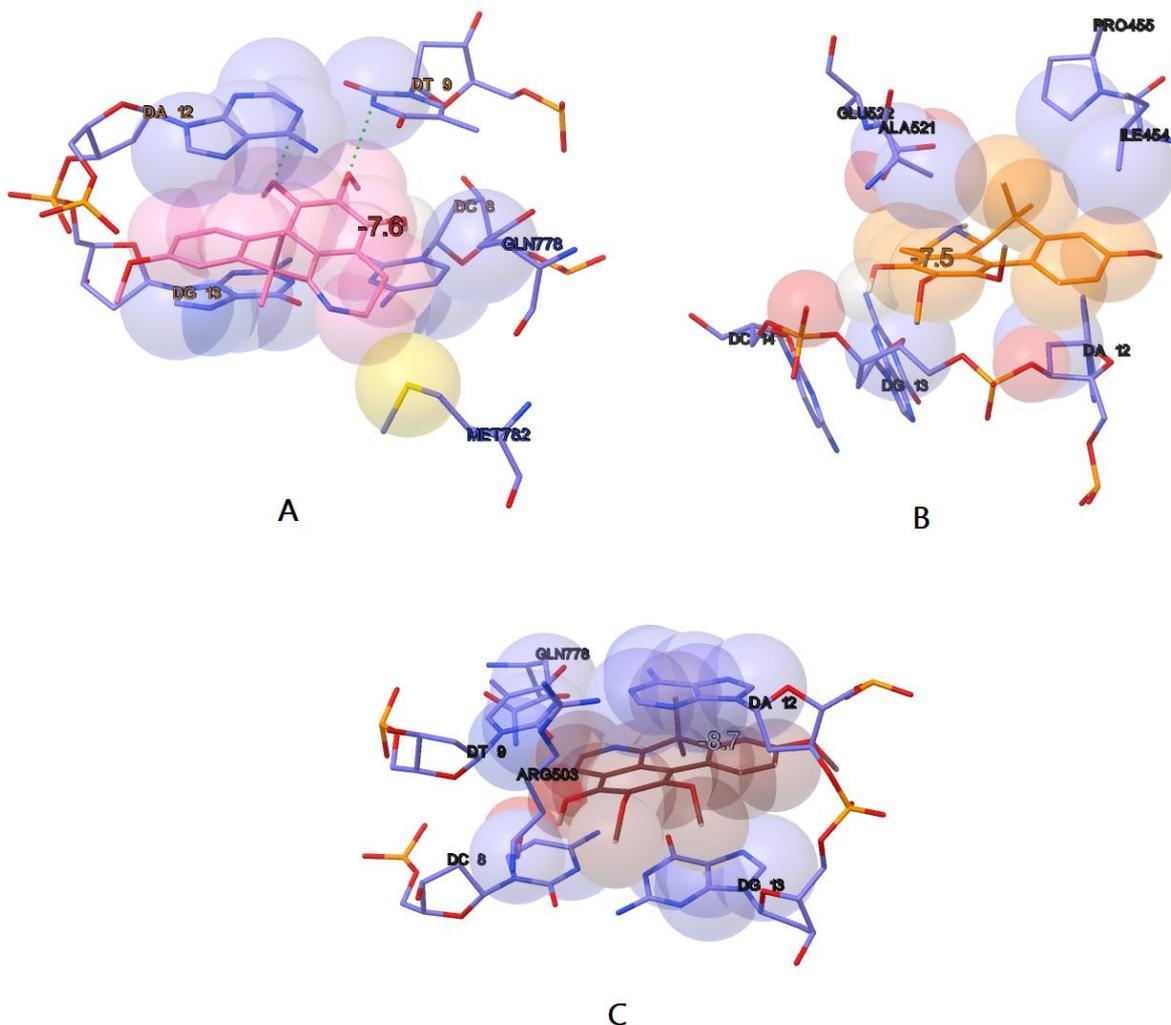
A análise da energia livre de ligação ( $\Delta G$ ) demonstrou que as estruturas I, II e III ancoraram com valores  $\Delta G$  de -7,6, -7,5 e -8,7 kcal/mol, respectivamente, enquanto a amsacrina, uma droga antineoplásica usada no tratamento da leucemia, em particular leucemia linfóide aguda, que atua na topoisomerase II (ARLIN *et al.* 1987; ARLIN, 1990) ancorou com valor  $\Delta G$  de -10,2 kcal/mol. Isso indica que a estrutura III tem um melhor potencial inibitório para a enzima comparando os outros dois alcalóides 7,7-dimetilporfínicos (Figura 15). Analisando as interações ligante-macromolécula, a estrutura I liga-se ao sítio catalítico por interações não covalentes tais como ligação de hidrogênio, amino- $\pi$  e interações  $\pi$ - $\pi$  (ver figura 16A). Os grupos metoxi no anel B interagem com as bases DT9 e DA12 por ligações de hidrogênio, o nitrogênio no anel A interage por interação fraca amino- $\pi$  com MET782, os anéis B e D interagem por interações  $\pi$ - $\pi$  com as bases DA 12, DC 8 e DG 13. A estrutura II liga-se ao sítio pela fraca interação não covalente alquil- $\pi$ , alquil-alquile interações  $\pi$ - $\pi$  (ver figura 16B). O grupo dimetil no anel C interage com PRO455 e ALA521 por interações alquil- $\pi$  e alquil-alquil. O anel B interage com a base DG 13 pela fraca interação  $\pi$ - $\pi$ . A estrutura III liga-se ao sítio catalítico por interações não covalentes  $\pi$ - $\pi$  e alquil- $\pi$  (ver figura 16C). O grupo hidroxil no anel A e os grupos dimetil no anel C interagem com as bases ARG503 e DA 12, respectivamente, por interações alquil- $\pi$ . Os anéis A, B e D interagem com as bases DA12, DG13, DT9 e DC8 por interações  $\pi$ - $\pi$ , que promove uma boa estabilidade para a estrutura III/Topo II-DNA. Estas interações  $\pi$ - $\pi$  apresentadas, com anéis aromáticos entre pares de

bases do DNA a montante e a jusante, similar a amsacrina, revelando a estrutura III como possível indicativo de potencial anticancerígeno.



**Figura 14.** Superposição das estruturas ancoradas com amsacrina co-cristalizada (verde) a) 9-metoxiguatterfriesina (rosa), b) (R)-6,6a-dihidro-9-metoxiguatterfriesina (laranja) e c) 4,5-dehidro-9-metoxiguatterfriesina (marrom).

Apesar da baixa energia livre de ligação apresentada na estrutura I, as análises de modo de ligação mostram que esta molécula interage com o sítio de DNA do complexo topo-II-DNA por ligação de hidrogênio, o que indica que o composto I pode agir como um fraco inibidor da clivagem do DNA. Por outro lado, apesar de ter a energia livre de ligação perto do valor da estrutura I, a estrutura II não estava interagindo com o sítio de clivagem do DNA do complexo topo II-DNA devido à sua conformação não planar. Este dado implica que a aromaticidade do anel A também influenciou os resultados de docking molecular dos alcaloides 7,7-dimetilaporfínico, reforçando a ideia já discutida nas seções 4.1.3 e 4.1.4.



**Figura 15.** Interações no sítio para estrutura A) I, B)II e C) III.

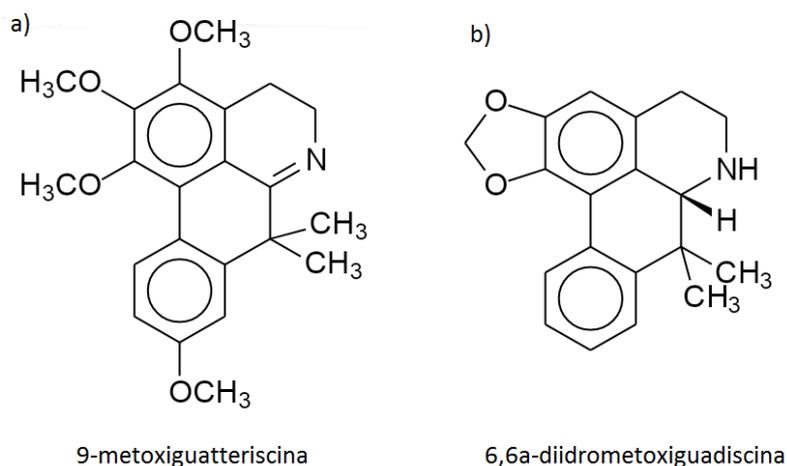
#### 4.1.9. Ensaio de citotoxicidade

Os valores registrados  $IC_{50}$  (a metade da concentração inibitória máxima) para doxorubicina, usado como controle positivo, foi de 0.79, 2.28, 1.32, 0.68 e 3.94 em frente às linhas celulares HepG2, HL-60, K-562, B16-F10 e PBMC respectivamente. O composto III revelou a citotoxicidade mais potente  $IC_{50}$  com valores de 14.52, 25.10, 57.09, 24.36 e 46.64  $\mu M$  em frente as mesmas linhas celulares respectivamente, seguido pelo composto I com valores  $IC_{50}$  de 43.12, 24.84, 34.01 e 62.36  $\mu M$  em frente das linhas celulares HepG2, HL-60, B16-F10 e PBMC respectivamente. O composto I não apresentou citotoxicidade contra a célula K-562 ( $IC_{50} > 70.34$ ) e a II não apresentou nenhuma citotoxicidade das

linhas celulares testada. Deste jeito, a boa afinidade com o DNA do complexo topoisomerase II-DNA sugerido pelos cálculos de ancoragem para o composto III mostrou ser plausível em vista da citotoxicidade revelada por essa molécula, o mesmo pode ser declarado para o composto I. É importante enfatizar que o composto III difere dos compostos I e II pela insaturação da amina cíclica (Anel A). O composto III tem uma amina cíclica mais insaturada do que o composto I e a amina cíclica da II não é insaturada. Como já estabelecido na seção 3.4, este dado reforça a ideia de que a ausência da aromaticidade no anel A conduz a redução da citotoxicidade dos alcalóides 7,7-dimetilaporfínico.

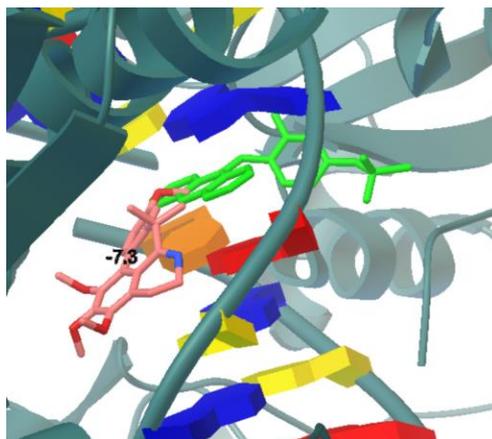
#### 4.2. Estudo de docking molecular para as moléculas 9-metoxiguatteriscina e 6,6a-diidrometoxiguadiscina

Com o intuito de comparar os potenciais bioativos em relação aos tipos de substituintes existentes no esqueleto da estrutura 7,7-dimetilaporfínica, realizou-se um estudo de docking molecular, usando as mesmas dimensões de gridbox, mesma enzima (Topoisomerase II-DNA) e ligante padrão (Amsacrina), para as estruturas 9-metoxiguatteriscina (semelhante ao composto I) e 6,6a-diidrometoxiguadiscina (semelhante ao composto II) (Figura 8). O intuito foi verificar se os substituintes melhoraram ou pioraram a energia livre de ligação.



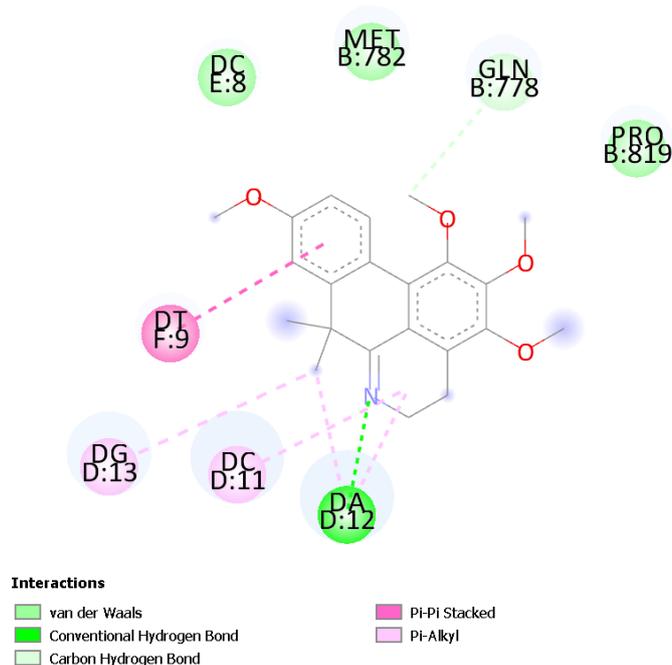
**Figura 16.** Fórmula estrutural para os compostos a) 9-metoxiguatteriscina e b) 6,6a-diidrometoxiguadiscina..

A molécula 9-metoxigatteriscina apresentou uma energia de ligação menor do que a apresentada pela estrutura I (-7,6 para I e -7,3 kcal/mol para 9-metoxigatteriscina), o que nos leva a concluir que a substituição do grupo OH na posição 3 reduz o potencial bioativo de alcaloides do tipo 7,7-dimetilporfínicos (Figura 9). Isso porque a substituição do hidrogênio nessa posição faz com que os pares de elétrons do oxigênio estejam menos "disponíveis" para participar de uma interação com o sítio ativo, por exemplo.



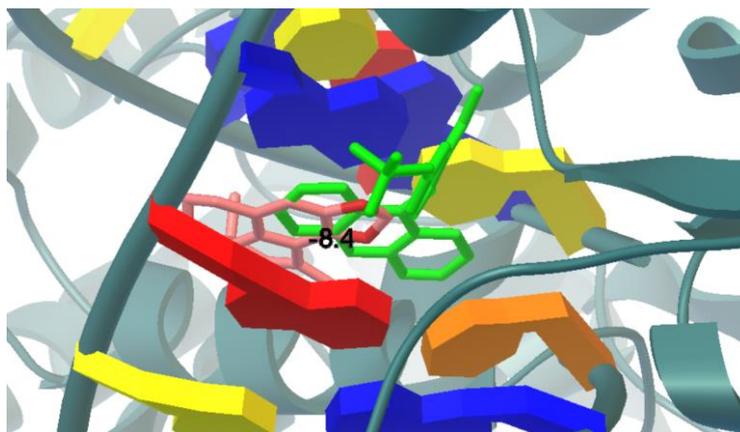
**Figura 17.** Energia livre de ligação para a 9-metoxigatteriscina (rosa) em comparação com o sítio da amsacrina (verde).

Com respeito às interações eletrônicas (Figura 10) existentes no sítio da enzima, a 9-metoxigatteriscina apresentou interação forte do tipo ligação de hidrogênio com o par de base do DNA DA12, interações do tipo  $\pi$ -alquil com os pares de base DG13, DC11 e também com DA12, o que indica que a substância pode agir como inibidor da enzima. Além disso, a molécula interagiu com interação do tipo  $\pi$ - $\pi$  com o par de base DT9 do DNA, e interage fracamente por ligação de carbono hidrogênio com alguns resíduos de aminoácidos tais como MET782 e GLN 778.



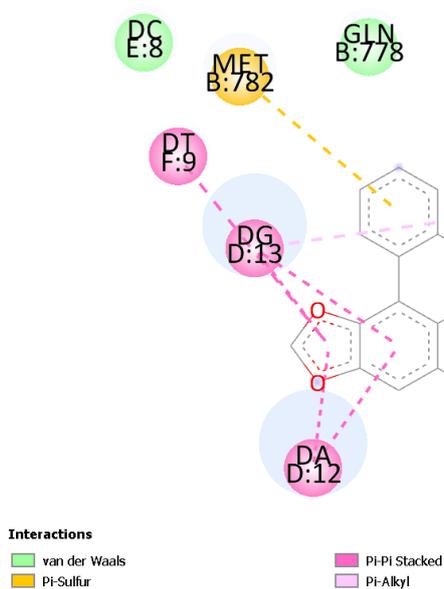
**Figura 18.** Interações no sítio ativo para a 9-metoxigatteriscina.

A molécula 6,6a-diidrometoxiguadiscina, cujo esqueleto assemelha-se à molécula II do artigo, apresentou melhoras significativas no potencial bioativo em comparação a estrutura II (Figura 11). Os valores são de -7,5kcal/mol para II e -8,4 kcal/mol para 6,6a-diidrometoxiguadiscina. Isso nos leva a concluir que ao fechar o anel na posição 1 e 2 formando um dióxido metileno, o potencial bioativo é aumentado com relação a uma molécula que possua os grupos metóxidos como substituintes em 1 e 2. Além disso, a estrutura não tem substituinte no anel aromático D, como acontece na estrutura II do artigo, fazendo com que os elétrons pi desse anel estejam mais propícios a interagir num sítio ativo da enzima topoisomerase II-DNA humana, além de tornar a estrutura mais planar em comparação a II. Lembrando que a planaridade da estrutura se mostrou muito influente com relação à atividade biológica dos compostos 7,7-dimetilaporfínicos (BRANCHES *et al.* 2019).



**Figura 19.** Energia de ligação para a 6,6a-diidrometoxiguadiscina (rosa) em comparação ao sítio da amsacrina (verde).

Com relação às interações (Figura 11), a 6,6a-diidrometoxiguadiscina apresentou interações no sítio do tipo pi-pi com três pares de base do DNA: DT9, DG13 e DA12. Além disso, mostrou interação fraca do tipo Van der Waals com o par de bases DC8 e o resíduo de aminoácido GLN778. Isso mostra que a estrutura é um bom potencial inibidor da enzima.



**Figura 20.** Interações no sítio ativo para 6,6a-diidrometoxiguadiscina.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho teve, entre seus resultados, um artigo publicado no periódico da revista *Journal of Molecular Structure*, uma revista importante da área de química teórica, na qual foi aceito sem nenhuma revisão. Este artigo contém os dados que estão presentes na seção 4.1 dessa dissertação, ou seja, todos os resultados dizem respeito aos alcalóides 9-metoxiguatterfriesina (I), (R)-6,6-desidro-9-metoxiguatterfriesina (II) e 4,5-dehidro-9-metoxiguatterfriesina (III). Com relação aos resultados obtidos, a metodologia utilizada apresentou uma boa acurácia em comparação aos dados experimentais já existentes. Todos os comprimentos de ligação apresentaram valores bem próximos à estrutura da N-acetilanonaína, a qual possui um esqueleto bem parecido com o dos 7,7-dimetilaporfínicos.

Com relação aos dados de Homo/Lumo e docking molecular, observou-se que a aromaticidade total no anel A influencia bastante nas características bioativas e também nos descritores de reatividade para esses alcalóides, de forma que a estrutura que apresentou uma maior atividade biológica foi a do alcalóide III, o qual possui aromaticidade no anel A. Isso nos leva a concluir que a planaridade resultante da aromaticidade no anel A torna a entrada no sítio ativo da enzima DNA-Topoisomerase II humana mais fácil. Paralelo a isso, os resultados dos mapas de potencial eletrostático nos levam a concluir que há formação de dímero para os alcalóides I, II e III o que pode interferir nas atividades desses alcalóides quando estiverem no meio *in vivo*, mesmo que os resultados dos testes *in vitro* tenham indicado uma boa atividade para o alcalóide número III, conforme já se havia sido demonstrado pelos resultados do estudo de docking,

Assim, foram feitos estudos de docking molecular para as moléculas 9-metoxiguateriscina e 6,6a-diidrometoxiguadiscina, as quais apresentam esqueletos semelhantes às estruturas I e II, respectivamente, também sendo classificados como alcalóides do tipo 7,7-dimetilaporfínicos. Observou-se que a troca de substituintes nos anéis A e B, mais especificamente a troca de substituintes OH por grupos OCH<sub>3</sub> e posteriormente a formação de outro anel ligado ao anel A aumentou consideravelmente o potencial bioativo para essas estruturas. Ficando como proposta para um estudo futuro a análise de mecanismos que levem a conversão dos alcalóides I e II nos alcalóides 9-

metoxiguateriscina e 6,6a-diidrometoxiguadiscina, além de analisar a termodinâmica por trás desse aumento de potencial bioativo de um para o outro.

Além dessa dissertação e do artigo publicado, outros trabalhos foram feitos em conjunto com outros integrantes do grupo de pesquisa do laboratório de química teórica computacional, gerando publicações em prestigiadas revistas de teórica. Essas publicações tornaram possível a realização e publicação de outro trabalho, em conjunto com um pesquisador da Índia, publicado no ano de 2019 na revista *Journal of Molecular Structure*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, H.A. **Estudos de sistemas químicos aplicando-se a teoria de funcional de densidade**. 2004. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais,.
- AHMED, S. A.; GOGAL Jr, R. M.; WALSH, J. E. 1994. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H] thymidine incorporation assay. **Journal of immunological methods**, 170(2), 211-224.
- ALONSO, H.; BLIZNYUK, A. A.; GREASY, J. E. 2006. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. **Medicinal research reviews**, 26(5), 531-568.
- AMOS, T., E SNYDER, L. C. 1964. Unrestricted Hartree—Fock Calculations. I. An Improved Method of Computing Spin Properties. **The Journal of Chemical Physics**, 41(6), 1773-1783.
- ANTHONY, P. S; LEO, R. J. 1996. Frequências vibracionais harmônicas: uma avaliação de Hartree-Fock, Møller-Plesset, interação de configuração quadrática, teoria do funcional de densidade e fatores de escala semi -empírica. **The Journal of Physical Chemistry** 100 (1996) 16502-16513
- ARLIN, Z. A., AHMED, T., MITTELMAN, A., FELDMAN, E., MEHTA, R., WEINSTEIN, P., BASKIND, P. 1987. A new regimen of amsacrine with high-dose cytarabine is safe and effective therapy for acute leukemia. **Journal of Clinical Oncology**, 5(3), 371-375.
- Arlin, ZA (1990). Estado atual dos programas de quimioterapia combinada com mitoxantrona: uma visão pessoal. *Leucemia e linfoma* , 1 (5-6), 301-305.
- BARREIRO, E. J., RODRIGUES, C. R., ALBUQUERQUE, M. G., SANT'ANNA, C. M. R., & ALENCASTRO, R. B. 1997. Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. **Química Nova**, 20(3), 300-310.
- BERNARDO, L. M. 2006. **Cálculos com funções de onda moleculares correlacionadas. Cálculos HF, MP2 e DFT em hidretos diatômicos da segunda linha**. Dissertação de mestrado:  
[http://www.academia.edu/download/34294690/DLeonardo\\_Maximino\\_Bernardo.pdf](http://www.academia.edu/download/34294690/DLeonardo_Maximino_Bernardo.pdf)
- Biavatti, M. W. (1994). Estudos sobre 8, 10-DI-n-propil-lobelidiol: um novo alcaloide isolado de *Siphocampylus verticillatus* (Cham.) G. Don., Campanulaceae.
- BRANCHES, A. D. S., COSTA, R. A., JUNIOR, E. S. A., BEZZERA, D. P., SOARES, M. B., COSTA, E. V., E OLIVEIRA, K. M. 2019. Theoretical and experimental study by DFT, molecular docking calculations and cytotoxicity assay of 7, 7-dimethylaporphine alkaloids type isolated from *Guatteria friesiana* (Annonaceae). **Journal of Molecular Structure**, 1177, 347-362.
- CAVE, A., LEBOEUF, M., E WATERMAN, P. G. 1987. The aporphinoid alkaloids of the Annonaceae. **Alkaloids: chemical and biological perspectives**, 5, 133-270.
- CERA, T. P., e PANCOTE, C. G. (2012). Planejamento de Fármacos. *Científica Unilago*, 137-148.

- CHATROU, L. W., PIRIE, M. D., E MAAS, P. J. M. 2004. Annonaceae. **Catalogue of Vascular Plants of Bolivia**. Missouri Botanical Garden Press.
- CHANG, F. R., WEI, J. L., TENG, C. M., E WU, Y. C. 1998. Two new 7-dehydroaporphine alkaloids and antiplatelet action aporphines from the leaves of *Annona purpurea*. **Phytochemistry**, 49(7), 2015-2018.
- CISTERNINO, S., ROUSSELLE, C., DAGENAIS, C., & SCHERRMANN, J. M. 2001. Screening of multidrug-resistance sensitive drugs by in situ brain perfusion in P-glycoprotein-deficient mice. **Pharmaceutical research**, 18(2), 183-190.
- COMBES, J. M., DUCLOS, P., E SEILER, R. 1981. The born-oppenheimer approximation. **Rigorous atomic and molecular physics** (p. 185-213). Springer, Boston, MA.
- Costa, E. V.; 2009. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas de *Guatteropsis blepharophylla*, *Guatteriopsis friesiana* e *Guatteriopsis hispida* (Annonaceae)**. Tese de doutorado, Curitiba.
- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; MAIA, B. H. L. N. S.; MARQUES, F. A.; RUIZ, A. L. T. G.; MARCHETTI, G. M.; CARVALHO, J. E.; SOARES, M. B. P.; COSTA, C. O. S.; GALVÃO, A. F. C.; LOPES, N. P.; KOOLEN, H. H. F.; BEZERRA, D. P.; E BARISON, A. 2016. 7, 7-Dimethylaporphine and other alkaloids from the bark of *Guatteria friesiana*. **Journal of natural products**, 79(6), 1524-1531.
- COSTA, R. A., PITT, P. O., PINHEIRO, M. L. B., OLIVEIRA, K. M., SALOMÉ, K. S., BARISON, A., E COSTA, E. V. 2017. Spectroscopic investigation, vibrational assignments, HOMO-LUMO, NBO, MEP analysis and molecular docking studies of oxoaporphine alkaloid liriodenine. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 174, 94-104.
- COSTA, R. A., JUNIOR, E. S. A., BEZERRA, J. D. A., MAR, J. M., LIMA, E. S., PINHEIRO, M. L. B., MENDONÇA, D. V. C., LOPES, G. B. P., BRANCHES, A. D. S., E OLIVEIRA, K. M. 2019. Theoretical Investigation of the Structural, Spectroscopic, Electronic, and Pharmacological Properties of 4-Nerolidylcatechol, an Important Bioactive Molecule. **Journal of Chemistry**, 2019.
- DE ALMEIDA, C. V., YARA, R., E DE ALMEIDA, M. (2005). Fungos endofíticos isolados de ápices caulinares de pupunheira cultivada in vivo e in vitro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40(5), 467-470.
- DUARTE, H. A. 2001. Índices de reatividade química a partir da teoria do funcional de densidade: formalismo e perspectivas. **Química Nova**, 24(4), 501-508.
- EDWARDS, W. D., E ZERNER, M. C. 1987. A generalized restricted open-shell Fock operator. **Theoretica chimica acta**, 72(5-6), 347-361.
- ERKENS, R. H., CHATROU, L. W., KOEK-NOORMAN, J., MAAS, J. W., E MAAS, P. J. 2007. Classification of a large and widespread genus of Neotropical trees, *Guatteria* (Annonaceae) and its three satellite genera *Guatteriella*, *Guatteriopsis* and *Heteropetalum*. **Taxon**, 56(3), 757-774.

- FAHIM, A. M., E SHALABY, M. A. 2019. Synthesis, biological evaluation, molecular docking and DFT calculations of novel benzenesulfonamide derivatives. **Journal of Molecular Structure**, 1176, 408-421.
- FERMI, E. 1927. Un metodo statistico per la determinazione di alcune proprieta dell'atome. **Rend. Accad. Naz. Lincei**, v. 6, n. 602-607, p. 32.
- FISCHER, C. F. 1987. General hartree-fock program. **Computer physics communications**, 43(3), 355-365.
- FOCK, V. 1930. Bemerkung zum virialsatz. **Zeitschrift für Physik**, 63(11-12), 855-858.
- FRISCH M. J. *et al.* 2009. **Gaussian 09**. Gaussian, Inc., Wallingford.
- GUINAUDEAU, H., SHAMMA, M., TANTISEWIE, B., E PHARADAI, K. (1982). Aporphine alkaloids oxygenated at C-7. **Journal of Natural Products**, 45(3), 355-357.
- HARTREE, D. R. 1928. The wave mechanics of an atom with a non-Coulomb central field. Part I. Theory and methods. **Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society** (Vol. 24, No. 1, pp. 89-110). Cambridge University Press.
- HOHENBERG, P., E KOHN, W. 1964. Density functional theory. **Physical Rev. B**, 136(864), 76.
- HUEY, R.; MORRIS, G. M.; FORLI, S. 2012. **Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: A Tutorial**. <2012\_ADTtut.pdf>.
- JAMROZ M (2004) **Vibrational energy distribution analysis**. VEDA 4 Computer Program, Poland.
- KARAKURT, T., DINÇER, M., ÇETIN, A., & ŞEKERCI, M. 2010. Molecular structure and vibrational bands and chemical shift assignments of 4-allyl-5-(2-hydroxyphenyl)-2, 4-dihydro-3H-1, 2, 4-triazole-3-thione by DFT and ab initio HF calculations. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 77(1), 189-198.
- KHAN, M. R., KIHARA, M., E OMOLOSO, A. D. 2002. Antimicrobial activity of *Michelia champaca*. **Fitoterapia**, 73(7-8), 744-748.
- KIRCHMAIR, J., MARKT, P., DISTINTO, S., WOLBER, G., E LANGER, T. 2008. Evaluation of the performance of 3D virtual screening protocols: RMSD comparisons, enrichment assessments, and decoy selection—What can we learn from earlier mistakes?. **Journal of computer-aided molecular design**, 22(3-4), 213-228.
- KOHN, W; BECKE, A. D.; PARR, R., G. 1996. Density Functional Theory of Electronic Structure. **The Journal of Physical Chemistry**, 100, 12974
- KOHN, W., E SHAM, L. J. 1965. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. **Physical review**, 140(4A), A1133.
- LEBOEUF, M., CAVÉ, A., BHAUMIK, P. K., MUKHERJEE, B., E MUKHERJEE, R. 1980. The phytochemistry of the Annonaceae. **Phytochemistry**, 21(12), 2783-2813.
- LÓPEZ, D. S.; HILL, A. P.; CASTRO, H. V. 2002. Estudio químico en especies cubanas del género *Annona* II. *Annona sclerophylla* Safford. **Revista Cubana de Farmacia** 36, 107- 111.

- LIN, J. H., PERRYMAN, A. L., SCHAMES, J. R., E MCCAMMON, J. A. 2002. Computational drug design accommodating receptor flexibility: the relaxed complex scheme. **Journal of the American Chemical Society**, 124(20), 5632-5633.
- LÖWDIN, P. O. 1955. Quantum theory of many-particle systems. III. Extension of the Hartree-Fock scheme to include degenerate systems and correlation effects. **Physical review**, 97(6), 1509.
- MAAS, P. J., DE KAMER, H. M. V., JUNIKKA, L., DE MELLO-SILVA, R., E RAINER, H. 2001. Annonaceae from central-eastern Brazil. *Rodriguésia*, 52(80), 65-98.
- MAAS, P. J. M.; MAAS, H.; MIRALHA, J. M. S.; JUNIKKA, L. 2007. Flora da reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Annonaceae. **Rodriguésia** 58, 617-662.
- MACIEL, M. A. M., PINTO, A. C., VEIGA, J. V., GRYNBERG, N. F., E ECHEVARRIA, A. 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, 25(3), 429-438.
- MASSIMI, M. 2005. **Pauli's exclusion principle: the origin and validation of a scientific principle**. Cambridge University Press.
- MENG, X.; ZHANG, H.; MEZEI, M.; CUI, M. 2011. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery, **Current computer-aided drug design** 7(2): 146-157.
- MONTENEGRO, H., GUTIERREZ, M., ROMERO, L. I., ORTEGA-BARRÍA, E., CAPSON, T. L., e CUBILLA-RIOS, L. 2003. Aporphine alkaloids from Guatteria spp. with leishmanicidal activity. **Planta Medica**, v. 69, n. 07, p. 677-679, 2003.
- MORRIS, G. M.; LIM-WILBY, M. 2008. Molecular Docking. **Molecular modeling of proteins**. Humana Press, p. 365-382.
- MORZELLE, M. C., SOUZA, E. C., ASSUMPÇÃO, C. F., FLORES, J. C. J., E OLIVEIRA, K. D. M. 2010. Agregação de valor a frutos de ata através do desenvolvimento de néctar misto de maracujá (*Passiflora edulis* Sims.) e ata (*Annona squamosa* L.). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, 20(3), 389-394.
- MURRAY, C. W., BAXTER, C. A., E FRENKEL, A. D. 1999. The sensitivity of the results of molecular docking to induced fit effects: application to thrombin, thermolysin and neuraminidase. **Journal of computer-aided molecular design**, 13(6), 547-562.
- NETO, P. A. D. S. P., & CAETANO, L. C. S. 2005. **Plantas medicinais: do popular ao científico**. UFAL.
- NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M., E SNADER, K. M. 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981- 2002. **Journal of natural products**, 66(7), 1022-1037.
- NOCEDAL, Jorge; WRIGHT, Stephen J. 1999. Springer series in operations research. In: **Numerical optimization**. Springer.
- OKSMAN-CALDENTEY, K. M., INZÉ, D. 2004. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. **Trends in plant science**, 9(9), 433-440.

PAULO, M. D. Q., BARBOSA-FILHO, J., LIMA, E. O., MAIA, R. F., DE CASSIA, R., BARBOSA, B. B. C., E KAPLAN, M. A. C. 1992. Antimicrobial activity of benzylisoquinoline alkaloids from *Annona salzmanii* DC. **Journal of ethnopharmacology**, 36(1), 39-41.

PARR, R.; YANG, W.; 1989 **Density-Functional Theory of Atoms and Molecules**. Oxford University Press, New York.

PEREIRA, M. D. M., JÁCOME, R. L. R. P., ALCÂNTARA, A. D. C., ALVES, R. B., E RASLAN, D. S. 2007. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). **Quimica Nova**, 30, 970-983.

PHILLIPS, M. A., STEWART, M. A., WOODLING, D. L., E XIE, Z. R. 2018. Has Molecular Docking Ever Brought us a Medicine?. **Molecular Docking**, p. 141, 2018.

PISANA, S., LAZZERI, M., CASIRAGHI, C., NOVOSELOV, K. S., GEIM, A. K., FERRARI, A. C., & MAURI, F. 2007. Breakdown of the adiabatic Born–Oppenheimer approximation in graphene. **Nature materials**, 6(3), 198.

PRASAD, K. S., COSTA, R. A., BRANCHES, A. D. S., E OLIVEIRA, K. M. 2019. Novel route for the synthesis of azepine derivative using tin-based catalyst: Spectroscopic characterization and theoretical investigations. **Journal of Molecular Structure**, 1178, 491-499.

QUEIROZ, E. F., ROBLLOT, F., CAVÉ, A., DE Q. PAULO, M., E FOURNET, A. 1996. Pesseoine and spinosine, two catecholic berbines from *Annona spinescens*. **Journal of Natural Products**, 59(4), 438-440.

RAMADINHA, R. R., DOS SANTOS TEIXEIRA, R., BOMFIM, P. C., MASCARENHAS, M. B., DO NASCIMENTO FRANÇA, T., DA CUNHA PEIXOTO, T., COSTA, S. Z. R., PEIXOTO, P. V. 2016. Resposta do tumor venéreo transmissível canino à quimioterapia com sulfato de vincristina e vimblastina. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, 38(Supl. 1), 65-69.

RANI, U., KARABACAK, M., TANRIVERDI, O., KURT, M., SUNDARAGANESAN, N. 2012. The spectroscopic (FTIR, FT-Raman, NMR and UV), first-order hyperpolarizability and HOMO–LUMO analysis of methylboronic acid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, 92, 67-77.

RAHMAN, M. M., LOPA, S. S., SADIK, G., ISLAM, R., KHONDKAR, P., ALAM, A. K., & RASHID, M. A. 2005. Antibacterial and cytotoxic compounds from the bark of *Cananga odorata*. **Fitoterapia**, 76(7-8), 758-761.

RIBERIRO, J. E. L. S., HOPKINS, M. J. G., VICENTINI, A., SOTHERS, C. A., COSTA, M. A. S., BRITO, J. M., PEREIRA, E. C. 1999. **Flora da Reserva Ducke: Guia de Identificação das Plantas Vasculares de uma Floresta de Terra Firme na Amazônia Central**. DFID, INPA, Manaus, Brazil.

SANTOS, L. D. S., SILVA, V. R., MENEZES, L. R. A., SOARES, M. B. P., COSTA, E. V., E BEZERRA, D. P. 2017. Xylopine Induces Oxidative Stress and Causes G2/M Phase Arrest, Triggering Caspase-Mediated Apoptosis by p53-Independent Pathway in HCT116 Cells. **Oxidative medicine and cellular longevity**.

- SCAZZOCCHIO, F., COMETA, M. F., TOMASSINI, L., E PALMERY, M. 2001. Antibacterial activity of Hydrastis canadensis extract and its major isolated alkaloids. **Planta medica**, 67(06), 561-564.
- SCHAMES, J. R., HENCHMAN, R. H., SIEGEL, J. S., SOTRIFFER, C. A., NI, H., E MCCAMMON, J. A. 2004. Discovery of a novel binding trench in HIV integrase. **Journal of medicinal chemistry**, 47(8), 1879-1881.
- SHAMMA, M., E GUINAUDEAU, H. 1984. Biogenetic pathways for the aporphinoid alkaloids. **Tetrahedron**, 40(23), 4795-4822.
- SIEVÄNEN, E., TOUŠEK, J., LUNEROVÁ, K., MAREK, J., JANKOVSKÁ, D., DVORSKÁ, M., E MAREK, R. 2010. Structural studies of homoisoflavonoids: NMR spectroscopy, X-ray diffraction, and theoretical calculations. **Journal of Molecular Structure**, 979(1), 172-179.
- SILVA, C. D. L. 2016. **Modelagem computacional aplicada ao estudo da cistina, selenocistina, teluriocistina, hidroxireia e ácido fólico**. Tese de mestrado: <http://repositorio.ufms.br:8080/jspui/handle/123456789/2886>
- SLATER, J. C. 1930. Note on Hartree's method. **Physical Review**, 35(2), 210.
- SLATER, J. C. 1951. A simplification of the Hartree-Fock method. **Physical review**, 81(3), 385.
- SOUSA, R. D. S. 2018. **Estudo de substâncias químicas em óleos de coco, copaíba, calêndula e girassol utilizados no tratamento de feridas: uma abordagem teórica**. Monografia: <http://hdl.handle.net/123456789/2357>
- STEVIGNY, C., BAILLY, C., E QUETIN-LECLERCQ, J. 2005. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. **Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents**, 5(2), 173-182.
- SZABO, A., E OSTLUND, N. S. 2012. **Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory**. Courier Corporation.
- THOMAS, L. H. (1927). The calculation of atomic fields. **Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society** Vol. 23, No. 5, pp. 542-548. Cambridge University Press.
- TROTT, O. E OLSON, A. J. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of computational chemistry**, 31(2), 455-461.
- VAN HEUSDEN, E. C. H. 1992. Flowers of annonaceae. **Blumea**, 7, 1-218.
- VIEGAS JR, C., BOLZANI, V. D. S., E BARREIRO, E. J. 2006. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, 326-337.
- WAECHTER, A. I., CAVÉ, A., HOCQUEMILLER, R., BORIES, C., MUNOZ, V., E FOURNET, A. 1999. Antiprotozoal activity of aporphine alkaloids isolated from *Unonopsis buchtienii* (Annonaceae). **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, 13(2), 175-177.

WINK, M., ALFERMANN, A. W., FRANKE, R., WETTERAUER, B., DISTL, M., WINDHÖVEL, J., KROHN, O., FUSS, E., HERMANN, J., MOHAGHEGHZADEH, A. E WILDI, E. 2005. Sustainable bioproduction of phytochemicals by plant in vitro cultures: anticancer agents. **Plant Genetic Resources**, 3(2), 90-100.

WU, C. C., LI, Y. C., WANG, Y. R., LI, T. K., CHAN, N. L. 2013. On the structural basis and design guidelines for type II topoisomerase-targeting anticancer drugs. **Nucleic acids research**, 41(22), 10630-10640.

WU, Y. C., CHANG, G. Y., CHANG-YIH, D., E SHANG-KWEI, W. 1993. Cytotoxic alkaloids of *Annona montana*. **Phytochemistry**, 33(2), 497-500.

YANG, W., E AYERS, P. W. 2003. Density-functional theory. **Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery** (pp. 103-132). CRC Press.

ZIEGLER, T. (1991). Approximate density functional theory as a practical tool in molecular energetics and dynamics. **Chemical Reviews**, 91(5), 651-667.