

EDSON BARBOSA DA COSTA

**APLICAÇÃO DA QUÍMICA QUÂNTICA AO ESTUDO DE UM
GRUPO DE MOLÉCULAS ANTIHISTAMÍNICAS H₃**

Tese apresentada ao Instituto de Química
de São Carlos, da Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de Doutor em
Ciências (Físico-Química).

Orientador: Prof. Dr. Milan Trsic

São Carlos

2010

Dedico este trabalho a minha esposa e filho (Rosineide Batista e Davi Batista), minha mãe (Maria José), irmão (Anderson Barbosa) e a minha filha (Yasmim) que nascerá em abril de 2010.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Milan Trsic pela orientação, incentivo e oportunidade de ser seu orientando.
- A minha querida esposa e filho, Rosineide e Davi, pelo amor, incentivo e compreensão durante todos os momentos desta caminhada.
- A minha mãe e irmão, Maria e Anderson, pelo amor e carinho a mim dedicado durante toda minha vida até agora e pelo aprendizado, não de conhecimentos científicos, e sim de princípios morais.
- Aos amigos Marcello e Melissa pela ajuda no do doutorado e pelas eternas discussões científicas que me ajudaram a amadurecer bastante, minha eterna gratidão.
- Aos amigos de laboratório: Rommel, Wagner, Ana, Bernadette, Jeniffer e Maira.
- Aos eternos amigos de república e agregados que tive a imensa sorte de conhecer e que sempre serão lembrados e terão minha amizade sincera: Thiago, André, Marco, Lucas, Paulo, Sebastião, Lívia, Simone, Patrícia, Marcio, Adriano e Marília.
- Ao Instituto de Química de São Carlos pela estrutura que possibilitou executar a pesquisa.
- A CAPES pela a bolsa e os três aumentos de salário durante estes quatro anos de doutorado.
- Aos alunos, funcionários e professores do IQSC que tive a oportunidade de conhecer e aprender com a convivência.

“O primeiro passo em direção ao sucesso é o conhecimento.”

Nikola Tesla

“Ciência é uma maneira de pensar e não um corpo de conhecimento.”

Carl Sagan

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação da ativação do receptor H_3 e modificação do comportamento celular. Etapa 1 representa ativação da proteína G por uma molécula ligante via receptor H_3 . Etapa 2 mostra a influência da proteína G nos ciclos enzimáticos: AC, FQAM, F3Q, FA2, na inibição do canal de troca iônica Na^+/H^+ e nas concentrações de Ca^{2+} . Etapa 3 corresponde a alteração no citoplasma celular. Etapa 4 indica a transformação do comportamento celular..... 15
- Figura 2.** Sistema produtor de histamina no cérebro humano: origem e propagação. Existem em torno de 64.000 neurônios produtores de histamina localizados principalmente em uma região do cérebro denominada de núcleo tuberomamilar. 15
- Figura 3.** Representação esquemática da função do receptor H_3 que engloba sua estimulação pela histamina (HA) nos neurônios histamino energéticos que inibem a síntese de mais HA (através da enzima HDC- histidina descarboxilase) e consequentemente inibe também a sua liberação pelo neurônio. De forma similar, ocorre a estimulação dos neurônios não histamino energéticos através de seus receptores H_3 que resulta na inibição da liberação de neurotransmissores (NT) tais como GABA, acetilcolina, dopamina, serotonina e norepinefrina. Estes neurotransmissores podem ativar seus respectivos receptores produzindo uma variedade de efeitos fisiológicos apresentados na figura. Esta representação foi retirada e adaptada da referência [31]..... 16
- Figura 4.** Modelo de interação ligante receptor. O agonista liga-se a conformação ativa e o antagonista a inativa. Pela estabilização de uma das conformações, agonista e antagonistas tendem a deslocar o equilíbrio químico para seus respectivos sentidos. 18
- Figura 5.** Representação das estruturas químicas dos ligantes agonistas do receptor histamínico H_3 : (a) histamina, (b) R- α -metilhistamina, (c) N^α - metilhistamina e (d) BP 2-94. (e) é a estrutura química do anel imidazólico, comum a todos os ligantes..... 19
- Figura 6.** Modelo farmacofórico para ligantes não-imidazólicos do receptor H_3 representado por (a). Estruturas químicas de substâncias patenteadas por indústrias farmacêuticas: (b) JNJ-5207852, (c) UCL 1972 e (d) ABT- 239. 20
- Figura 7.** Ilustração dos termos fundamentais da energia do campo de força que descrevem uma determinada molécula. 23
- Figura 8.** Fluxograma representativo das etapas principais efetuadas pela metodologia HFR no estudo de sistemas moleculares. SCF (*Self-Consistent Field*) é a abreviação do processo iterativo em que se baseia o método de resolução das equações de HFR..... 27
- Figura 9.** Fluxograma demonstrativo das principais etapas seguidas ao se efetuar cálculos de estrutura eletrônica DFT. 31

Figura 10. (a) e (b) são modos de possíveis interações entre orbitais moleculares de nucleófilos e eletrófilos sugeridos pelo conceito de FERMOs, referência [46].	35
Figura 11. (a) Estrutura química dos compostos do grupo I juntamente com o ângulo diedro d1 utilizados na análise conformacional. (b) Estrutura química dos compostos do grupo II juntamente com os ângulos diedros d1, d2, d3, d4 usados na análise conformacional	39
Figura 12. Diminuição da afinidade ligante ao receptor H ₃ quando um nitrogênio é substituído por um carbono na 1-[4-(3-piperidin-1-ilpropoxi)benzil]piperidina, composto (a), produzindo o composto (b), 1-[4-(3-ciclohexilpropoxi)benzil]piperidina. O estudo dos compostos (a) e (b) com suas afinidades experimentais são apresentados na referência [85].	40
Figura 13. Formas dos orbitais moleculares ocupados de maiores energias para quatro moléculas calculadas pela metodologia AM1: 1, 8, 12, e 16. Para verificar a estrutura química em duas dimensões e a numeração ver as Tabelas 2 e 3. (*) indica os FERMOs. Comportamento similar é verificado para os orbitais FERMOs das 24 moléculas restantes.	47
Figura 14. Formas dos orbitais moleculares ocupados de maiores energias para quatro moléculas calculadas pela metodologia HFR: 1, 8, 12, e 16. Para verificar a estrutura química em duas dimensões e a numeração ver as Tabelas 2 e 3. (*) indica os FERMOs. Comportamento similar é verificado para os orbitais FERMOs das 24 moléculas restantes.	47
Figura 15. Formas dos orbitais moleculares ocupados de maiores energias para quatro moléculas calculadas pela metodologia DFT: 1, 8, 12, e 16. Para verificar a estrutura química em duas dimensões e a numeração ver as Tabelas 2 e 3. (*) indica os FERMOs. Comportamento similar é verificado para os orbitais FERMOs das 24 moléculas restantes.	48
Figura 16. Diagrama dos níveis de energias dos orbitais moleculares para as moléculas 1, 8, 12, e 16 obtido pela metodologia AM1. As correlações entre os FERMOs são mostradas por linhas tracejadas unindo-os.	49
Figura 17. Diagrama dos níveis de energias dos orbitais moleculares para as moléculas 1, 8, 12, e 16 obtido pela metodologia HFR. correlações entre os FERMOs são mostradas por linhas tracejadas unindo-os.	50
Figura 18. Diagrama dos níveis de energias dos orbitais moleculares para as moléculas 1, 8, 12, e 16 obtido pela metodologia DFT. As correlações entre os FERMOs são mostradas por linhas tracejadas unindo-os.	50
Figura 19. Gráfico dos escores gerado entre as componentes principais PC1 e PC2 para os 28 compostos com os descritores obtidos pelo método AM1. No lado esquerdo estão localizados, predominantemente, os compostos do grupo II e do lado direito os compostos do grupo I.	54

Figura 20. Gráfico dos escores entre as componentes principais PC1 e PC2 para os 28 compostos com os descritores obtidos pelo método HFR. No lado esquerdo estão localizados os compostos do grupo II e do lado direito os compostos do grupo I.	54
Figura 21. Gráfico dos escores entre as componentes principais PC1 e PC2 para os 28 compostos com os descritores obtidos pelo método DFT. No lado esquerdo estão localizados os compostos do grupo II e do lado direito os compostos do grupo I.	55
Figura 22. Gráfico dos pesos entre as componentes principais PC1 e PC2 utilizando os quatro descritores obtidos pelo método AM1.	56
Figura 23. Gráfico dos pesos entre as componentes principais PC1 e PC2 utilizando os quatro descritores obtidos pelo método HFR.	56
Figura 24. Gráfico dos pesos entre as componentes principais PC1 e PC2 utilizando os quatro descritores selecionados e obtidos pelo método DFT.	57
Figura 25. Dendrograma HCA gerado com descritores AM1 e apresentando 28 compostos divididos em dois agrupamentos denominados de G1 e G2. * indica os composto que não se localizaram em nenhum agrupamento (composto 10) ou que se localizava em um grupo de moléculas que não faz parte (composto 20).	58
Figura 26. Dendrograma HCA gerado com descritores HFR e apresentando 28 compostos divididos em dois agrupamentos denominados de G1' e G2'.	58
Figura 27. Dendrograma HCA gerado com descritores DFT e apresentando 28 compostos divididos em dois agrupamentos denominados de G1' e G2'. * indica o composto que não se localizou em nenhum agrupamento.	59
Figura 28. Gráficos de correlação entre os valores de pK_i calculados pelas equações 30, 31 e 32 e os valores experimentais de afinidade ligantes. (a) Representa o gráfico de correlação entre os pK_i calculados pela equação 30 e pK_i experimentais, (b) representa o gráfico de correlação entre os pK_i calculados pela equação 31 e pK_i experimentais e (c) representa o gráfico de correlação entre os pK_i calculados pela equação 32 e pK_i experimentais. A numeração em cima de alguns pontos indica as moléculas utilizadas na validação externa do modelo de regressão PLS.	67

ÍNDICES DE TABELAS

Tabela 1. Localização e efeitos biológicos relacionados aos receptores histamínicos	17
Tabela 2. Alguns potenciais que descrevem energeticamente os vários graus de liberdade de um sistema molecular.....	24
Tabela 3. Estruturas químicas das 4-fenoxipiperidinas (grupo I) usadas no presente trabalho e suas afinidades ligantes experimentais ao receptor histamínico humano H ₃ (pK _i).	37
Tabela 4. Estruturas químicas das 4-fenoxipiperidinas (grupo II) usadas no presente trabalho e suas afinidades ligantes experimentais ao receptor histamínico humano H ₃ (pK _i).	38
Tabela 5. Tabela dos Orbitais moleculares ocupados classificados como FERMOs para as 28 moléculas estudadas com as três metodologias de química quântica empregadas.....	46
Tabela 6. Parâmetros das regressões lineares entre os valores de pK _i e as energias dos orbitais moleculares calculados com três métodos de química quântica. Os gráficos das regressões lineares encontram-se nos apêndices I, II e III.	51
Tabela 7. Valores dos descritores selecionados ϵ_{FERMO} e ω' para o grupo de 28 compostos estudados obtidos pelos métodos AM1, HFR e DFT.	60
Tabela 8. Valores dos descritores selecionados carga N ¹ e densidade de carga no átomo N ¹ no orbital FERMO para o grupo de 28 compostos obtidos pelos métodos AM1, HFR e DFT.....	62
Tabela 9. Parâmetros estatísticos das equações de regressão PLS 30, 31 e 32.....	64
Tabela 10. Afinidades ligantes experimentais e calculadas pelos modelos de regressão PLS deste trabalho juntamente com a diferença entre os valores experimentais e calculados.....	65
Tabela 11. Afinidade eletrônica (AE), energia de ionização de primeira ordem (EI) e afinidade por próton H ⁺ no átomo de nitrogênio N ¹ (AP) dos 28 compostos com afinidades ligantes ao receptor H ₃	69
Tabela 12. Valores dos descritores de reatividade dos 28 compostos com afinidades ligantes ao receptor H ₃	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM1 – Método semi-empírico (Austin Model 1)

CHELPG – *Charges from Electrostatic Potentials using a Grid based method*

DFT – *Density Functional Theory*

FERMO - Orbital molecular efetivo para a reação (*Frontier Effective-for-Reaction Molecular Orbital*)

HCA – Análise hierárquica de agrupamentos (*Hierarchical Cluster Analysis*)

HFR – Método Hartree-Fock-Roothaan

HOMO – Orbital molecular de mais alta energia ocupado (*Highest Occupied Molecular Orbital*)

LUMO – Orbital molecular de mais baixa energia desocupado (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*)

MD – Momento dipolo

MM – Mecânica molecular

PCA – Análise de componentes principais (*Principal Componente Analysis*)

PLS – Mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares*)

RLS – Regressão linear simples

SCF– *Self-Consistent Fiel*

SNC- Sistema nervoso central

RESUMO

Nesta tese foi estudado um grupo de 28 compostos não-imidazólicos antagonistas do receptor H₃ através de cálculos de orbitais moleculares utilizando os métodos de química quântica Austin Model 1, Hartree-Fock-Roothaan e Teoria do Funcional da Densidade com o objetivo de investigar possíveis relações entre descritores eletrônicos teóricos e as afinidades ligantes experimentais desses compostos (pK_i). Observou-se nos resultados obtidos que as energias dos orbitais FERMOs (*Frontier Effective-for-Reaction Molecular Orbitals*) apresentam melhor correlação com os valores de pK_i do que as energias dos orbitais de fronteira HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Além disso, verificou-se pelas análises de métodos multivariados PCA (*Principal Component Analysis*) e HCA (*Hierarchical Cluster Analysis*) que um conjunto de quatro descritores foi capaz de separar os compostos em dois grupos distintos, o primeiro que apresenta valores de afinidades ligantes maiores e o segundo com menores valores de pK_i. Esta separação foi possível com o uso dos seguintes descritores teóricos: energia do FERMO (ϵ_{FERMO}), carga derivada do potencial eletrostático no átomo de nitrogênio N¹, índice de densidade eletrônica no átomo N¹ ($\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2$) e eletrofilicidade (ω'). Estes descritores foram utilizados, posteriormente, para a construção de três equações de regressão pelo método PLS (*Partial Least Squares*). O melhor modelo de regressão gerou os seguintes parâmetros estatísticos $Q^2 = 0,88$ e $R^2 = 0,927$, obtidos com um conjunto treino e de validação externa de 23 e 5 moléculas, respectivamente. Logo após a avaliação da equação de regressão, juntamente com os valores dos descritores selecionados e outros não selecionados, foi sugerido que altos valores de energias dos FERMOs e de $\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2$ em conjunto com baixos valores de eletrofilicidades e cargas extremamente negativas no átomo N¹ são parâmetros relevantes para potencializar as afinidades ligantes de outros compostos a serem sintetizados, que apresentem estruturas químicas semelhantes às moléculas estudadas neste trabalho. Além disso, esses compostos podem ser considerados como doadores de elétrons e, logo, há uma grande probabilidade que tais moléculas interajam com o receptor histamínico H₃ a partir de um processo de transferência de carga.

ABSTRACT

In this thesis, molecular orbital calculations were carried out on a set of 28 non-imidazole H₃ antihistamine compounds using Austin Moldel 1, Hartree-Fock-Roothaan, and Density Functional Theory methods in order to investigate the possible relationships between electronic descriptors and binding affinity for H₃ receptors (pK_i). It was observed that the frontier effective-for-reaction molecular orbital (FERMO) energies were better correlated with pK_i values than HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) and LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) energy values. Exploratory data analysis through hierarchical cluster (HCA) and principal component analysis (PCA) showed a separation of the compounds into two sets by using four descriptors, one grouping the molecules with high pK_i values, the other gathering low pK_i value compounds. This separation was obtained with the use of the following descriptors: FERMO energies (ϵ_{FERMO}), charges derived from the electrostatic potential on the nitrogen atom (N¹), electronic density indexes for FERMO on the N¹ atom ($\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2$), and electrophilicity (ω'). These electronic descriptors were used to construct three quantitative structure–activity relationship (QSAR) models through the Partial Least Squares Method (PLS). The best model generated $Q^2 = 0.88$ and $R^2 = 0.927$ values obtained from a training set and external validation of 23 and 5 molecules, respectively. After the analysis of the PLS regression equation, the values for the selected electronic descriptors and other descriptors, it is suggested that high values of FERMO energies and of $\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2$, together with low values of electrophilicity and pronounced negative charges on N¹ appear as desirable properties for the conception of new molecules which might have high binding affinity. Moreover, these molecules can be classified as electron donating compounds and have a great probability of interacting through a charge transfer process with the biological receptor H₃.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICES DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	Receptor histamínico H ₃	14
1.2	Ligantes agonistas e antagonistas do receptor H ₃	17
1.3	Ligantes imidazólicos e não imidazólicos.....	19
2	OBJETIVOS DO TRABALHO.....	21
3	MÉTODOS.....	23
3.1	Método de mecânica molecular.....	23
3.2	Método de química quântica Hartree-Fock-Roothaan	25
3.3	Método de química quântica Austin Model 1	27
3.4	Método da Teoria do funcional da densidade	28
3.5	Métodos de análise estatística RLS, PCA, HCA e PLS	32
3.6	Orbital molecular efetivo para a reação	34
4	METODOLOGIA.....	36
4.1	Procedimentos	36
4.2	Programas utilizados	44
5	RESULTADOS.....	45
5.1	Orbitais FERMOs.....	45

5.2	Relação entre orbitais moleculares e valores de pK_i	51
5.3	Seleção estatística dos descritores moleculares	53
5.4	Análise dos descritores selecionados	60
5.5	Modelos quantitativos de afinidade ligante.....	63
5.6	Análise dos descritores AE, EI e AP.....	69
5.7	Análise dos descritores de reatividade χ' , η' , S' , μ' e β	70
6	CONCLUSÕES	73
7	REFERÊNCIAS.....	75
APÊNDICE I		
APÊNDICE II		
APÊNDICE III		

1 INTRODUÇÃO

1.1 Receptor histamínico H₃

O receptor histamínico H₃ foi primeiramente identificado por Arrang e colaboradores em 1983 [1], clonado e caracterizado em 1999 por Lovenberg e colaboradores [2]. Sua estrutura primária contém 445 aminoácidos e pertence à família dos receptores acoplados a proteínas do tipo G [3-4], a qual apresenta ainda mais três receptores denominados de H₁, H₂ e H₄. Estas proteínas encontram-se localizadas no citoplasma celular, enquanto que os receptores H₃ localizam-se na membrana celular, interligando as proteínas G ao meio extracelular e atuando como transmissor de sinais a estas proteínas.

Após receber os sinais, as proteínas G influenciam em ciclos enzimáticos específicos tais como adenilato ciclase (AC) [2], proteínas-quinases ativadas [5-6] por mitógenos (FQAM), fosfatidilinositol 3-quinase (F3Q), fosfolipase A2 (FA2), na inibição do canal de troca iônica Na⁺/H⁺ [7] e diminuição dos níveis de Ca²⁺ intracelular [8-9], como esquematizado na Figura 1, com a finalidade de controlar a síntese e liberação de neurotransmissores [10] como a histamina [11-12], e outros como GABA [13], acetilcolina [14], dopamina [15], serotonina [16], norepinefrina [17].

Em relação a localização dos receptores H₃, é relatado na literatura especializada que estão predominantemente distribuídos em neurônios localizados em regiões específicas do cérebro humano associadas à cognição [18] (substância negra, córtex e estriado), regiões estas pertencentes ao sistema nervoso central (SNC) representadas na Figura 2.

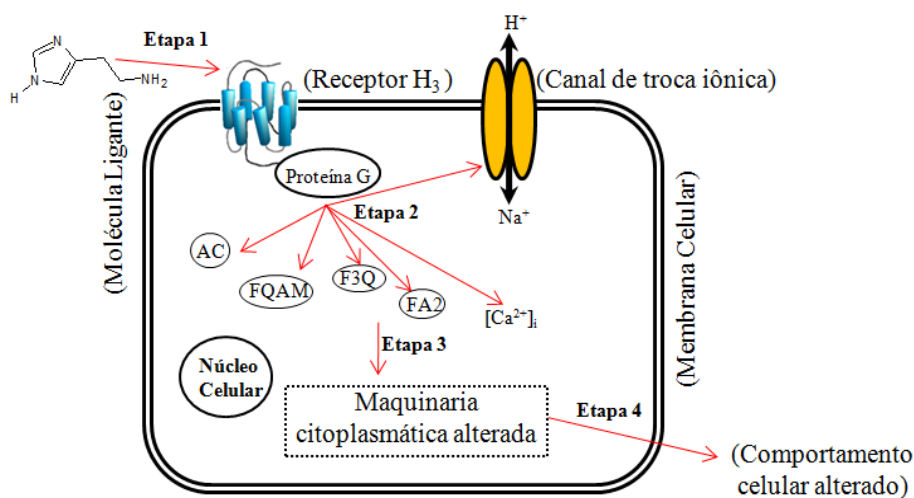


Figura 1. Representação da ativação do receptor H₃ e modificação do comportamento celular. Etapa 1 representa ativação da proteína G por uma molécula ligante via receptor H₃. Etapa 2 mostra a influência da proteína G nos ciclos enzimáticos: AC, FQAM, F3Q, FA2, na inibição do canal de troca iônica Na⁺/H⁺ e nas concentrações de Ca²⁺. Etapa 3 corresponde a alteração no citoplasma celular. Etapa 4 indica a transformação do comportamento celular.

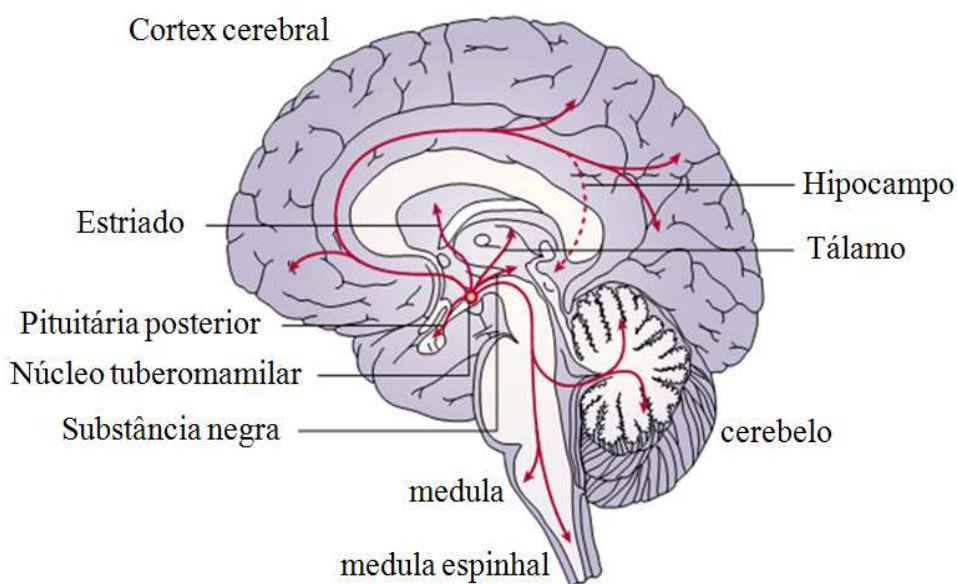


Figura 2. Sistema produtor de histamina no cérebro humano: origem e propagação. Existem em torno de 64.000 neurônios produtores de histamina localizados principalmente em uma região do cérebro denominada de núcleo tuberomamilar.

Devido o receptor H_3 inibir a liberação da histamina e ser um heteroreceptor que regula a liberação de neurotransmissores importantes (ver Figura 3). Estes dois fatores têm influenciado os laboratórios acadêmicos e de empresas farmacêuticas para o desenvolvimento de ligantes antagonistas do receptor H_3 (Figura 3), tendo em vista que estes ligantes apresentam potencial terapêutico no combate a doenças relacionadas a desordens cognitivas tais como mal de Alzheimer [19-20], epilepsia [21-22], distúrbios do sono e distúrbios de déficits de atenção [23-24], obesidade e diabetes [25-26], depressão [27] e outras como esquizofrenia [28] e asma [29-30].

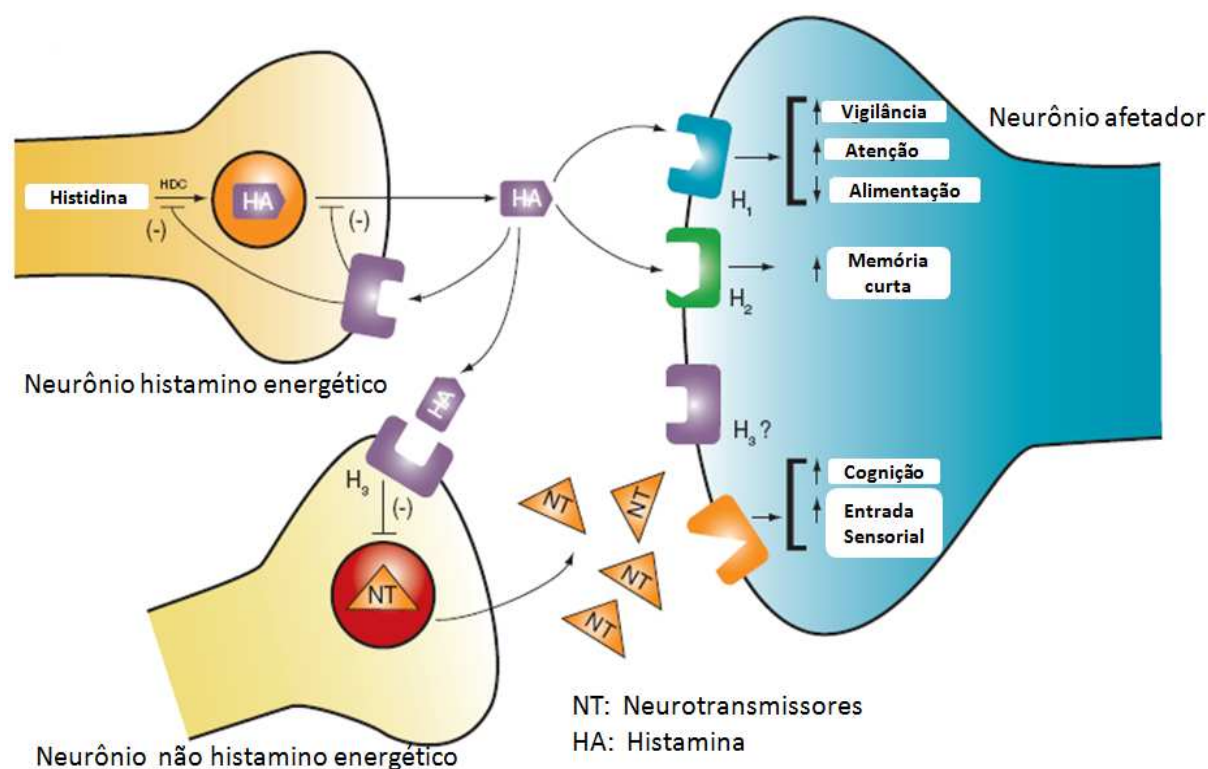


Figura 3. Representação esquemática da função do receptor H_3 que engloba sua estimulação pela histamina (HA) nos neurônios histamino energéticos que inibem a síntese de mais HA (através da enzima HDC- histidina descarboxilase) e conseqüentemente inibe também a sua liberação pelo neurônio. De forma similar, ocorre a estimulação dos neurônios não histamino energéticos através de seus receptores H_3 que resulta na inibição da liberação de neurotransmissores (NT) tais como GABA, acetilcolina, dopamina, serotonina e norepinefrina. Estes neurotransmissores podem ativar seus respectivos receptores produzindo uma variedade de efeitos fisiológicos apresentados na figura. Esta representação foi retirada e adaptada da referência [31].

Como foi mencionado anteriormente, a família dos receptores histamínicos se expande até o presente momento a outros três membros denominados de H₁, H₂ e H₄. Cada um deles se localiza predominantemente em regiões distintas do corpo humano e exercem funções biológicas das mais variadas possíveis. Alguns destes tecidos e funções são resumidos na Tabela 1 a seguir para os receptores mencionados.

Tabela 1. Localização e efeitos biológicos relacionados aos receptores histamínicos

Receptor histamínico	Localização no tecido humano	Principal efeito biológico relacionado
H ₁	Células endoteliais Músculos lisos	Respostas alérgicas agudas
H ₂	Células gástricas parietais	Secreção de ácidos gástricos
H ₄	Mastócitos, eosinófilos, células T, células dendrítica	Regulação das respostas imunológicas

1.2 Ligantes agonistas e antagonistas do receptor H₃

Antes de ser abordado o conceito dos tipos de ligantes relacionados aos receptores H₃, iremos definir como os receptores, em geral, são considerados segundo suas conformações. Primeiramente, um modelo aceito sobre um receptor acoplado a uma G proteína sugere que ele esteja em equilíbrio em duas conformações possíveis, uma ativa (R*), a qual está ligada a proteína G e transporta sinal do meio extracelular ao intracelular; e na forma inativa (R), que não se encontra ligada a proteína G e, logo, não transporta sinal à célula [32]. Sendo que existe um equilíbrio químico entre estas duas conformações e, na ausência de moléculas ligadas ao receptor, a conformação inativa é predominante. Assumindo este modelo, uma molécula ligante é considerada agonista quando se une ao receptor na sua forma ativa, deslocando o equilíbrio e

aumentando a concentração do receptor na conformação R^* . No sentido oposto, o ligante antagonista é o composto que se une ao receptor na sua forma inativa, deslocando o equilíbrio no sentido da conformação R e, com isso, provoca o aumento da quantidade do receptor na sua forma inativa. Um esquema representando a relação entre ligante-receptor é mostrado na Figura 4.

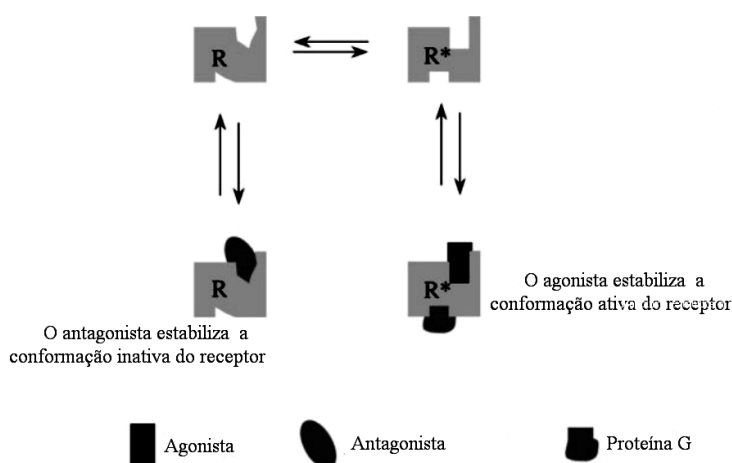


Figura 4. Modelo de interação ligante receptor. O agonista liga-se a conformação ativa e o antagonista a inativa. Pela estabilização de uma das conformações, agonista e antagonistas tendem a deslocar o equilíbrio químico para seus respectivos sentidos.

Os primeiros ligantes do receptor histamínico H_3 a serem estudados e utilizados foram o ligante agonista e endógeno histamina [33] e seus análogos como o R - α -metilhistamina, N^α -metilhistamina e BP 2-94, no começo da década de 80, com suas estruturas químicas apresentadas na Figura 5. Todos estes compostos apresentam como característica estrutural básica o anel imidazólico, o qual contém três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênio em sua estrutura química. No entanto, verifica-se atualmente que ligantes antagonistas apresentam utilidade mais relevante em aplicações terapêuticas contra doenças relacionadas à baixa quantidade de histamina e certos neurotransmissores no SNC [34-35].

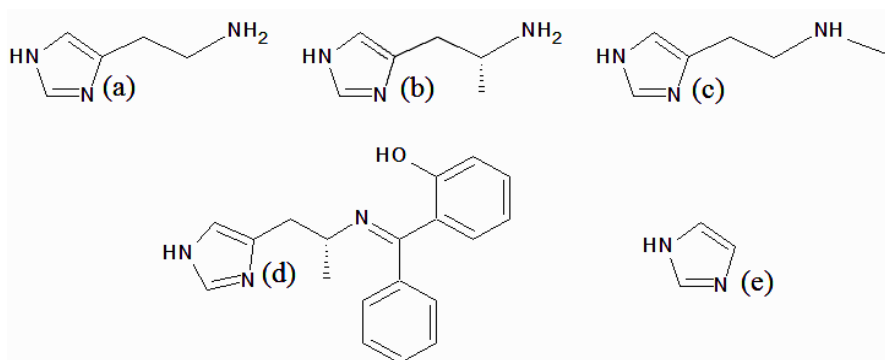


Figura 5. Representação das estruturas químicas dos ligantes agonistas do receptor histamínico H₃: (a) histamina, (b) R- α -metilhistamina, (c) N ^{α} - metilhistamina e (d) BP 2-94. (e) é a estrutura química do anel imidazólico, comum a todos os ligantes.

1.3 Ligantes imidazólicos e não imidazólicos

Apesar dos ligantes antagonistas que apresentam o anel imidazólico terem sido estudados e amplamente desenvolvidos a partir da década de 80, tendo em vista suas potenciais aplicações clínicas, esse quadro mudou amplamente, alcançando níveis baixos de estudo e síntese de ligantes com esta característica [33]. Este fato se deve às desvantagens no uso desse tipo de compostos com o anel imidazólico em suas estruturas químicas. Alguns destes pontos negativos são listados a seguir:

- Compostos imidazólicos interagem com enzimas do citocromo P450 [36-38] (hemoproteínas oxigenases), podendo causar efeitos colaterais indesejáveis devido a estas enzimas estarem envolvidas em funções bioquímicas importantes como a produção de hormônios e a conversão de compostos químicos;
- Ativação e inativação de agentes terapêuticos e enzimas [39];
- Ligantes imidazólicos podem ser rapidamente inativados pela enzima histamina N-metiltransferase (HNMT) [40];

- Compostos que apresentam o anel imidazólico são pouco seletivos em relação ao receptor H_3 [41], pois se unem a outros receptores, pertencentes à mesma família de proteínas, denominados de receptores H_1 , H_2 e H_4 ;
- O anel imidazólico pode formar ligações de hidrogênio, fato este que diminui a capacidade de certos ligantes em penetrar no SNC via corrente sanguínea [42-43].

Devido às desvantagens citadas anteriormente, o campo de pesquisa para o desenvolvimento de novos tipos de ligantes com estruturas químicas que não apresentem o anel imidazólico tem avançado atualmente. Um dos modelos farmacofóricos que mostra resultados favoráveis a sua aplicabilidade como ligante não imidazólico é apresentado na Figura 6, juntamente com três compostos patenteados por indústrias farmacêuticas que seguem este modelo [44].

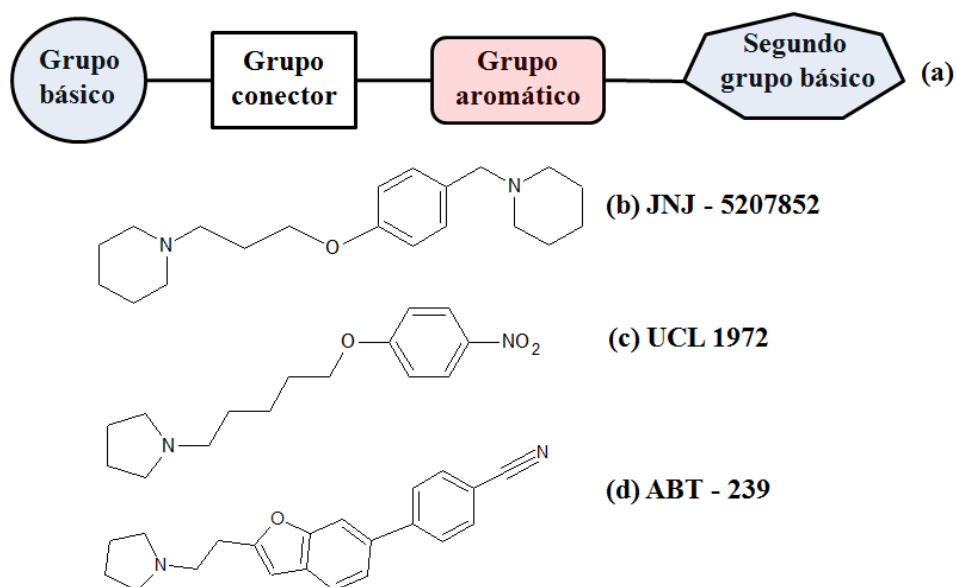


Figura 6. Modelo farmacofórico para ligantes não-imidazólicos do receptor H_3 representado por (a). Estruturas químicas de substâncias patenteadas por indústrias farmacêuticas: (b) JNJ-5207852, (c) UCL 1972 e (d) ABT- 239.

2 OBJETIVOS DO TRABALHO

O interesse crescente da comunidade científica para o desenvolvimento de novos compostos antagonistas não imidazólicos ao receptor H_3 motivou o presente trabalho a acrescentar conhecimentos no campo de estudo deste tipo de compostos das seguintes formas:

- Analisar a viabilidade da aplicação de três métodos diferentes de química quântica, AM1, HFR e DFT, ao estudo teórico de descritores estruturais e eletrônicos de um grupo de moléculas análogas as 4-fenoxipiperidinas, sintetizadas e classificadas como antagonistas do receptor H_3 [45].
- Verificar se as energias dos orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO são descritores eletrônicos adequados para serem correlacionados, qualitativamente e quantitativamente, às afinidades ligantes dos compostos ao receptor H_3 , ou se a utilização de outra abordagem sobre os orbitais moleculares, denominada de orbitais moleculares efetivos para a reação (FERMOs - *Frontier Effective-for-Reaction Molecular Orbitals*) [46-48], neste grupo de moléculas, não seria mais adequado. Estes descritores foram considerados tendo em vista que achamos que o caráter básico dos compostos possa ser decisivo para influenciar na afinidade ligante ao receptor H_3 . Opinião esta fundamentada no fato de que, os compostos estudados tenham como fatores essenciais em suas estruturas dois grupos básicos situados nas extremidades das estruturas químicas, átomos de nitrogênio N^1 e N^2 (ver estruturas químicas nas Tabelas 3 e 4, seção 4.1) e que são os tipos de átomos presentes no modelo farmacofórico dos novos antihistamínicos H_3 não-imidazólicos representado na Figura 6.

- Avaliar possíveis relações entre as afinidades ligantes experimentais e descritores eletrônicos obtidos diretamente por métodos de química quântica.
- Construir um modelo quantitativo de estrutura atividade para prever valores de afinidades ligantes de outros compostos com estruturas químicas semelhantes aos estudados neste trabalho, tendo como objetivo servir de auxílio para futuros trabalhos relacionados à síntese de novos ligantes.
- Utilizar o modelo quantitativo e a análise dos valores dos descritores eletrônicos para sugerir uma possível forma de atuação desses compostos junto ao receptor H₃.
- Verificar se o uso de diferentes metodologias de química quântica resulta na escolha de diferentes descritores correlacionados com as afinidades ligantes ao receptor H₃.

3 MÉTODOS

3.1 Método de mecânica molecular

Os métodos de mecânica molecular baseiam-se na mecânica de Newton e Hooke para representar sistemas moleculares, ou seja, não consideram os elétrons em seus fundamentos e nem o hamiltoniano e a função de onda que descreve o sistema. Simplesmente obtém-se a energia do sistema molecular (E_{SM}) pela soma de um conjunto de equações algébricas, chamadas também de campos de força, que descrevem as energias necessárias para distorcer a molécula em determinadas maneiras, tais como as energias de estiramento da ligação (E_{EL}), de deformação angular (E_{DA}), de deformação de ângulo de torção (E_{DAT}), interações eletrostáticas de átomos não ligados (E_{IE}) tais como ligações de hidrogênio e, por fim, as forças de van der Waals (E_{VDW}) [49-52]. A energia do sistema molecular é representada na Equação 1, onde E_C é o termo de cruzamento obtido pelo acoplamento dos três primeiros termos da Equação 1 e a representação das maneiras em que a molécula pode se distorcer é mostrada na Figura 7.

$$E_{SM} = E_{EL} + E_{DA} + E_{DAT} + E_{IE} + E_{VDW} + E_C \quad (1)$$

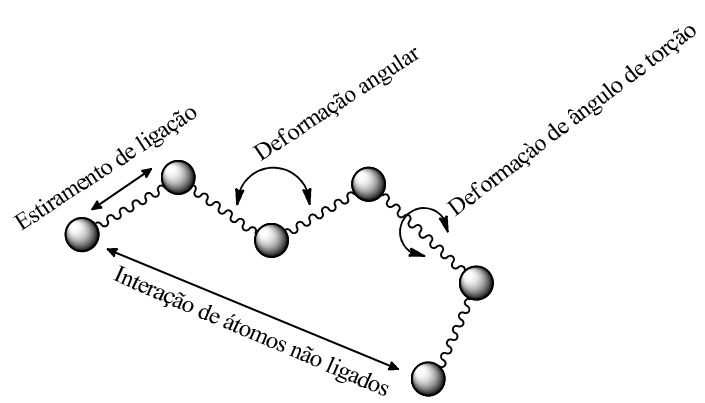


Figura 7. Ilustração dos termos fundamentais da energia do campo de força que descrevem uma determinada molécula.

Cada termo da Equação 1 é representado por uma expressão de potencial clássico que melhor representa cada energia, sendo que cada expressão possui graus diferentes de complexidades e números diferentes de constantes a serem determinadas por parametrização. Alguns termos da expressão de energia do sistema e suas representações clássicas são mostrados na Tabela 2, a seguir.

Tabela 2. Alguns potenciais que descrevem energeticamente os vários graus de liberdade de um sistema molecular.

Termo da Equação 1	Potencial clássico	Expressão
E_{EL}	Harmônico	$k(l-l_0)^2$
E_{EL}	Morse	$D_e \left[1 - e^{-\alpha(l-l_0)} \right]^2$
E_{DA}	Harmônico	$k(\theta-\theta_0)^2$
E_{DAT}	Cosseno	$k[1 + \cos(n\theta)]$
E_{VDW}	Lennard-Jones 6-12	$4k \left[\left(\frac{A}{R} \right)^{12} - \left(\frac{B}{R} \right)^6 \right]$
E_{VDW}	Lennard-Jones 10-12	$4k \left[\left(\frac{A}{R} \right)^{10} - \left(\frac{B}{R} \right)^{12} \right]$
E_{IE}	Coulomb	$\frac{q_1 q_2}{4\pi\epsilon_0 r}$
E_C	Taylor	$k(\theta-\theta_0) \left[(l-l_1)(l_2-l_2) \right]$

L é comprimento de ligação; Θ é ângulo de ligação; k , α , A e B são constantes específicas de cada elemento e que depende de sua hibridização e do tipo de ligação que representam; n é um número inteiro, r é a distância de átomos não ligados, q é a carga elétrica e D_e é a constante da energia de dissociação.

Os métodos de mecânica molecular atualmente utilizados diferenciam-se pelo número de termos utilizados na equação de energias do sistema, nos dados experimentais, Raio X ou dados espectroscópicos experimentais ou gerados a partir de cálculos de química quântica, que são usados para parametrizar as constantes contidas em cada potencial clássico, e também dependem da forma de se otimizar estes parâmetros semi-empíricos. No presente trabalho foi utilizado o

método MM+ que é uma variação do método MM2 [53-55], o qual apresenta grande habilidade em tratar adequadamente compostos orgânicos de tamanho médio.

3.2 Método de química quântica Hartree-Fock-Roothaan

No presente trabalho foi utilizado o método de química quântica *ab initio* Hartree-Fock-Roothaan (HFR) [56] que se baseia na proposta, feita por Roothaan em 1951, de expandir os orbitais espaciais monoelétrônicos de Hartree-Fock, φ_i , em uma combinação linear de funções de base de um elétron, χ_k , de acordo com a Equação 2. Esta proposta ajudou a tornar praticável a resolução das equações de um elétron de Hartree-Fock (Equação 3) para sistemas moleculares mais complexos, em termos da quantidade de átomos [57-58]. Na Equação 2, c_{ik} representa os coeficientes da expansão das funções de base e, na Equação 3, o termo \hat{F} é o operador de Fock mostrado na sua forma expandida na Equação 4.

$$\varphi_i = \sum_k^n c_{ik} \chi_k \quad (2)$$

$$\hat{F} \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i \quad (3)$$

$$\hat{F} = \hat{H}^{\text{caroço}} + \sum_{j=1}^{n/2} \left[2\hat{J}_j - \hat{K}_j \right] \quad (4)$$

Onde $\hat{H}^{\text{caroço}}$, \hat{J}_j e \hat{K}_j são denominados de operadores do caroço, de Coulomb e troca, respectivamente.

Após a aplicação da idéia sugerida por Roothaan, obtém-se as equações de Hartree-Fock-Roothaan, representadas na Equação 5 ou em forma equivalente na Equação 6, que são resolvidas por um processo iterativo construindo a matriz Fock (F_{kl}) que é calculada a partir de integrais que contém o operador de Fock \hat{F} (Equação 7) e a matriz de overlap (S_{kl}) obtida pelos valores das integrais da Equação 8.

As equações de HFR são resolvidas até que as energias dos orbitais moleculares (ε_i) e os coeficientes de expansão (c_{ik}) atinjam um grau de convergência predeterminado. Por fim, funções de base, energias e coeficientes dos orbitais moleculares são obtidos. E com estes dados surge a possibilidade de se obter várias outras propriedades eletrônicas de interesse, de forma direta ou indireta, tais como: momento dipolo, ordem de ligação e cargas atômicas, entre outros descritores teóricos [59-62]. Na Figura 8 é representado um fluxograma que esquematiza as principais etapas do método HFR empregado em sistemas moleculares.

$$\hat{F} \sum_k^n c_{ik} \chi_k = \varepsilon_i \sum_k^n c_{ik} \chi_k \quad (5)$$

$$\sum_k^n c_{ik} (F_{kl} - \varepsilon_i S_{kl}) = 0 \quad l = 1, 2, 3, \dots, n \quad (6)$$

$$F_{kl} \equiv \langle \chi_k | \hat{F} | \chi_l \rangle \quad (7)$$

$$S_{kl} \equiv \langle \chi_k | \chi_l \rangle \quad (8)$$

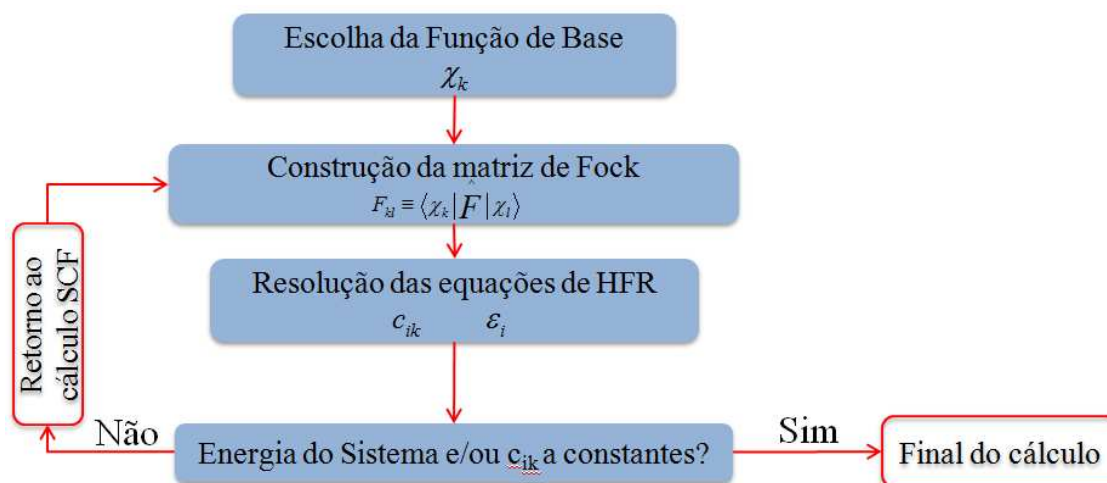


Figura 8. Fluxograma representativo das etapas principais efetuadas pela metodologia HFR no estudo de sistemas moleculares. SCF (*Self-Consistent Field*) é a abreviação do processo iterativo em que se baseia o método de resolução das equações de HFR.

3.3 Método de química quântica Austin Model 1

O método semi-empírico Austin Model 1 (AM1) [63], desenvolvido em 1985, ainda continua sendo muito popular para o estudo de compostos orgânicos. Dependendo do tipo de informação que se pretende extrair, ele oferece resultados relativamente confiáveis. Este método se fundamenta em algumas aproximações que o diferenciam dos métodos *ab initio*. A primeira delas é considerar somente os elétrons na camada de valência dos átomos para a construção da função de onda que descreve o sistema molecular, sendo que o conjunto de base mínima é escolhido para representar os orbitais atômicos. A segunda, os valores das integrais envolvendo orbitais atômicos referentes a um núcleo atômico ou a dois núcleos distintos, contidas na matriz de Fock e Overlap das Equações 7 e 8, seção 3.2, são aproximados para valores experimentais provenientes de dados de espectros atômicos ou gerados a partir de cálculos *ab initio*, aproximação MNDO [64] (*Modified Neglect of diatomic overlap*). E, por fim, o potencial de

repulsão do caroço dos átomos, região que inclui o núcleo atômico e os elétrons das camadas internas, é representado por funções matemáticas que contém constantes que são ajustadas para melhor reproduzir dados experimentais de momento dipolo, calor de formação, energia de ionização entre outros, de um determinado número de compostos utilizados para efetuar este processo denominado de parametrização.

Os outros passos do método AM1 referentes à construção da função de onda que descreve o sistema molecular, obtida através da resolução das equações monoelétrônicas pelo método iterativo e a convergência do cálculo químico quântico seguem a mesma essência metodológica do método HFR descrito na Figura 8, seção 3.2. Os outros métodos semi-empíricos existentes diferenciam-se da metodologia AM1 pelo número de integrais negligenciadas e a maneira com que o processo de parametrização é realizado.

3.4 Método da Teoria do funcional da densidade

A teoria do Funcional da Densidade (DFT- *Density Functional Theory*) baseia-se nos dois teoremas de Hohenberg e Kohn [65], os quais sugerem que o estado eletrônico fundamental de uma molécula é determinado completamente pela função de densidade eletrônica, $\rho(r)$, ou seja, existe uma relação expressa por um funcional (Equação 9), uma função E que está em função de outra função, $\rho(r)$, que possibilita obter a energia eletrônica do sistema (E_{ele}).

$$E[\rho(r)] = E_{ele} \quad (9)$$

Além disso, estes dois pesquisadores demonstraram que a densidade eletrônica $\rho(r)$ obedece ao teorema variacional. Isto significa que para uma dada densidade eletrônica de um sistema, sua

energia E_{ele} será um valor maior ou igual ao valor de energia exata (E_0) representado na Equação 10.

$$E[\rho(r)] = E_{ele} \geq E_0 \quad (10)$$

Uma aplicação prática dos dois teoremas apresentados anteriormente foi formulada por Kohn e Sham [66] em 1965, e este fato possibilitou a aplicação do método DFT a sistemas moleculares. Em sua formulação foram consideradas as seguintes aproximações: (a) a densidade eletrônica $\rho(r)$ (Equação 11) é representada através dos orbitais de Kohn-Sham, φ_i , onde estes orbitais são utilizados para formar um determinante de Kohn-Sham que é utilizado para calcular a energia total do sistema; (b) o funcional para o cálculo da energia DFT (Equação 12) é escrito como a soma dos funcionais de energia cinética dos elétrons $T_e[\rho(r)]$ (Equação 13), energia potencial núcleo-elétron $V_{ne}[\rho(r)]$ (Equação 14), energia potencial elétron-elétron $V_{ee}[\rho(r)]$ (Equação 15) e energia potencial de correlação e troca ($E_{xc}[\rho(r)]$), sendo que esta última não possui forma definida e é aproximada para equações semi-empíricas, as quais apresentam, para alguns casos, parâmetros ajustáveis para melhor reproduzir dados experimentais selecionados.

$$\rho(r) = \sum_i |\varphi_i(r)|^2 \quad (11)$$

$$E[\rho(r)] = T_e[\rho(r)] + V_{en}[\rho(r)] + V_{ee}[\rho(r)] + E_{xc}[\rho(r)] \quad (12)$$

$$T_e[\rho(r)] = -\frac{1}{2} \sum_1^n \int \varphi_i^*(r_1) \nabla_1^2 \varphi_i(r_1) dr_1 \quad (13)$$

$$V_{ne}[\rho(r)] = - \sum_j^{Núcleo} Z_j \int \frac{\rho(r_1)}{r_{1j}} dr_1 \quad (14)$$

$$V_{ee}[\rho(r)] = +\frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 \quad (15)$$

(c) os orbitais de Kohn-Sham são aqueles que minimizam a energia do sistema e são obtidos a partir da resolução das equações de autovalores monoelétrônicas (Equação 16), onde \hat{h}_i^{KS} representa o operador de Kohn-Sham, ε_i é a energia orbital e v_{XC} é o potencial de correlação e troca, que é definido como a derivada do funcional de correlação e troca pela função de densidade eletrônica $\rho(r)$ (Equação 17) [67-69].

$$h_i^{KS} \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i$$

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_j \frac{Z_j}{r_{1j}} + \int \frac{\rho(r_2)}{r_{12}} dr_2 + v_{XC}(1) \right] \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i \quad (16)$$

$$v_{XC} \equiv \frac{\delta E_{XC}[\rho(r)]}{\delta \rho(r)} \quad (17)$$

A resolução da equação é feita por método iterativo semelhante à metodologia HFR (ver Figura 9), porém os orbitais gerados tem como finalidade principal descrever da melhor maneira possível a função de densidade eletrônica $\rho(r)$, e não minimizar a energia do sistema.

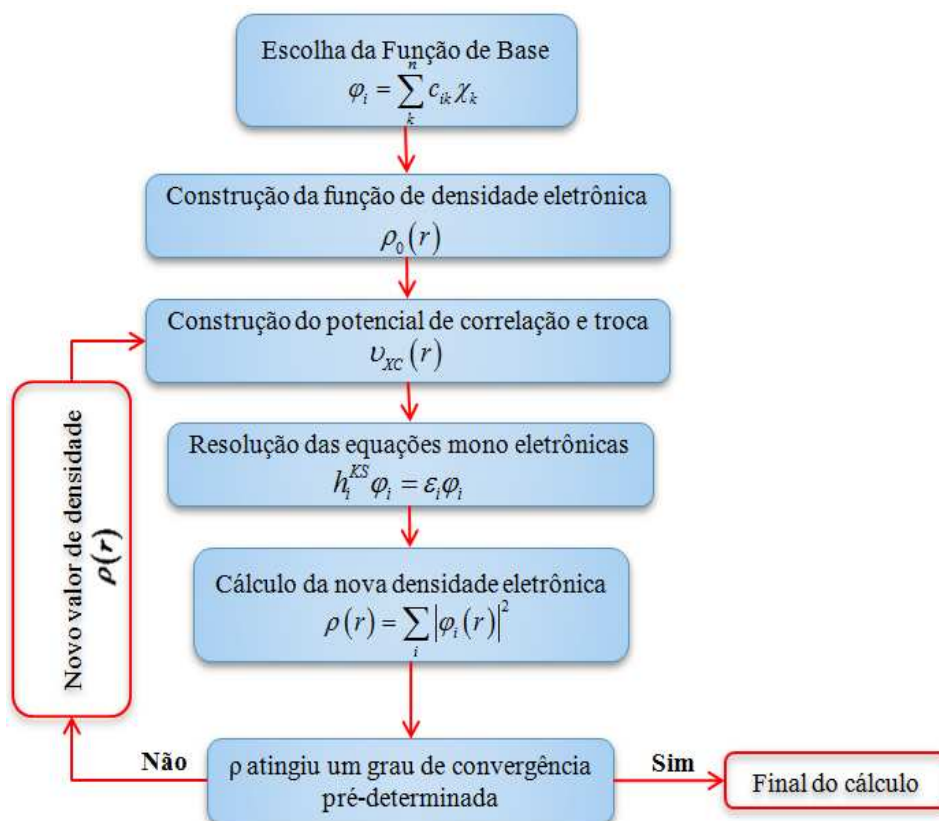


Figura 9. Fluxograma demonstrativo das principais etapas seguidas ao se efetuar cálculos de estrutura eletrônica DFT.

O desafio do método DFT reside no desenvolvimento de funcionais de energia, sendo mais específico, da parte do funcional relacionada à energia de correlação e troca, E_{XC} , que tem desconhecida sua forma exata até hoje [70-71]. No trabalho apresentado nesta tese utilizou-se do funcional híbrido B3LYP [72-73] (Equação 18), o qual apresenta em sua formulação o termo de energia troca de Hartree-Fock (E_X^{HF}), combinado com outros termos de correlação e troca do DFT (E_X^{LSDA} , E_C^{LYP} , E_X^B , E_C^{LYP} , E_C^{LSDA}), juntamente com parâmetros semi-empíricos, a , b e c , com seus valores determinados para melhor reproduzir dados experimentais.

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1-a)E_X^{LSDA} + aE_X^{HF} + bE_X^B + cE_X^{LYP} + (1-c)E_X^{LSDA} \quad (18)$$

3.5 Métodos de análise estatística RLS, PCA, HCA e PLS

O presente estudo utilizou-se de quatro métodos de análise estatística para avaliar possíveis relações entre afinidades ligantes e descritores teóricos. O primeiro a ser discutido é o método RLS (Regressão Linear Simples) [74], caracterizado por construir uma função do tipo $Y=aX+b$, onde Y é a variável dependente e X é a variável independente, a e b são coeficientes. Basicamente, a regressão é usada com duas finalidades: de previsão (prever o valor de Y a partir do valor de X) e estimar o quanto e como X influencia Y . A significância do modelo de regressão é avaliada pelos valores dos parâmetros estatísticos R^2 (coeficiente de correlação ao quadrado), F (teste de Fisher), s (erro padrão) e o erro associado ao valor predito da variável Y .

Diferentemente da RLS, o método PCA (*Principal Component Analysis*) [75-78] é utilizado em análise de seleção de variáveis. É capaz de produzir um novo conjunto de variáveis denominadas de componentes principais (PCs - *Principal Component*), que são uma combinação linear das n variáveis X originais de um número m de amostras estudadas. As PCs são geradas de maneira que a primeira componente principal (PC1) possui a maior parte da informação estatística do sistema, covariância, e as outras componentes geradas (PC2, PC3, etc.) contém o restante da covariância em ordem decrescente de valores, sendo que a informação do sistema de cada uma é única e, assim, o problema da redundância é removido.

Devido à fundamentação teórica característica do método PCA, os químicos, entre outros, utilizam-no para analisar um número grande de variáveis, tendo em vista que esta metodologia possibilita uma redução do espaço e permite a interpretação dos dados em gráficos 2D (como por exemplo PC1 *versus* PC2 e PC1 *versus* PC3). Os dois tipos de gráficos que podem ser gerados pela análise PCA são descritos a seguir:

- Escores - Contém informações de quais amostras são visualmente similares, agrupando-as em regiões próximas do gráfico 2D, enquanto as amostras diferentes são agrupadas em regiões afastadas uma da outra no gráfico. Sendo que estes resultados dependem de quais variáveis X são consideradas, em conjunto, das amostras avaliadas.
- Pesos – Este tipo de gráfico possui informações quantitativas referentes à quais variáveis X são mais relevantes para descrever uma variação dos dados originais. Tendo em vista o maior aproveitamento em gerar interpretações químicas dos dados dispostos nos dois gráficos citados, as suas análises devem ser feitas em conjunto.

O método de Análise Hierárquica de Agrupamentos [75-78] (HCA - *Hierarchical Cluster Analysis*) é um método estatístico multivariado que possibilita descobrir grupos (agrupamentos) de amostras ou variáveis X que apresentam certo comportamento similar. Neste método, cada amostra ou variável é primeiramente considerada como um agrupamento e, logo depois, a matriz de similaridade é avaliada, utilizando uma medida de similaridade que pode ser a distância Euclidiana, sendo que o outro ponto mais similar ao anterior é agrupado ao primeiro. Em seguida, o processo continua a se repetir até que todos os pontos pertençam a um agrupamento específico.

Ao final do procedimento descrito anteriormente na metodologia HCA obtemos como resultado um gráfico em duas dimensões denominado de dendrograma, no eixo horizontal, estão localizadas as amostras ou variáveis e, no eixo vertical, os valores de similaridade entre os pontos. Estes dendrogramas, de certa forma, complementam as informações obtidas pelo método

PCA, pelo fato de mostrar quantitativamente a similaridade entre as amostras, segundo as variáveis escolhidas. Informação esta não contida na análise de componentes principais.

O quarto método estatístico empregado foi o dos mínimos quadrados parciais (PLS-*Partial Least Square*) [74-79], que gera equações de regressões lineares que correlacionam uma propriedade experimental de interesse, variável Y, com possíveis descritores X. Este método de abordagem apresenta as seguintes vantagens em relação ao método de regressão linear múltipla que foram decisivas para sua escolha: (a) não é sensível a colinearidade dos descritores; (b) a razão entre o número de descritores e o de compostos estudados não é limitada; (c) descreve a variável dependente Y como uma combinação linear de variáveis originais por meio de componentes principais, sendo que por esse meio assegura-se que as PCs sejam relevantes para a descrição de Y; (d) as variáveis latentes são otimizadas para melhor descrever a relação entre Y e X.

3.6 Orbital molecular efetivo para a reação

O uso da energia do FERMO foi primeiramente sugerida e utilizada com sucesso por da Silva e colaboradores [46] para correlacioná-la com os valores de pK_a de ácidos carboxílicos, alcoóis e fenóis. Em seu estudo, da Silva sugeriu que qualquer orbital molecular ocupado próximo do orbital HOMO ou mesmo o próprio orbital HOMO pode ser o responsável pela interação de uma determinada molécula, com tendência a doar elétrons, com outra espécie predisposta a receber elétrons, interação $HOMO_x$ do nucleófilo com o LUMO do eletrófilo (Figura 10). Esta possibilidade não foi descartada pelo desenvolvedor da Teoria dos Orbitais de Fronteira, o prêmio nobel Fukui, o qual salientou que a aproximação HOMO-LUMO para explicar as reações com transferências de elétrons pode, às vezes, ser falha [80].

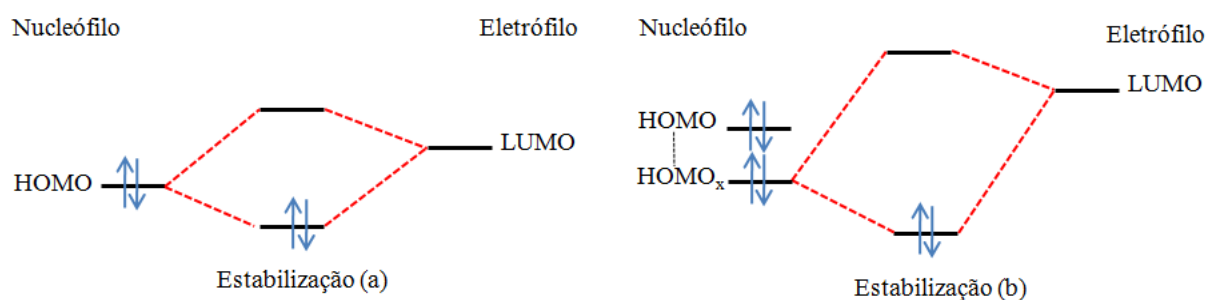


Figura 10. (a) e (b) são modos de possíveis interações entre orbitais moleculares de nucleófilos e eletrófilos sugeridos pelo conceito de FERMOs, referência [46].

Segundo da Silva [46], para uma determinada molécula, a escolha do orbital FERMO fundamenta-se nos seguintes critérios:

- I. Verificar a forma dos orbitais moleculares.
- II. Avaliar qual dos orbitais moleculares apresenta maior contribuição do átomo ou grupo de átomos que é ou são o centro da reação. Isto é feito analisando o valor da composição dos orbitais moleculares em função dos coeficientes de expansão dos orbitais atômicos. O valor desta composição é estimado pela razão entre a soma dos coeficientes dos orbitais atômicos ao quadrado do centro reativo, $\sum_{\text{Centro reativo}} c_i^2$,

dividido pela soma de todos os coeficientes ao quadrado dos átomos totais que compõem a molécula $\sum_{\text{Todos átomos}} c_i^2$ (Equação 19), procedimento elaborado por

Solomon e colaboradores [81].

$$\text{Contribuição} = \frac{\sum_{\text{Centro reativo}} c_i^2}{\sum_{\text{Todos os átomos}} c_i^2} \times 100 \quad (19)$$

4 METODOLOGIA

4.1 Procedimentos

Para o estudo dos ligantes não imidazólicos foram efetuadas as seguintes etapas metodológicas:

(i) Primeiramente foram selecionados 28 compostos antagonistas do receptor H_3 , apresentados nas Tabelas 3 e 4, sintetizados por Divorak e colaboradores [45], e que possuem afinidades ligantes entre 5,27 e 9,20. Estes compostos possuem estruturas químicas semelhantes aos novos ligantes não imidazólicos com estrutura base mostrada anteriormente na Figura 6, com valores erro na medida de afinidade ligante indicado entre parênteses. Logo em seguida, os compostos foram otimizados preliminarmente utilizando o campo de força de mecânica molecular (MM+) implementado no programa HyperChem 7.0 [82] para gerar as coordenadas iniciais, onde foi feito nestas otimizações de estruturas análises conformacionais nos ângulos diedros mostrados na Figura 11 para os compostos do grupo I e II, Figura 11 (a) e (b), respectivamente, com a finalidade de evitar utilizarmos estruturas oriundas de mínimos locais para todos os 28 compostos estudados.

(ii) Posteriormente, foram totalmente reotimizadas com os métodos AM1, HFR e DFT, sendo que os dois últimos presentes no pacote computacional Gaussian 03 [83] e utilizando-se da base de Pople 6-31G(d,p) para as duas últimas metodologias, tendo em vista que esta base seja uma das mais adequadas para tratar compostos orgânicos que apresentam basicamente os átomo de carbono, nitrogênio, oxigênio e hidrogênio e, além disso, não apresentam funções do tipo difusas que podem causar uma escolha errônea na seleção dos orbitais FERMOs. Para a

metodologia DFT foi utilizado o funcional B3LYP por ser, também, um dos funcionais, segundo a literatura especializada, que se mostra adequado a ser empregado a compostos orgânico.

Tabela 3. Estruturas químicas das 4-fenoxipiperidinas (grupo I) usadas no presente trabalho e suas afinidades ligantes experimentais ao receptor histamínico humano H₃ (pK_i).

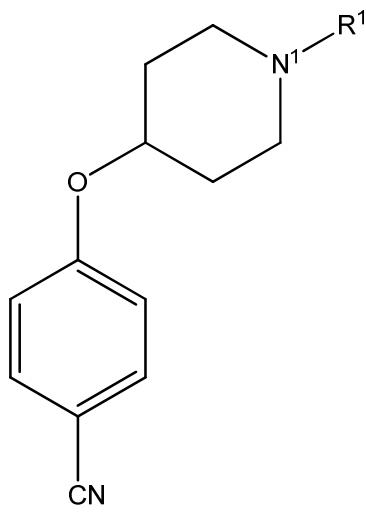


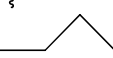

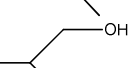


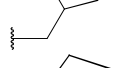
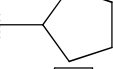
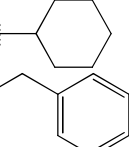
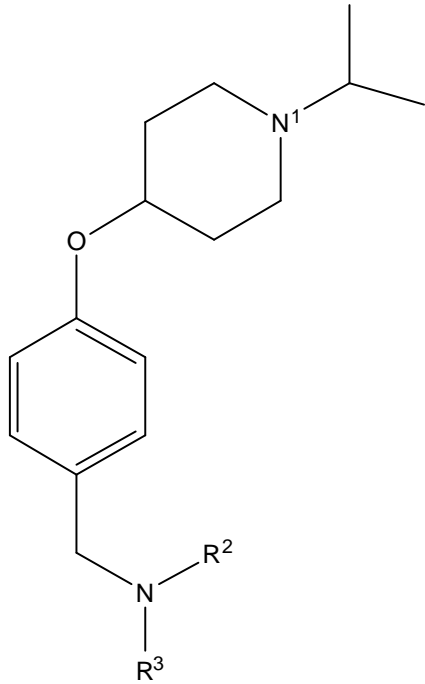

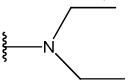
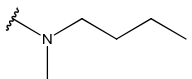
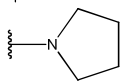
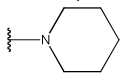
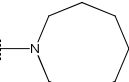
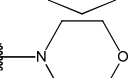

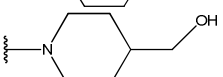
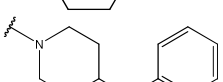

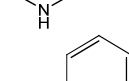
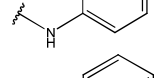
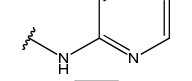
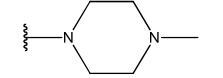
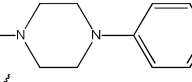
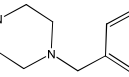
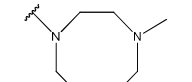
Estrutura base do grupo I	Numeração	Substituinte R ¹	pK _i
	1		5,37 (± 0,07)
	2		7,09 (± 0,07)
	3		6,97 (± 0,10)
	4		7,55 (± 0,04)
	5		6,12 (± 0,21)
	6		7,82 (± 0,13)
	7		7,18 (± 0,08)
	8		7,89 (± 0,09)
	9		7,49 (± 0,14)
	10		5,27 (± 0,03)

Tabela 4. Estruturas químicas das 4-fenoxipiperidinas (grupo II) usadas no presente trabalho e suas afinidades ligantes experimentais ao receptor histamínico humano H₃ (pK_i).

Estrutura base do grupo II	Numeração	Substituinte NR ² R ³	pK _i
	11		8,52 (± 0,01)
	12		8,91 (± 0,09)
	13		8,83 (± 0,09)
	14		8,71 (± 0,09)
	15		9,20 (± 0,10)
	16		8,77 (± 0,07)
	17		8,67 (± 0,03)
	18		8,85 (± 0,10)
	19		9,00 (± 0,01)
	20		8,84 (± 0,09)
	21		8,79 (± 0,10)
	22		8,26 (± 0,04)
	23		8,65 (± 0,04)
	24		9,13 (± 0,21)
	25		8,70 (± 0,01)
	26		8,70 (± 0,01)
	27		9,00 (± 0,01)
	28		8,94 (± 0,06)

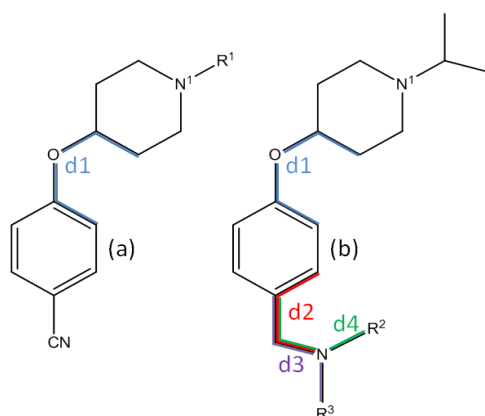


Figura 11. (a) Estrutura química dos compostos do grupo I juntamente com o ângulo diedro d1 utilizados na análise conformacional. (b) Estrutura química dos compostos do grupo II juntamente com os ângulos diedros d1, d2, d3, d4 usados na análise conformacional

(iii) A partir das estruturas químicas reotimizadas pelos três métodos de química quântica para o conjunto de moléculas foram obtidos os seguintes descritores moleculares:

- (1) Carga derivada do potencial eletrostático [84] (CHELPG – *Charges from Electrostatic Potential using a Grid based method*) do átomo de nitrogênio N^1 , presente no anel piperidínico dos 28 compostos. Esse descritor foi calculado devido ser constatado experimentalmente por Apodaca [85] que, quando o composto (a) (Figura 12) perde um átomo de nitrogênio, o qual é localizado em posição equivalente ao do átomo N^1 nas estruturas das substâncias dos grupos I e II, gera um composto (b) análogo (Figura 12), com valor de afinidade reduzido para 6,20. Com isso, se torna claro a importância de avaliar a carga neste átomo.

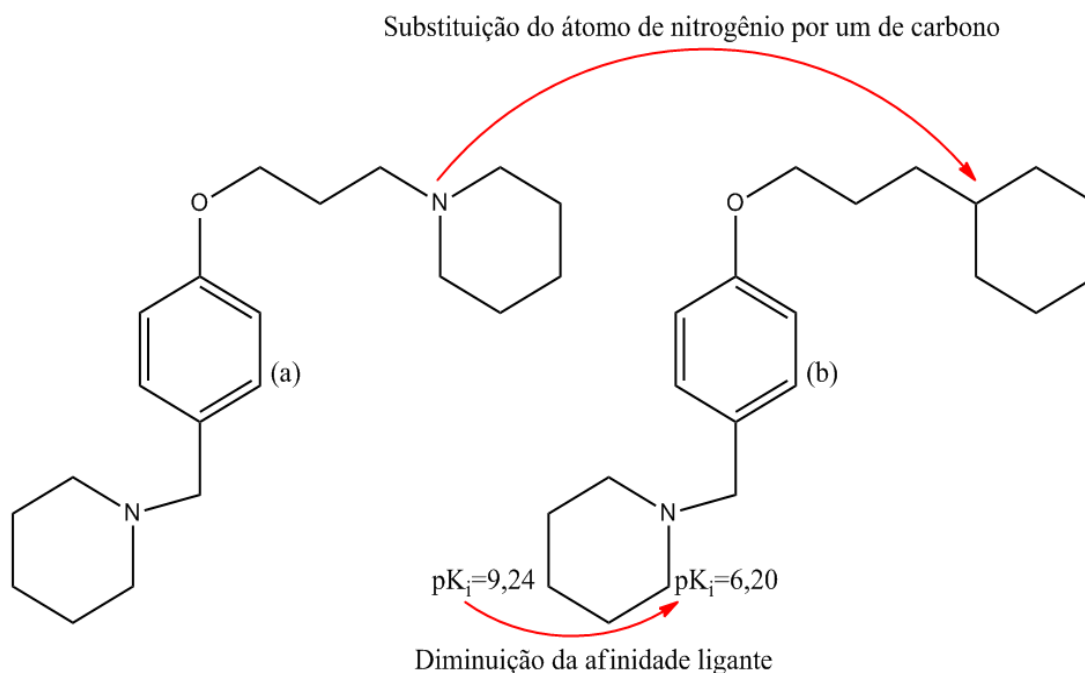


Figura 12. Diminuição da afinidade ligante ao receptor H_3 quando um nitrogênio é substituído por um carbono na 1-[4-(3-piperidin-1-ilpropoxi)benzil]piperidina, composto (a), produzindo o composto (b), 1-[4-(3-ciclohexilpropoxi)benzil]piperidina. O estudo dos compostos (a) e (b) com suas afinidades experimentais são apresentados na referência [85].

(2) Momento dipolo (MD). Este descritor foi considerado para avaliarmos se o receptor H_3 apresenta preferência a se unir por compostos polares ou apolares.

(3) Polarizabilidade de primeira ordem (α) [86]. O valor de α indica a facilidade com que a molécula cria um dipolo induzido quando em presença de outras espécies químicas; esse dado pode ser relacionado, também, à aptidão de interagir com aminoácidos.

(4) Polarizabilidade de segunda ordem (β) [86]. Esta propriedade é relacionada ao caráter eletrofílico da molécula, ou seja, quanto maior for o valor de β , maior será sua capacidade de receber elétrons.

- (5) Volume Molecular (V). Este descritor é relevante para estimar se efeitos estéricos afetam de maneira significativa a afinidade ao receptor H₃.
- (6) Energias dos orbitais de fronteira HOMO (ϵ_{HOMO}) e LUMO (ϵ_{LUMO}). Estes descritores quânticos estão relacionados ao caráter doador e receptor de elétrons de um determinado composto [87-89], respectivamente.
- (7) As energias dos orbitais FERMOs (ϵ_{FERMO}). Para as 28 moléculas estudadas, o átomo N¹ foi selecionado como centro reativo pela mesma razão com que a carga em N¹ foi escolhida, como explicado no item (1).
- (8) Índices de dureza absoluta (η), moleza absoluta (S), potencial químico eletrônico (μ), eletronegatividade absoluta (χ) e eletrofilicidade (ω) [90-91]. Os cálculos destes cinco índices obedecem a cinco diferentes equações, que possuem as energias ϵ_{HOMO} e ϵ_{LUMO} como variáveis, mostradas nas Equações a seguir:

$$\eta = (\epsilon_{LUMO} - \epsilon_{HOMO}) / 2 \quad (20)$$

$$S = 1 / \eta \quad (21)$$

$$\mu = (\epsilon_{LUMO} + \epsilon_{HOMO}) / 2 \quad (22)$$

$$\chi = -(\epsilon_{LUMO} + \epsilon_{HOMO}) / 2 \quad (23)$$

$$\omega = \mu^2 / 2\eta \quad (24)$$

- (9) Índices S , η , μ , χ e ω recalculados utilizando a energia ϵ_{FERMO} ao invés da energia ϵ_{HOMO} , com suas fórmulas de obtenção apresentadas nas Equações 25-29, gerando novos índices

de reatividade denominados de S' , η' , μ' , χ' e ω' . Esta estratégia foi parcialmente aplicada por da Silva e colaboradores [92] para explicar o comportamento de alguns ácidos e bases usando os índices de dureza e moleza de Pearson [90].

$$\eta' = (\varepsilon_{LUMO} - \varepsilon_{FERMO}) / 2 \quad (25)$$

$$S' = 1 / \eta' \quad (26)$$

$$\mu' = (\varepsilon_{LUMO} + \varepsilon_{FERMO}) / 2 \quad (27)$$

$$\chi' = -(\varepsilon_{LUMO} + \varepsilon_{FERMO}) / 2 \quad (28)$$

$$\omega' = \mu'^2 / 2\eta' \quad (29)$$

(10) Índices de densidades eletrônicas no átomo de nitrogênio N¹ nos orbitais HOMO

($\sum_{(HOMO)} c_i^2$), LUMO ($\sum_{(LUMO)} c_i^2$) e FERMO ($\sum_{(FERMO)} c_i^2$). Cada índice é calculado somando

os quadrados dos coeficientes dos orbitais atômicos no átomo N¹ (c_i) em cada um dos três orbitais moleculares citados, onde i representa os orbitais atômicos. Este tipo de índice foi usado com sucesso por Subramaniam e colaboradores em um estudo químico quântico do lapachol e um grupo de 1,4-naftaquinonas contra carcinosarcoma Walter 256 [93].

(11) Energia de Ionização de primeira ordem (EI). Propriedade usada para estimar a facilidade da molécula em perder um elétron, foi calculada pela diferença entre a energia da espécie com carga 1+ menos a energia da molécula no estado neutro.

(12) Afinidade por próton H^+ no átomo de nitrogênio N^1 (AP). Avalia a predisposição da molécula em ser protonada quando reagir com o íon H^+ . Este fator é de extrema relevância, pois poderá indicar se as moléculas podem atuar, possivelmente, na forma protonada ou neutra dentro do organismo. O valor calculado desta propriedade teórica apresenta uma concordância com valores experimentais já comparados na literatura para outros tipos de compostos [94].

(13) Afinidade eletrônica (AE). O valor desta propriedade foi estimado pela diferença entre a energia da espécie no estado neutro menos a energia do seu respectivo ânion de carga -1 .

(iv) Avaliação de qual tipo de orbital, HOMO, LUMO ou FERMO, é mais correlacionado com as afinidades ligantes pelo método RLS.

(v) Seleção do conjunto de possíveis descritores influenciadores da afinidade ligante pK_i por métodos multivariados, PCA e HCA, e construção de modelos de regressão linear pelo método PLS.

(vi) Análise qualitativa de alguns descritores de reatividade não selecionados pelos métodos multivariados, porém que estão relacionados ao caráter ácido base das moléculas estudadas.

4.2 Programas utilizados

Para os cálculos de otimização das estruturas químicas, cálculos dos descritores eletrônicos, visualização dos dados e análise estatística foram utilizados os seguintes programas:

- **Programas de química quântica**
 - ✓ GAUSSIAN 03 [83] - Software usado para efetuar a otimização das estruturas químicas dos compostos e pelos métodos HFR e DFT, assim como obtenção das propriedades dos compostos descritos na seção 4.1.
 - ✓ MOPAC 2007 [95] - Software empregado na otimização das estruturas dos compostos pelos métodos AM1, assim como obtenção das propriedades dos compostos descritos na seção 4.1. Ressaltamos que não utilizamos o método AM1 implementado do programa GAUSSIAN 03 por este não gerar valores coerentes das cargas do potencial eletrostático no átomo N¹, que neste caso eram positivas e, para alguns compostos, atingiram valores próximos a 100.
 - ✓ HYPERCHEM 7.0 [82] - Este programa foi utilizado na análise conformacional dos 28 compostos do grupo I e II com o método de mecânica molecular MM+ que se encontra implementado neste software.
- **Programas de visualização e interface gráfica**
 - ✓ ARGUSLAB 4.0 [96] - Software de química quântica usado para visualização dos resultados provenientes dos cálculos de otimização e propriedades eletrônicas com os métodos AM1, HFR e DFT e registrados nos arquivos *output* dos programas MOPAC 2007 e GAUSSIAN 03.
 - ✓ GABEDIT 2.2.0 [97] - Programa empregado para gerar os arquivos *input* das estruturas químicas dos compostos a serem efetuadas otimizações das estruturas assim como o cálculo das propriedades eletrônicas nos programas GAUSSIAN 03 e MOPAC 2007.
 - ✓ MOLDEN 4.7 [98] - Este programa foi utilizado para gerar as formas dos orbitais moleculares dos 28 compostos estudados nesta tese.
- **Programas de análise estatística**
 - ✓ MINITAB 15.0 [99] – Utilizado para efetuar as análises de regressão linear simples, PCA, HCA e PLS, assim como a construção dos gráficos e de cada uma das quatro metodologias estatísticas citadas.

5 RESULTADOS

5.1 Orbitais FERMOs

Primeiramente foram avaliados quais orbitais moleculares ocupados apresentavam maior contribuição orbital no centro reativo escolhido para o grupo de moléculas, o átomo de nitrogênio N¹, e também foi levada em consideração na avaliação a forma de seus orbitais moleculares. Logo em seguida, os orbitais selecionados foram classificados como FERMOs. Este processo foi efetuado para cada uma das 28 moléculas nos três níveis de cálculos quânticos aplicados. A Tabela 5 apresenta o resumo dos orbitais moleculares ocupados que foram classificados como orbitais moleculares efetivos para a reação para cada um dos compostos estudado, em conjunto com a metodologia de química quântica aplicada. Nas Figuras 13, 14 e 15 são representadas as formas dos orbitais FERMOs e de outros três orbitais moleculares ocupados para as moléculas 1, 8, 12 e 16, obtidas através dos métodos AM1, HFR e DFT, respectivamente. E, por fim, nas Figuras 16, 17 e 18 são apresentados os diagramas de correlação das energias dos FERMOs selecionados para cada composto, sendo novamente mostrados para as metodologias AM1, HFR e DFT, respectivamente.

Tabela 5. Tabela dos Orbitais moleculares ocupados classificados como FERMOs para as 28 moléculas estudadas com as três metodologias de química quântica empregadas.

Molécula	FERMO (AM1)	FERMO (HFR)	FERMO (DFT)
1	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
2	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
3	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
4	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
5	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
6	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
7	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
8	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
9	HOMO-1	HOMO-1	HOMO
10	HOMO-3	HOMO-3	HOMO
11	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
12	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
13	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
14	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
15	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
16	HOMO-2	HOMO-3	HOMO-1
17	HOMO-2	HOMO-2	HOMO
18	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
19	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
20	HOMO-4	HOMO-4	HOMO-1
21	HOMO-2	HOMO-2	HOMO-1
22	HOMO-4	HOMO-4	HOMO-1
23	HOMO-3	HOMO-3	HOMO-1
24	HOMO-2	HOMO-2	HOMO
25	HOMO-4	HOMO-4	HOMO-1
26	HOMO-4	HOMO-4	HOMO
27	HOMO-3	HOMO-3	HOMO-2
28	HOMO-3	HOMO-3	HOMO-1

Na Tabela 5 é relevante notar que os FERMOs identificados para cada composto não são, necessariamente, o mesmo HOMOx para cada molécula. Verifica-se também nesta Tabela que os FERMOs variaram de HOMO-1 à HOMO-4 para as metodologias AM1 e HFR e, no entanto,

para a metodologia DFT tiveram comportamento diferenciado, variando de HOMO à HOMO-2 somente.

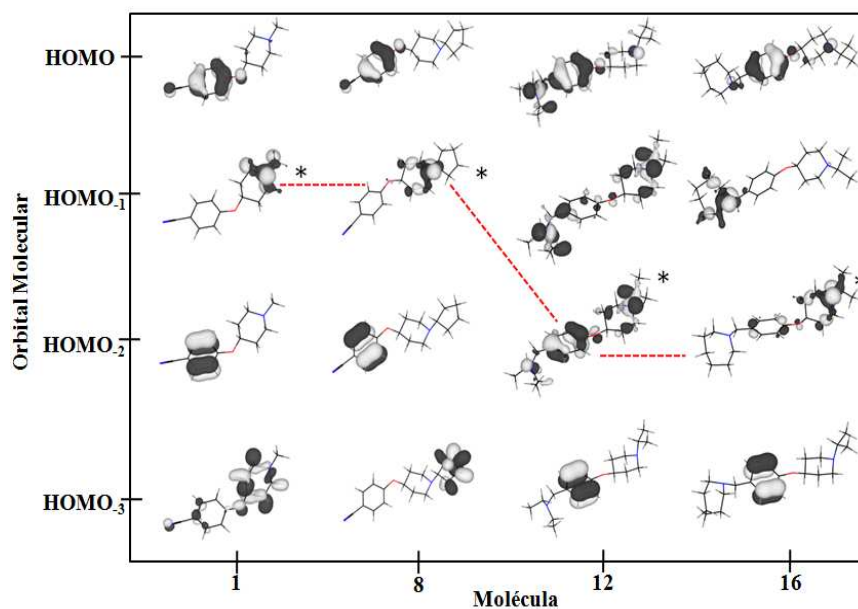


Figura 13. Formas dos orbitais moleculares ocupados de maiores energias para quatro moléculas calculadas pela metodologia AM1: 1, 8, 12, e 16. Para verificar a estrutura química em duas dimensões e a numeração ver as Tabelas 2 e 3. (*) indica os FERMOs. Comportamento similar é verificado para os orbitais FERMOs das 24 moléculas restantes.

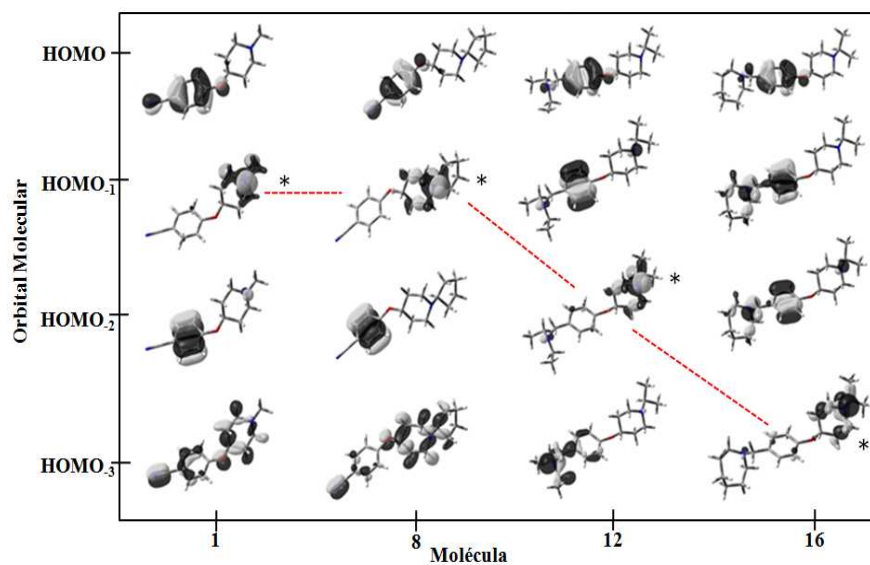


Figura 14. Formas dos orbitais moleculares ocupados de maiores energias para quatro moléculas calculadas pela metodologia HFR: 1, 8, 12, e 16. Para verificar a estrutura química em duas dimensões e a numeração ver as Tabelas 2 e 3. (*) indica os FERMOs. Comportamento similar é verificado para os orbitais FERMOs das 24 moléculas restantes.

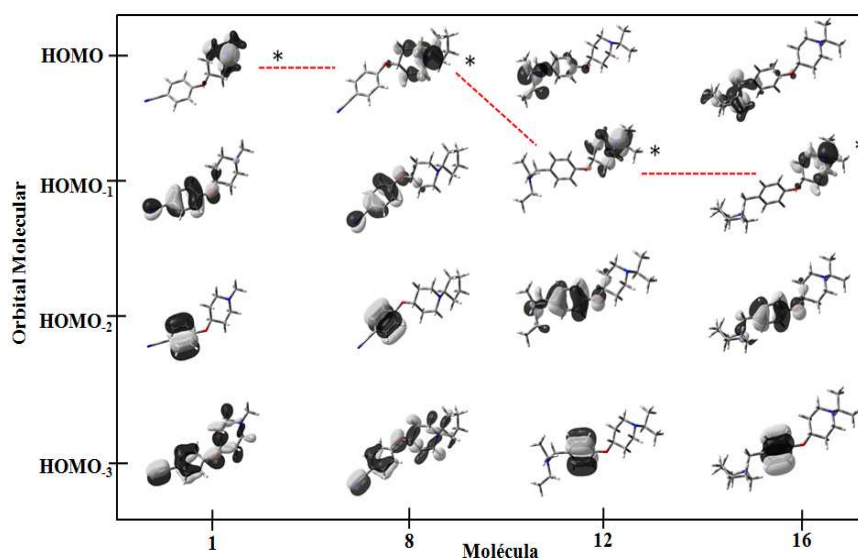


Figura 15. Formas dos orbitais moleculares ocupados de maiores energias para quatro moléculas calculadas pela metodologia DFT: 1, 8, 12, e 16. Para verificar a estrutura química em duas dimensões e a numeração ver as Tabelas 2 e 3. (*) indica os FERMOs. Comportamento similar é verificado para os orbitais FERMOs das 24 moléculas restantes.

Nota-se na que os orbitais FERMOs para as moléculas mostradas nas Figuras 13-15 não são, necessariamente, o mesmo HOMO_x para cada uma delas. Verifica-se na Figura 13, através da metodologia AM1, que os FERMOs possuem formas equivalentes em cada caso, coincidindo alternadamente entre HOMO-1 para as duas primeiras moléculas e HOMO-2 para a terceira e quarta. Avaliando a forma dos FERMOs na Figura 14, metodologia HFR, ocorre comportamento parcialmente semelhante, os FERMOs possuem a mesma forma em cada caso, coincidindo alternadamente entre HOMO-1 para as duas primeiras moléculas, HOMO-2 para a terceira e HOMO-3 quarta. Ao se avaliar a forma dos orbitais FERMOs para a metodologia DFT, Figura 15, verifica-se que suas formas são, também, equivalentes às metodologias apresentadas anteriormente, porém suas disposições são diferentes, sendo HOMO para as duas primeiras moléculas e HOMO-1 para as duas últimas.

Verifica-se também ao avaliarmos as Figuras 13-15 outro comportamento interessante, as formas dos orbitais moleculares para os 28 compostos estudados gerados a partir das metodologias HFR e DFT forma iguais as formas apresentadas das moléculas 1, 8, 12, e 16. Enquanto que para as formas dos orbitais moleculares FERMOs obtidos pela metodologia AM1 são diferentes. Como pode ser verificado para a molécula 12 presente na Figura 13, onde a forma do orbital FERMO se apresenta mais distribuído por todos os átomos da molécula. Comportamento este que não se sucede para as metodologias HFR e DFT, onde a formas destes orbitais se concentra no átomo N¹ e em outros átomos próximos a este. Este comportamento pode ser justificado pelo fato de que os cálculos efetuados pela metodologia AM1 somente considera orbitais da camada de valência e o tipo base utilizada ser uma base mínima, fatores estes que colaboram na obtenção de orbitais moleculares FERMOs inferiores em relação aos obtidos pelas metodologias de química quântica HFR e DFT.

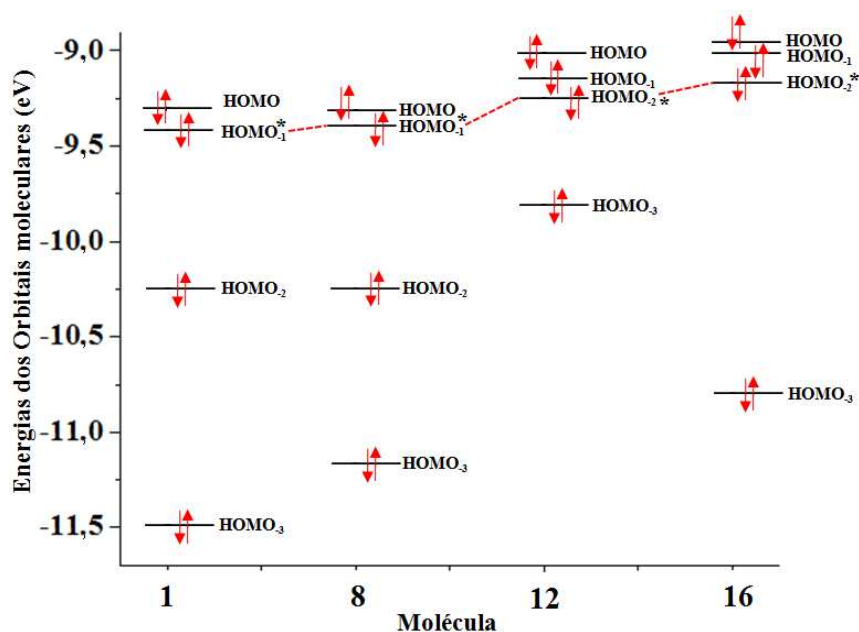


Figura 16. Diagrama dos níveis de energias dos orbitais moleculares para as moléculas 1, 8, 12, e 16 obtido pela metodologia AM1. As correlações entre os FERMOs são mostradas por linhas tracejadas unindo-os.

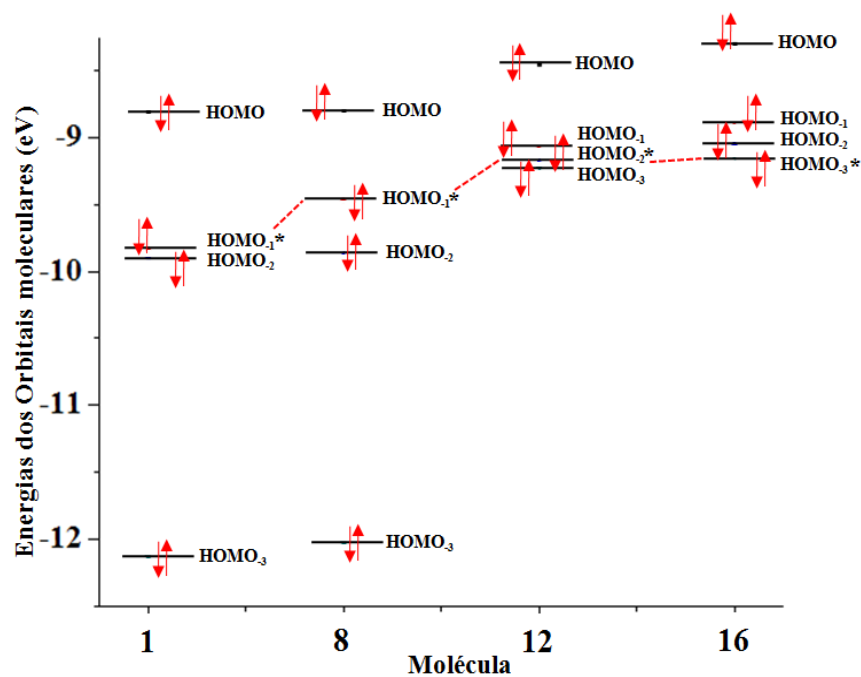


Figura 17. Diagrama dos níveis de energias dos orbitais moleculares para as moléculas 1, 8, 12, e 16 obtido pela metodologia HFR. correlações entre os FERMOs são mostradas por linhas tracejadas unindo-os.

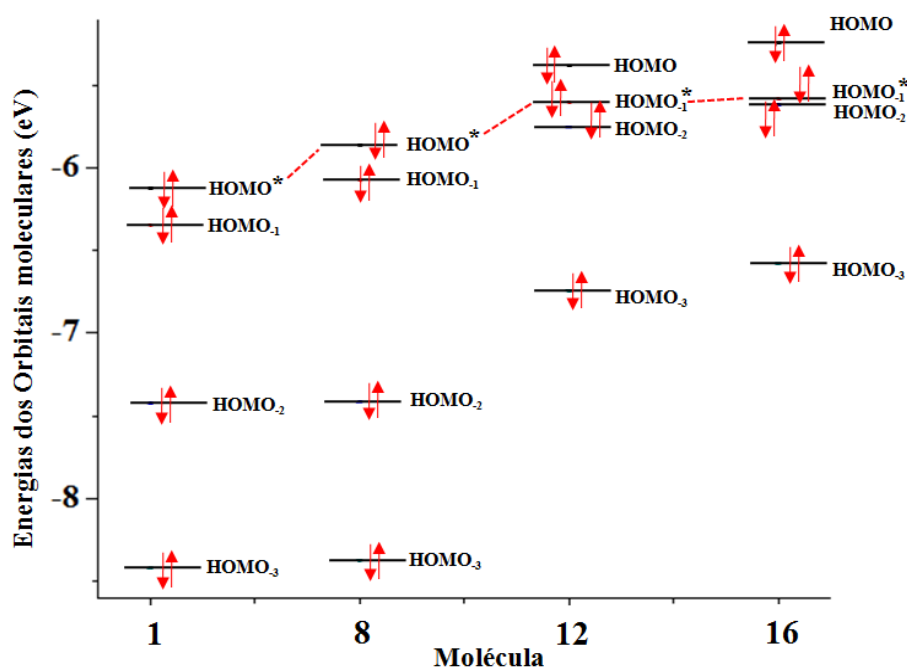


Figura 18. Diagrama dos níveis de energias dos orbitais moleculares para as moléculas 1, 8, 12, e 16 obtido pela metodologia DFT. As correlações entre os FERMOs são mostradas por linhas tracejadas unindo-os.

Os diagramas representados nas Figuras 15-17 completam a análise dos FERMOs com o diagrama de correlação das energias para as mesmas moléculas. Evidencia-se pela análise destes diagramas que as moléculas 12 e 16 (grupo II), com maiores afinidades ligantes, apresentam energia orbitais maiores em relação às moléculas 1 e 8 (grupo I). Comportamento este que se repetiu nas moléculas restantes do grupo I e II.

5.2 Relação entre orbitais moleculares e valores de pK_i

As energias orbitais obtidas com as metodologias AM1, HFR e DFT foram correlacionadas com os valores experimentais de pK_i pelo método de regressão linear. Os coeficientes R^2 e outros parâmetros estatísticos foram analisados e comparados. Os resultados estatísticos dos modelos de regressão são mostrados na Tabela 5.

Tabela 6. Parâmetros das regressões lineares entre os valores de pK_i e as energias dos orbitais moleculares calculados com três métodos de química quântica. Os gráficos das regressões lineares encontram-se nos apêndices I, II e III.

Metodologia	Orbital	R^2 ^(a)	erro pK_i	s^b	F^c	$F_{(1,26)}^d$
AM1	LUMO	0,476	0,667	0,816	23,57	
	HOMO	0,234	0,973	0,987	7,96	
	FERMO	0,622	0,481	0,693	42,72	
HF/6-31G(d,p)	LUMO	0,726	0,348	0,590	68,88	9,41
	HOMO	0,461	0,686	0,828	22,00	
	FERMO	0,843	0,200	0,447	139,47	
DFT/6-31G(d,p)	LUMO	0,727	0,347	0,589	69,18	
	HOMO	0,635	0,464	0,681	45,19	
	FERMO	0,864	0,172	0,415	165,80	

^a Quadrado do coeficiente de correlação. ^b Desvio-padrão. ^c F de Fisher do modelo de regressão. ^d F de Fisher de referência (nível de confiança 99,9%).

Avaliando a significância estatística dos modelos lineares foram comparados os valores dos F de Fisher das regressões em comparação ao valor de F do ponto crítico tabelado ($F_{(1,26)} = 9,41$, com nível de confiabilidade de 99,9%) [100]. Verificamos através dos dados contidos na Tabela 5, para a metodologia DFT, que as energias dos orbitais FERMOs estão melhor correlacionadas com os valores de pK_i devido ao valor do F obtido para este modelo de regressão ser de 165,80, superior ao valor tabelado, enquanto que para os outros modelos gerados pelas energias dos orbitais HOMO e LUMO foram menores, 45,19 e 69,18, respectivamente, do que o valor do ponto crítico. Além disso, a regressão obtida utilizando a energia ϵ_{FERMO} foi a que apresentou o desvio padrão mais baixo, 0,415, o menor erro de pK_i , 0,172, e os coeficientes de correlação ao quadrado (R^2) mais próximos do valor 1, 0,864, do que utilizando as energias dos outros tipos de orbitais, HOMO e LUMO. Os resultados gerados pela metodologia HFR foram equivalentes aos obtidos pelo método DFT, onde a energia do orbital FERMO mostra-se mais correlacionada com o valor de pK_i que os outros dois tipos orbitais. No entanto, os resultados obtidos para a regressão linear obtida entre pK_i e ϵ_{FERMO} com a metodologia AM1 alcançou, alcançou, um valor de F de Fisher aceitável e seus parâmetros estatísticos que medem a correlação entre pK_i e ϵ_{FERMO} foram melhores do que os parâmetros das duas regressões lineares entre pK_i com ϵ_{HOMO} e pK_i com ϵ_{LUMO} .

Pelo fato dos FERMOs serem mais correlacionados com os valores de afinidade ligante experimentais, resultados estes evidenciados mais acentuadamente pela análise dos dois métodos *ab initio*, somente os índices químico quânticos do tipo S' , η' , μ' , χ' , ω' e $\sum_{(FERMO)} c_i^2$ foram escolhidos para fazerem parte da seleção do conjunto de variáveis, provavelmente, responsáveis por influenciar os valores de pK_i .

5.3 Seleção estatística dos descritores moleculares

O conjunto de descritores pré-selecionados (ϵ_{FERMO} , S' , η' , μ' , χ' , ω' , e $\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2$), juntamente, com MD, α , β , V, e a carga N^1 foram analisados por métodos multivariados, PCA e HCA, sendo que os valores destes descritores foram autoescalados como forma de pré-processamento dos dados antes das análises por PCA e HCA. Este procedimento foi efetuado com a finalidade de remover informações errôneas geradas pelo efeito de escala proveniente dos valores numéricos dos descritores utilizados. Na HCA utilizou-se o método *Single Linkage* entre os agrupamentos e como métrica a distância euclidiana.

Após as avaliações feitas pelos dois métodos multivariados, obteve-se uma separação útil com os seguintes descritores para as três metodologias de química quântica aplicadas: ϵ_{FERMO} , carga N^1 , $\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2$ e ω' . Os resultados da análise de componentes principais mostraram que as somas das três primeiras componentes, PC1, PC2 e PC3 foram de 94,2 %, 98,3% e 98,0% para os métodos AM1, HFR e DFT, respectivamente, onde estes valores representam as variâncias dos dados explicados. Os gráficos dos escores para as duas primeiras componentes, para os diferentes métodos utilizados, são mostrados nas Figuras 19, 20 e 21; os gráficos de pesos são apresentados nas Figuras 22, 23 e 24; e, finalmente, os dendrogramas obtidos pelo método HCA estão representados nas Figuras 25, 26 e 27.

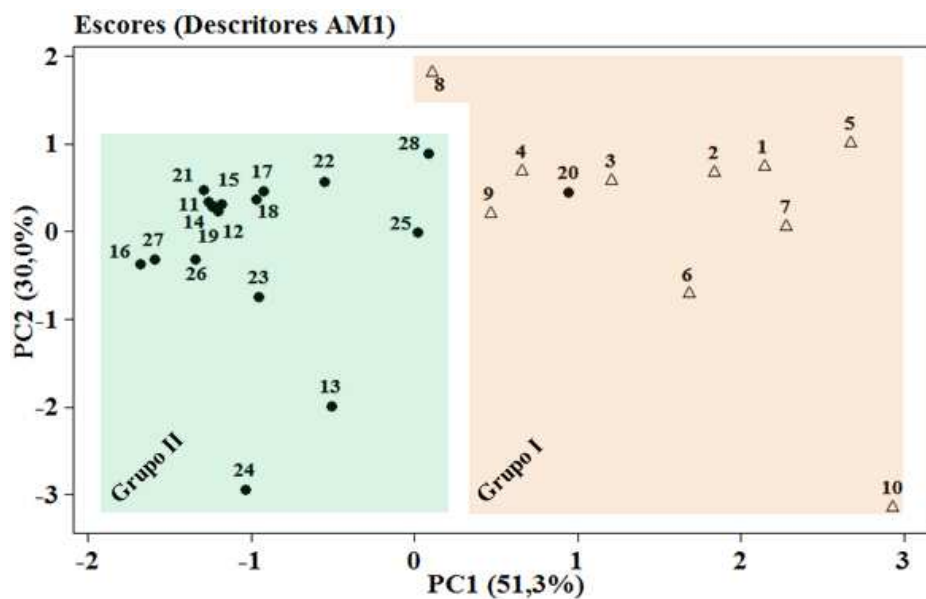


Figura 19. Gráfico dos escores gerado entre as componentes principais PC1 e PC2 para os 28 compostos com os descritores obtidos pelo método AM1. No lado esquerdo estão localizados, predominantemente, os compostos do grupo II e do lado direito os compostos do grupo I.

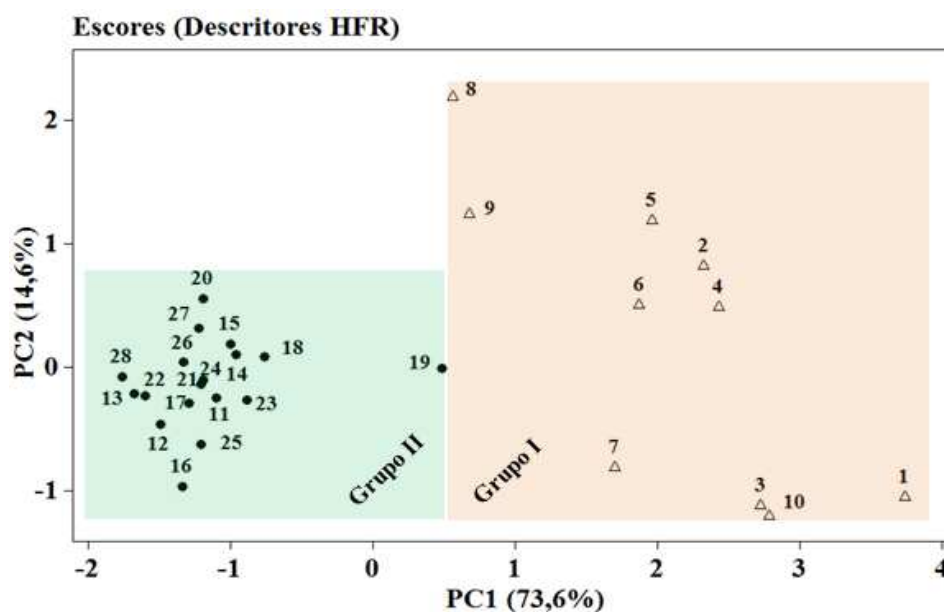


Figura 20. Gráfico dos escores entre as componentes principais PC1 e PC2 para os 28 compostos com os descritores obtidos pelo método HFR. No lado esquerdo estão localizados os compostos do grupo II e do lado direito os compostos do grupo I.

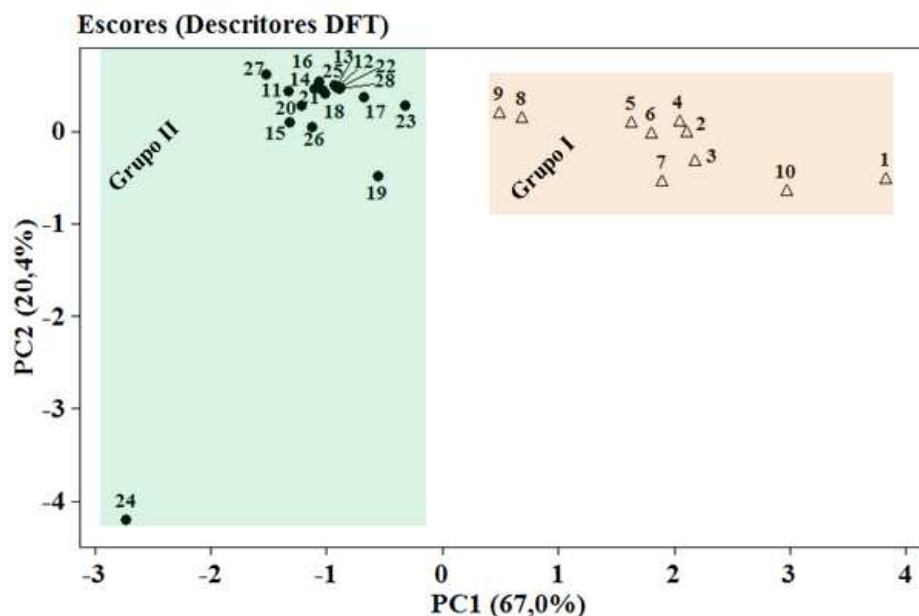


Figura 21. Gráfico dos escores entre as componentes principais PC1 e PC2 para os 28 compostos com os descritores obtidos pelo método DFT. No lado esquerdo estão localizados os compostos do grupo II e do lado direito os compostos do grupo I.

Ao avaliarmos os gráficos de escores, Figuras 19-21, mostra-se evidente que os compostos pertencentes a grupos diferentes são agrupados em lados distintos dos três gráficos, onde o grupo I, com menor afinidade ligante, localiza-se a direita e o grupo II do lado esquerdo em todos os gráficos das diferentes metodologias empregadas para gerar os descritores. Porém, o gráfico de escore gerado pelos descritores AM1, Figura 19, foi o que não conseguiu atingir uma separação completa dos compostos de acordo com suas afinidades ligantes, onde se observa claramente que o composto 20, pertencente ao grupo II, está localizado em uma região pertencente ao grupo I; e o mesmo ocorre com o composto 8, grupo I, que se localiza em uma região do gráfico pertencente ao grupo II.

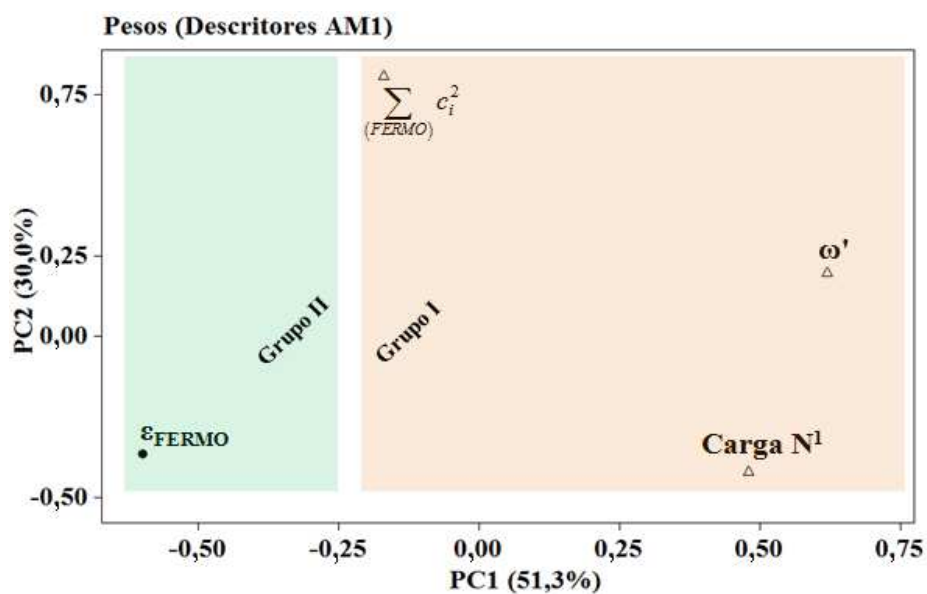


Figura 22. Gráfico dos pesos entre as componentes principais PC1 e PC2 utilizando os quatro descritores obtidos pelo método AM1.

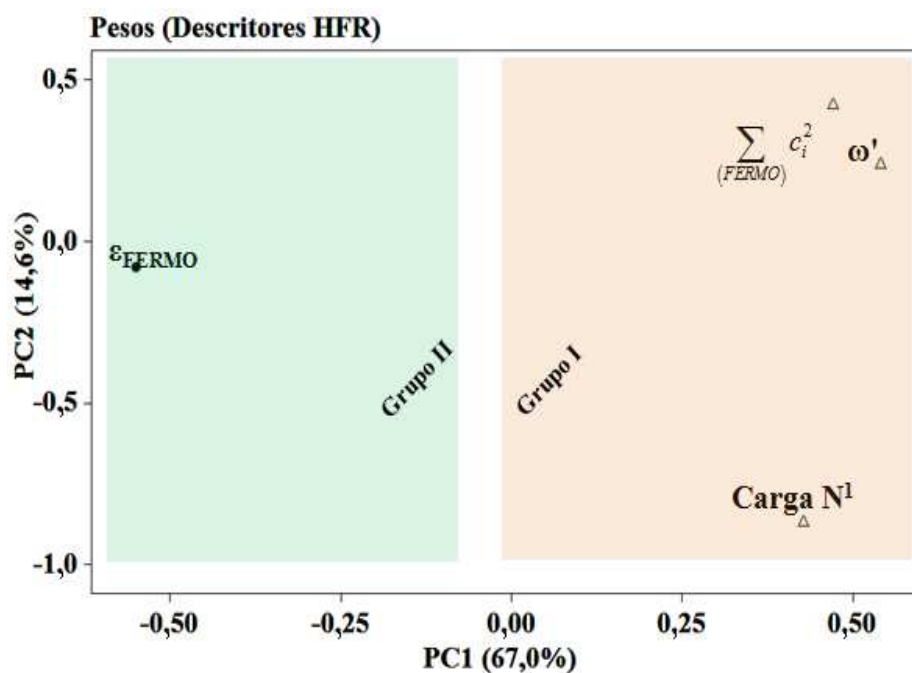


Figura 23. Gráfico dos pesos entre as componentes principais PC1 e PC2 utilizando os quatro descritores obtidos pelo método HFR.

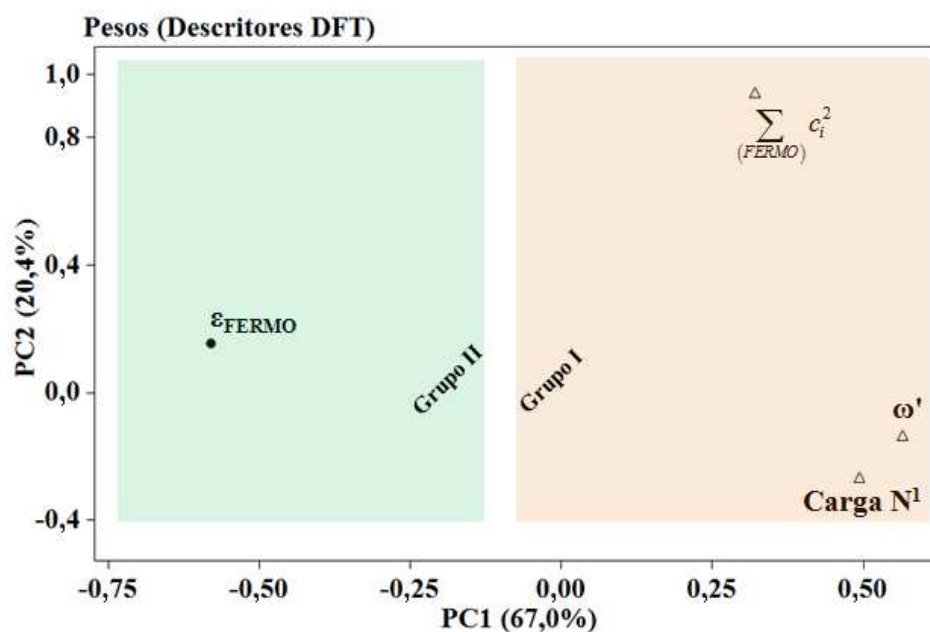


Figura 24. Gráfico dos pesos entre as componentes principais PC1 e PC2 utilizando os quatro descritores selecionados e obtidos pelo método DFT.

Complementando a análise dos escores, os gráficos dos pesos, Figura 22, 23 e 24, obtidos novamente em função dos descritores gerados pelos métodos AM1, HFR e DFT, respectivamente, mostram, sem exceção, que os compostos com maiores valores de pK_i , situados no lado esquerdo, apresentam maiores contribuições da propriedade ϵ_{FERMO} e os compostos com menores afinidades ligantes apresentam maiores contribuições dos descritores de carga do átomo N^1 , $\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2$ e ω' , pois se situam no lado direito, onde localizam-se os compostos de 1 à 10 nos três gráficos de escores representados, anteriormente, nas Figuras 19-21.

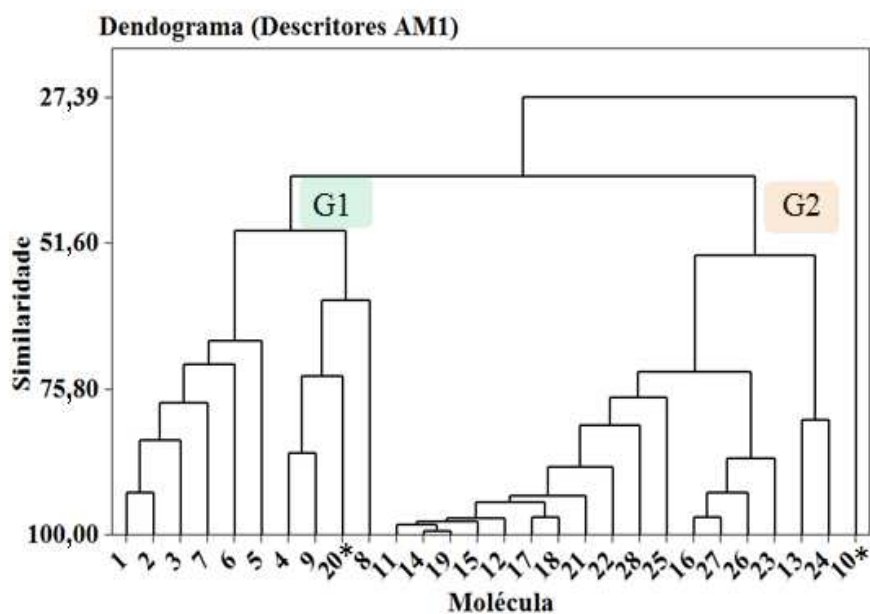


Figura 25. Dendrograma HCA gerado com descritores AM1 e apresentando 28 compostos divididos em dois agrupamentos denominados de G1 e G2. * indica os composto que não se localizaram em nenhum agrupamento (composto 10) ou que se localizava em um grupo de moléculas que não faz parte (composto 20).

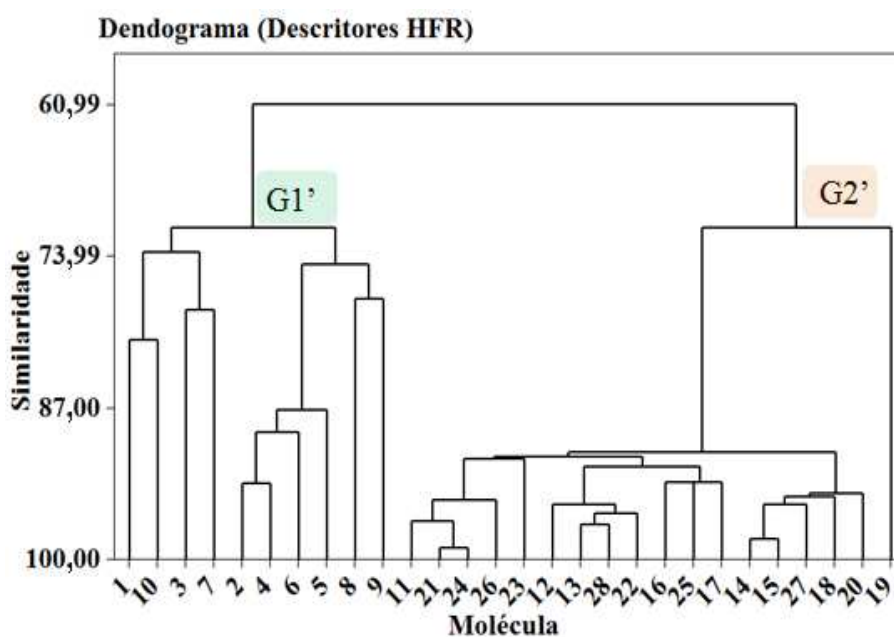


Figura 26. Dendrograma HCA gerado com descritores HFR e apresentando 28 compostos divididos em dois agrupamentos denominados de G1' e G2'.

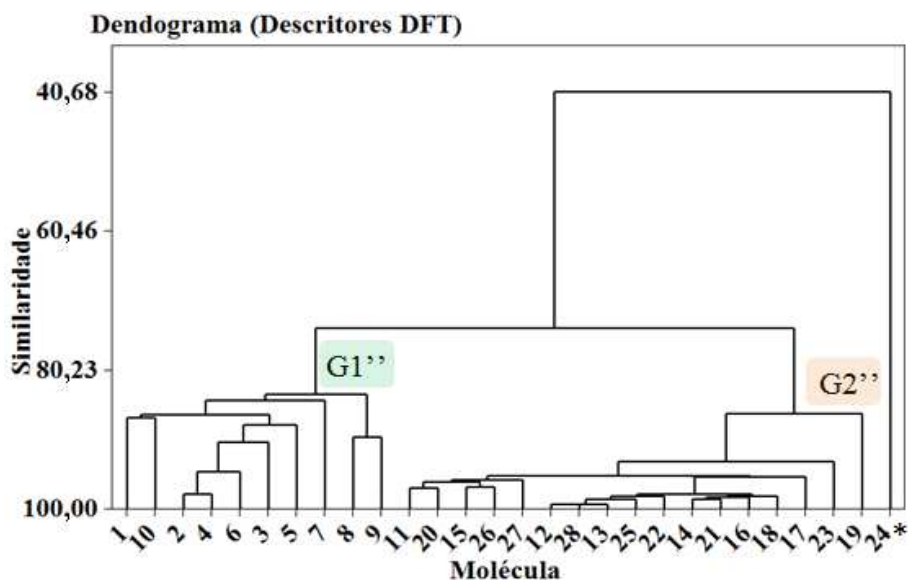


Figura 27. Dendrograma HCA gerado com descritores DFT e apresentando 28 compostos divididos em dois agrupamentos denominados de G1' e G2'. * indica o composto que não se localizou em nenhum agrupamento.

Ao avaliarmos os resultados obtidos pelo método HCA, mostrados nos dendrogramas das Figuras 25-27, construídos a partir das quatro propriedades selecionadas com diferentes metodologias, verificamos resultados similares aos obtidos pela metodologia PCA. Os compostos com menores valores de pK_i , grupo I, foram reunidos em agrupamentos denominados de G1, G1' e G1'' e os que possuem maiores valores de pK_i se aglomeraram em outros agrupamentos denominados de G2, G2' e G2'', com exceção de algumas moléculas que se localizaram em grupos que não pertenciam ou que não faziam parte de nenhum agrupamento. Estas moléculas são destacadas nos gráficos das Figuras 25-27 por um asterisco no lado direito.

Com o julgamento das informações contidas nos gráficos de escores, pesos e dos dendrogramas, sugerimos que é coerente propor que as quatro propriedades selecionadas são úteis na classificação dos compostos de acordo com seus valores de afinidade ligante e, além disso, podemos tentar verificar como os valores desses descritores devem se comportar de modo a obtermos compostos com maiores valores de pK_i .

5.4 Análise dos descritores selecionados

Comparando os valores das quatro propriedades selecionadas para o conjunto de moléculas em estudo, verificamos alguns padrões de comportamento de acordo com as afinidades ligantes. Na Tabela 7 e 8 são mostrados, aos pares, os descritores obtidos com diferentes metodologias de química quântica juntamente com os valores de pK_i dos 28 compostos e o grupo a que pertencem.

Tabela 7. Valores dos descritores selecionados ϵ_{FERMO} e ω' para o grupo de 28 compostos estudados obtidos pelos métodos AM1, HFR e DFT.

Grupos	Moléculas	pK_i	Descritores					
			Metodologias AM1		Metodologia HFR		Metodologia DFT	
			ϵ_{FERMO} (eV)	ω' (eV)	ϵ_{FERMO} (eV)	ω' (eV)	ϵ_{FERMO} (eV)	ω' (eV)
I	1	5,37	-9,420	1,290	-9,836	0,468	-6,123	1,219
	2	7,09	-9,387	1,283	-9,571	0,439	-5,917	1,187
	3	6,97	-9,295	1,271	-9,495	0,431	-5,868	1,181
	4	7,55	-9,283	1,266	-9,564	0,437	-5,911	1,183
	5	6,12	-9,549	1,326	-9,587	0,444	-5,928	1,197
	6	7,82	-9,310	1,271	-9,481	0,429	-5,856	1,175
	7	7,18	-9,360	1,280	-9,292	0,411	-5,723	1,162
	8	7,89	-9,357	1,278	-9,469	0,431	-5,857	1,182
	9	7,49	-9,257	1,262	-9,345	0,418	-5,753	1,168
	10	5,27	-9,313	1,269	-9,697	0,450	-5,999	1,193
II	11	8,52	-9,143	0,954	-9,144	0,257	-5,594	0,654
	12	8,91	-9,139	0,948	-9,181	0,275	-5,611	0,684
	13	8,83	-9,112	0,993	-9,182	0,274	-5,608	0,681
	14	8,71	-9,140	0,953	-9,135	0,258	-5,594	0,643
	15	9,20	-9,154	0,948	-9,137	0,258	-5,582	0,645
	16	8,77	-9,008	0,939	-9,139	0,257	-5,582	0,643
	17	8,67	-9,186	0,982	-9,177	0,274	-5,619	0,683
	18	8,85	-9,169	0,977	-9,187	0,253	-5,589	0,648
	19	9,00	-9,141	0,950	-9,290	0,257	-5,640	0,644
	20	8,84	-9,155	1,446	-9,139	0,259	-5,596	0,676
	21	8,79	-9,157	0,957	-9,145	0,257	-5,596	0,651
	22	8,26	-9,217	1,037	-9,160	0,276	-5,623	0,695
	23	8,65	-9,052	1,027	-9,153	0,295	-5,616	0,803
	24	9,13	-9,016	0,949	-9,150	0,260	-5,579	0,657
	25	8,70	-9,183	1,082	-9,169	0,267	-5,597	0,684
	26	8,70	-9,017	1,008	-9,156	0,262	-5,589	0,680
	27	9,00	-9,027	0,947	-9,112	0,247	-5,554	0,621
	28	8,94	-9,286	1,133	-9,177	0,273	-5,610	0,685

De acordo com os valores das energias ϵ_{FERMO} , apresentados na Tabela 7, verificamos que os compostos com maiores afinidades, pertencentes ao grupo II, apresentam valores das energias superiores aos compostos do grupo I, onde podemos discriminar que para os métodos AM1, HFR e DFT estes valores foram maiores que -9,217 eV, -9,290 eV e 5,640 eV, respectivamente, com exceção para o composto 28 na metodologia AM1 que apresentou um valor de ϵ_{FERMO} de -9,286 eV. Com o comportamento inverso, os compostos com menores valores de pK_i , constituintes do grupo I, possuem valores menores e inferiores a -9,257 eV, -9,292 eV e -5,723 eV para as metodologias AM1, HFR e DFT, respectivamente. Somando essas informações com a dos orbitais FERMOs serem orbitais ocupados, e o caráter doador de elétrons está relacionado com o aumento da energia desse tipo de orbital, sugerimos por essa análise que as moléculas com caráter nucleofílico no átomo de nitrogênio, N^1 , acentuado tenderão a possuir maiores afinidades ligantes do que as não possuidoras dessa característica.

Os valores dos índices de eletrofilicidade, contidos também na Tabela 7, mostraram-se bem distintos para os dois grupos. Observou-se que os compostos 11-28 apresentaram menores valores, todos variando nos três intervalos de 0,939 eV à 1,133 eV, 0,247 à 0,295 eV e 0,621 à 0,803, para as três metodologias AM1, HFR e DFT, respectivamente, com exceção desse comportamento para a molécula 20 no método AM1 com valor de ω' de 1,446 eV. Em sentido oposto, o grupo I apresentou maiores valores de eletrofilicidades, todos nos intervalos de 1,262 eV à 1,326 eV, 0,411 eV à 0,468 eV e 1,162 eV à 1,219 eV para as três metodologias distintas AM1, HFR e DFT, respectivamente. Estes resultados nos indicam que quanto menor a tendência de atrair elétrons para si dos compostos estudados, maior será a afinidade ligante ao receptor H_3 . Este resultado vem reforçar a análise feita através das energias dos FERMOs.

Tabela 8. Valores dos descritores selecionados carga N^1 e densidade de carga no átomo N^1 no orbital FERMO para o grupo de 28 compostos obtidos pelos métodos AM1, HFR e DFT.

Grupos	Moléculas	pK _i	Descritores					
			Metodologias AM1		Metodologia HFR		Metodologia DFT	
			Carga N ¹ (u.a)	$\sum_{(FERMO)} c_i^2$	Carga N ¹ (u.a)	$\sum_{(FERMO)} c_i^2$	Carga N ¹ (u.a)	$\sum_{(FERMO)} c_i^2$
I	1	5,37	-0,165	0,617	-0,512	0,508	-0,460	0,536
	2	7,09	-0,191	0,606	-0,635	0,526	-0,556	0,527
	3	6,97	-0,220	0,609	-0,514	0,516	-0,519	0,517
	4	7,55	-0,314	0,574	-0,613	0,525	-0,563	0,531
	5	6,12	-0,208	0,582	-0,671	0,516	-0,612	0,519
	6	7,82	-0,194	0,485	-0,629	0,516	-0,559	0,522
	7	7,18	-0,095	0,601	-0,551	0,511	-0,479	0,508
	8	7,89	-0,468	0,587	-0,768	0,499	-0,674	0,502
	9	7,49	-0,346	0,515	-0,702	0,503	-0,651	0,505
	10	5,27	-0,040	0,315	-0,530	0,490	-0,485	0,516
II	11	8,52	-0,319	0,613	-0,665	0,478	-0,654	0,494
	12	8,91	-0,301	0,614	-0,678	0,451	-0,626	0,505
	13	8,83	-0,264	0,406	-0,698	0,449	-0,630	0,505
	14	8,71	-0,312	0,614	-0,675	0,490	-0,631	0,501
	15	9,20	-0,309	0,614	-0,681	0,490	-0,635	0,480
	16	8,77	-0,283	0,599	-0,640	0,457	-0,625	0,506
	17	8,67	-0,312	0,614	-0,677	0,462	-0,605	0,505
	18	8,85	-0,303	0,614	-0,670	0,493	-0,619	0,501
	19	9,00	-0,310	0,614	-0,621	0,525	-0,564	0,470
	20	8,84	-0,285	0,577	-0,708	0,489	-0,644	0,489
	21	8,79	-0,336	0,614	-0,675	0,476	-0,626	0,502
	22	8,26	-0,307	0,613	-0,692	0,453	-0,633	0,503
	23	8,65	-0,268	0,545	-0,661	0,474	-0,595	0,506
	24	9,13	-0,278	0,333	-0,677	0,476	-0,631	0,255
	25	8,70	-0,216	0,605	-0,655	0,462	-0,623	0,505
	26	8,70	-0,278	0,595	-0,691	0,472	-0,625	0,481
	27	9,00	-0,289	0,594	-0,693	0,490	-0,655	0,500
	28	8,94	-0,315	0,610	-0,708	0,449	-0,628	0,504

Avaliando o comportamento dos valores das densidades eletrônicas ($\sum_{(FERMO)} c_i^2$) na Tabela 8, verifica-se que as diferenças entre os valores dos grupos de compostos I e II, para uma mesma metodologia, são bem discretas. Seguindo o mesmo perfil, os valores das cargas N^1 apresentaram, em geral, diferenças sutis entre os dois grupos de moléculas. Tendo em vista estes dois fatores, julgamos que a melhor discussão entre os valores desses dois descritores e as afinidades possa ser entendida de maneira mais clara pelas equações de regressão PLS discutidas na seção 5.5, as quais relacionam os quatro descritores selecionados e os valores de pK_i.

5.5 Modelos quantitativos de afinidade ligante

Através da metodologia PLS obtivemos os modelos de regressão representados nas Equações 30, 31 e 32, que relacionam os quatro descritores selecionados anteriormente com os valores de pK_i , sendo que cada equação foi obtida **com** os descritores de metodologias de química quântica diferentes e discriminadas em cada uma das equações. A representatividade estatística das regressões foi julgada pelos seus parâmetros R^2 (Quadrado do coeficiente de correlação da predição), Q^2 (Quadrado do coeficiente de correlação da validação), SEP (Erro padrão da validação) e F (F do Teste de Fisher), mostrados na Tabela 9, juntamente com a comparação dos valores das diferenças entre afinidades experimentais e as calculadas teoricamente pelas equações PLS (ver Tabela 10). Além dos parâmetros de validação estatística e da análise de resíduos, ressaltamos que foram aplicados os procedimentos de validação interna, *leave-one-out cross-validation*, e validação externa com cinco compostos indicados na Tabela 10.

Foram selecionados somente cinco compostos por este número corresponder a 18 por cento do total dos compostos utilizados, consideramos que mais do que isto poderia acarretar em uma perda de informações na construção dos modelos de regressão que poderia acarretar em modelos pouco representativos. Os cinco compostos selecionados para validação externa foram escolhidos tendo como finalidade, também, cobrir uma faixa de afinidade ligante (pK_i) entre 6 até um valor próximo a 9. Os únicos dois compostos com valores de pK_i em na faixa de 5 não foram selecionados por julgarmos estes importantes para construção dos modelos de regressão, pois possuíam os menores valores de afinidade e sua quantidade era pouca.

$$pK_{i(\text{Calc. AM1})} = 4,673(\varepsilon_{\text{FERMO}}) - 1,704(\omega') - 6,106(C \arg a N^1) + 0,696\left(\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2\right) + 50,289 \quad (30)$$

$$pK_{i(\text{Calc. HFR})} = 2,565(\varepsilon_{\text{FERMO}}) - 5,867(\omega') - 4,510(C \arg a N^1) + 9,016\left(\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2\right) + 26,571 \quad (31)$$

$$pK_{i(\text{Calc. DFT})} = 2,667(\varepsilon_{\text{FERMO}}) - 1,428(\omega') - 6,320(C \arg a N^1) - 0,826\left(\sum_{(\text{FERMO})} c_i^2\right) + 21,186 \quad (32)$$

Tabela 9. Parâmetros estatísticos das equações de regressão PLS 30, 31 e 32

Parâmetros Estatísticos das equações	Metodologia (equação utilizada)		
	AM1 (30)	HF (31)	DFT (32)
R ²	0,776	0,927	0,899
Q ²	0,507	0,880	0,822
SEP	0,579	0,141	0,458
F	21,94	80,11	89,11
Número de PC	3	3	2

Tabela 10. Afinidades ligantes experimentais e calculadas pelos modelos de regressão PLS deste trabalho juntamente com a diferença entre os valores experimentais e calculados.

Compostos	pK_i Exp. ^a	pK_i (Calc. AM1) ^b	pK_i (Calc. HF) ^c	pK_i (Calc. DFT) ^d	Δ (Exp - AM1) ^e	Δ (Exp - HF) ^f	Δ (Exp - DFT) ^g
1	5,37	6,32	5,49	5,58	-0,95	-0,12	-0,21
2	7,09	6,63	7,05	6,79	0,46	0,04	0,30
3	6,97	7,26	6,65	6,70	-0,29	0,32	0,27
4*	7,55	7,07	6,97	6,85	0,48	0,58	0,70
5*	6,12	5,08	7,05	7,11	1,04	-0,93	-0,99
6	7,82	6,94	7,22	6,99	0,88	0,60	0,83
7*	7,18	5,37	7,42	6,87	1,81	-0,24	0,31
8	7,89	8,46	7,72	7,72	-0,57	0,17	0,17
9	7,49	8,14	7,85	7,87	-0,65	-0,36	-0,38
10	5,27	5,87	5,86	6,12	-0,60	-0,59	-0,85
11*	8,52	8,31	8,92	9,06	0,21	-0,40	-0,54
12	8,91	8,83	8,53	8,78	0,08	0,38	0,13
13	8,83	8,54	8,60	8,82	0,29	0,23	0,01
14	8,71	8,88	9,09	8,92	-0,17	-0,38	-0,21
15	9,20	8,81	9,11	8,99	0,39	0,09	0,21
16	8,77	9,33	8,62	8,91	-0,56	0,15	-0,14
17	8,67	8,64	8,64	8,63	0,03	0,03	0,04
18	8,85	8,67	8,98	8,85	0,18	-0,13	0,00
19	9,00	8,87	8,76	8,40	0,13	0,24	0,60
20	8,84	8,10	9,21	8,96	0,74	-0,37	-0,12
21*	8,79	8,35	8,94	8,87	0,44	-0,15	-0,08
22	8,26	8,40	8,66	8,78	-0,14	-0,40	-0,52
23	8,65	8,90	8,62	8,40	-0,25	0,03	0,25
24	9,13	9,06	8,92	9,15	0,07	0,21	-0,02
25	8,70	7,95	8,60	8,80	0,75	0,10	-0,10
26	8,70	9,18	8,92	8,86	-0,48	-0,22	-0,16
27	9,00	9,27	9,29	9,21	-0,27	-0,29	-0,21
28	8,94	8,02	8,67	8,80	0,92	0,27	0,14

^a pK_i experimental. ^b pK_i calculado pela equação (30). ^c pK_i calculado pela equação (31). ^d pK_i calculado pela equação (32). ^e Diferença entre os valores experimentais de pK_i e os calculados pela equação (30). ^f Diferença entre os valores experimentais de pK_i e os calculados pela equação (31). ^g Diferença entre os valores experimentais de pK_i e os calculados pela equação (32). *Conjunto de moléculas escolhidas para validação externa.

Analisando os valores de R^2 e Q^2 , mostrados na Tabela 9, podemos notar que a equação 31 é capaz de explicar 92,7% da variância dos valores de pK_i e de predizer 88,0% da variância dos mesmos. Além disso, ela possui um erro padrão de validação bem próximo a zero, 0,141, um valor para o F de Fisher adequado de 80,11, que são parâmetros superiores em qualidades aos outros parâmetros obtidos com as equações 30 e 32. Além destes resultados, as diferenças entre os valores de pK_i experimentais e os calculados contidos na Tabela 10 foram pequenas, onde somente em dois casos, nas moléculas 5 e 6, os desvios foram -0,93 e 0,60, respectivamente. Em todos os outros compostos a diferença foi inferior a 0,6 e, de forma geral, estes resultados foram menores do que os obtidos pelas equações 30 e 32. A representação gráfica entre os valores de afinidade ligantes calculadas pelas três equações e os valores experimentais de pK_i são representados nos três gráficos (a), (b) e (c), contidos na Figura 28. Nesta Figura podemos verificar que a correlação entre os valores de pK_i calculados pela Equação 31 ($pK_{i(\text{Calc. HFR})}$) e os valores de pK_i experimentais ($pK_{i(\text{Exp.})}$) do gráfico (b) estão se comportando com uma característica, sutilmente, mais linear do que as correlações dos outros valores de afinidade ligantes calculados pelas equações 30 e 32, as quais estão apresentadas nos gráficos (a) e (c) da mesma Figura 28.

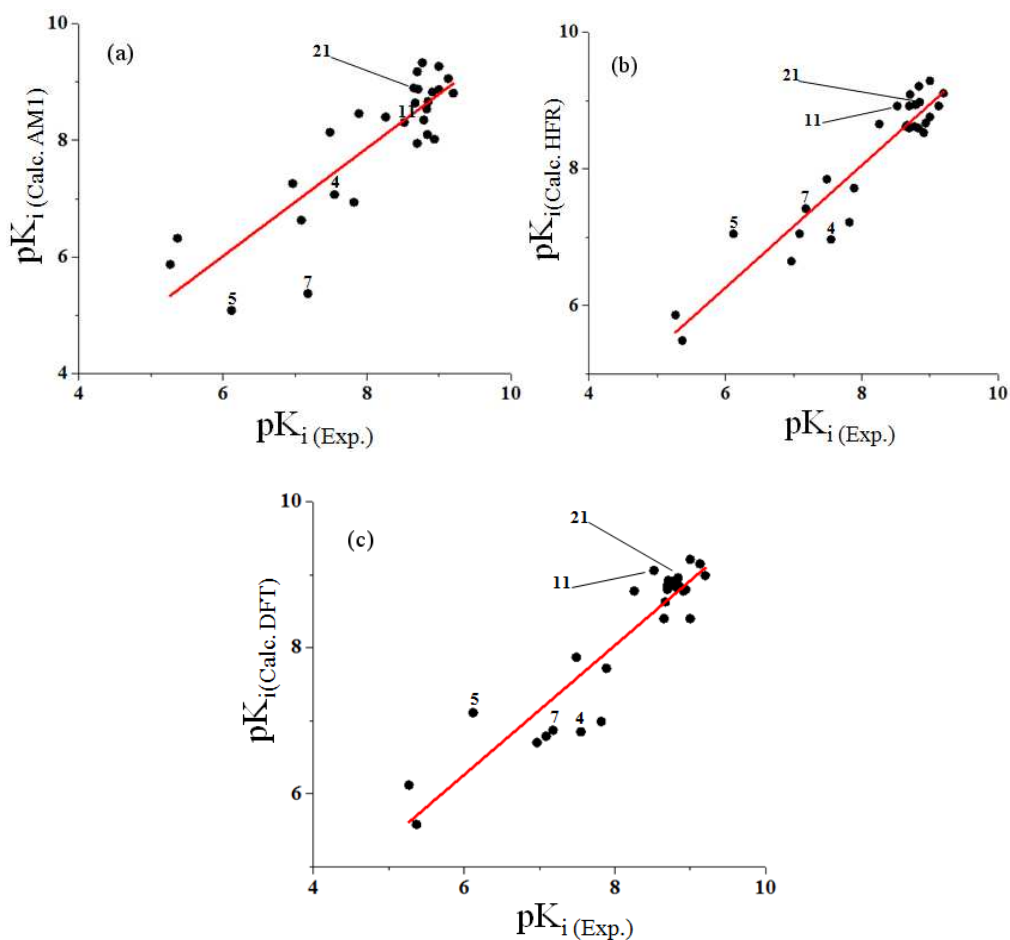


Figura 28. Gráficos de correlação entre os valores de pK_i calculados pelas equações 30, 31 e 32 e os valores experimentais de afinidade ligantes. (a) Representa o gráfico de correlação entre os pK_i calculados pela equação 30 e pK_i experimentais, (b) representa o gráfico de correlação entre os pK_i calculados pela equação 31 e pK_i experimentais e (c) representa o gráfico de correlação entre os pK_i calculados pela equação 32 e pK_i experimentais. A numeração em cima de alguns pontos indica as moléculas utilizadas na validação externa do modelo de regressão PLS.

Todas as informações dos parâmetros estatísticos, das análises das diferenças entre os valores calculados e experimentais de afinidade ligante, em conjunto com a avaliação dos gráficos da Figura 28, nos possibilitam sugerir que a Equação 31 possui potencialidade e representatividade estatística para ser utilizada como um modelo de regressão adequado a interpretar a dependência entre a afinidade ligante e os descritores teóricos. Por estes motivos descartamos o uso das equações 30 e 32.

Interpretando os valores dos coeficientes padrões de regressão da equação 31, verificamos que o coeficiente da energia do orbital FERMO assume um valor positivo, indicando que quanto maior for a energia desse orbital molecular maior será a afinidade ligante. Também podemos reafirmar o que foi evidenciado pela análise feita na Tabela 7, seção 5.4, em relação às energias dos FERMOs.

O coeficiente de regressão para a eletrofilicidade apresentou um valor negativo. Este fator nos leva a propor que moléculas com menor afinidade a elétrons serão mais propícias a apresentarem maiores valores de pK_i . Além disso, essa informação vem a sustentar, também, a idéia sugerida pela interpretação dos dados de ω' presentes na Tabela 7, seção 5.4.

A carga do átomo de nitrogênio N^1 apresentou seu coeficiente negativo na equação PLS. Este dado nos leva a concluir que quanto mais negativa for a carga neste átomo mais favorável será para o composto a possuir maior afinidade ligante.

O valor positivo para o coeficiente da propriedade $\sum_{(FERMO)} c_i^2$ na equação de regressão nos possibilita sugerir que quanto maior a densidade eletrônica no átomo de N^1 para a formação do orbital molecular FERMO, maior será a afinidade ligante.

5.6 Análise dos descritores AE, EI e AP

Foram verificados três descritores relacionados ao caráter nucleofílico e eletrofílico dos compostos e que podem apoiar ainda mais as interpretações sugeridas pelas análises da Tabela 7 na seção 5.4 e da equação, 31, de regressão PLS. Os valores dos descritores AE, EI e AP para o grupo de 28 compostos são mostrados na Tabela 11 e todos foram calculados através metodologia HFR.

Tabela 11. Afinidade eletrônica (AE), energia de ionização de primeira ordem (EI) e afinidade por próton H^+ no átomo de nitrogênio N^1 (AP) dos 28 compostos com afinidades ligantes ao receptor H_3 .

Moléculas	pK_i^a	E_{Neutro}^b	E_{Anion}^c	$E_{\text{Cátion}}^d$	$E_{\text{Protonado}}^e$	AE (eV)	EI (eV)	AP (eV)
1	5,37	-685,379	-685,311	-685,101	-685,760	-1,832	7,555	10,369
2	7,09	-724,415	-724,347	-724,138	-724,799	-1,843	7,531	10,456
3	6,97	-763,453	-763,385	-763,176	-763,838	-1,843	7,525	10,492
4	7,55	-763,452	-763,384	-763,176	-763,840	-1,845	7,521	10,546
5	6,12	-838,303	-838,236	-838,026	-838,688	-1,818	7,545	10,475
6	7,82	-802,488	-802,420	-802,212	-802,877	-1,846	7,514	10,584
7	7,18	-802,486	-802,418	-802,218	-802,871	-1,845	7,292	10,483
8	7,89	-840,352	-840,285	-840,076	-840,744	-1,825	7,531	10,654
9	7,49	-879,395	-879,328	-879,119	-879,788	-1,827	7,521	10,699
10	5,27	-914,930	-914,862	-914,654	-915,318	-1,845	7,512	10,552
11	8,52	-843,832	-843,730	-843,569	-844,233	-2,765	7,157	10,914
12	8,91	-921,903	-921,806	-921,685	-922,303	-2,636	5,946	10,881
13	8,83	-960,942	-960,854	-960,723	-961,342	-2,378	5,945	10,883
14	8,71	-920,743	-920,643	-920,513	-921,145	-2,743	6,271	10,923
15	9,20	-959,788	-959,688	-959,571	-960,189	-2,723	5,906	10,921
16	8,77	-998,810	-998,710	-998,593	-999,211	-2,709	5,902	10,926
17	8,67	-995,548	-995,451	-995,305	-995,944	-2,638	6,617	10,777
18	8,85	-1034,645	-1034,545	-1034,428	-1035,046	-2,709	5,912	10,914
19	9,00	-1073,682	-1073,581	-1073,469	-1074,080	-2,746	5,789	10,828
20	8,84	-1228,375	-1228,268	-1228,162	-1228,776	-2,909	5,783	10,922
21	8,79	-881,674	-881,572	-881,463	-882,075	-2,762	5,737	10,914
22	8,26	-995,323	-995,226	-995,125	-995,724	-2,638	5,391	10,905
23	8,65	-1011,327	-1011,241	-1011,114	-1011,729	-2,346	5,794	10,937
24	9,13	-1014,801	-1014,701	-1014,575	-1015,202	-2,723	6,131	10,912
25	8,70	-1205,317	-1205,219	-1205,118	-1205,717	-2,658	5,398	10,899
26	8,70	-1244,355	-1244,250	-1244,115	-1244,756	-2,856	6,529	10,910
27	9,00	-1014,793	-1014,690	-1014,586	-1015,196	-2,798	5,630	10,948
28	8,94	-1015,948	-1015,861	-1015,730	-1016,348	-2,369	5,939	10,888

^a Valores das afinidades ligantes experimentais, ^b energias das espécies neutras em u.a., ^c energias das espécies com carga 1- em u.a., ^d energias das espécies com carga 1+ em u.a., ^e energias das espécies protonadas no átomo de nitrogênio N^1 em u.a.

Analisando os valores de AE, EI e AP apresentados na Tabela 11, podemos verificar que as moléculas com menores afinidades ligantes, 1-10, apresentam maiores valores de afinidades eletrônicas ($-1,845 \text{ eV} < \mathbf{AE} < -1,818 \text{ eV}$), maiores energias de ionização ($7,292 \text{ eV} < \mathbf{EI} < 7,555 \text{ eV}$) e menores afinidades por próton H^+ ($10,369 \text{ eV} < \mathbf{AP} < 10,699 \text{ eV}$). Em sentido inverso, moléculas com maiores afinidades ligantes ao receptor H_3 , 11-28, apresentam menores valores de AE, entre $-2,909 \text{ eV}$ e $-2,346 \text{ eV}$, menores valores de EI, entre $5,391 \text{ eV}$ e $7,157 \text{ eV}$, e maiores valores de afinidades por prótons H^+ , entre $10,777 \text{ eV}$ e $10,948 \text{ eV}$. A partir destes resultados, verificamos que o caráter nucleofílico é predominante no grupo de compostos com maiores afinidades ligantes.

5.7 Análise dos descritores de reatividade χ' , η' , S' , μ' e β

Os descritores de reatividade eletronegatividade de Mulliken (χ'), dureza (η'), moleza S' , potencial químico eletrônico (μ') e hiperpolarizabilidade de segunda ordem (β) foram avaliados pelo mesmo motivo que foram analisados os descritores AE, EI e AP na seção 5.6, avaliar a relação entre o caráter nucleofílico e eletrofílico dos compostos estudados e os valores de afinidade ligante. Os valores dos cinco descritores de reatividade para o grupo de 28 compostos são mostrados na Tabela 12 e todos foram calculados pela metodologia HFR.

Tabela 12. Valores dos descritores de reatividade dos 28 compostos com afinidades ligantes ao receptor H₃.

Moléculas	pK _i ^a	χ' (eV)	η' (eV)	S ² (eV ⁻¹)	μ' (eV)	β (10 ⁻³⁰ cm ⁵ esu ⁻¹)
1	5,37	3,455	6,382	0,078	-3,455	80,03
2	7,09	3,315	6,257	0,080	-3,315	69,81
3	6,97	3,275	6,220	0,080	-3,275	71,09
4	7,55	3,309	6,256	0,080	-3,309	64,47
5	6,12	3,333	6,255	0,080	-3,333	76,39
6	7,82	3,265	6,216	0,080	-3,265	69,94
7	7,18	3,171	6,121	0,082	-3,171	74,22
8	7,89	3,269	6,200	0,081	-3,269	89,72
9	7,49	3,205	6,141	0,081	-3,205	96,63
10	5,27	3,373	6,324	0,079	-3,373	60,80
11	8,52	2,596	6,549	0,076	-2,596	22,38
12	8,91	2,677	6,505	0,077	-2,677	18,50
13	8,83	2,670	6,513	0,077	-2,670	14,26
14	8,71	2,598	6,538	0,076	-2,598	22,53
15	9,20	2,598	6,540	0,076	-2,598	24,49
16	8,77	2,596	6,543	0,076	-2,596	30,58
17	8,67	2,672	6,505	0,077	-2,672	18,64
18	8,85	2,585	6,602	0,076	-2,585	46,56
19	9,00	2,620	6,670	0,075	-2,620	39,77
20	8,84	2,603	6,537	0,076	-2,603	18,06
21	8,79	2,596	6,549	0,076	-2,596	36,82
22	8,26	2,674	6,486	0,077	-2,674	46,66
23	8,65	2,748	6,405	0,078	-2,748	36,46
24	9,13	2,607	6,544	0,076	-2,607	26,82
25	8,70	2,639	6,530	0,077	-2,639	50,91
26	8,70	2,617	6,540	0,076	-2,617	22,13
27	9,00	2,549	6,564	0,076	-2,549	30,47
28	8,94	2,665	6,513	0,077	-2,665	16,75

Verifica-se na Tabela 12 que os compostos de 1-10 apresentam maiores valores das seguintes propriedades em relação aos compostos de 11-28: (a) eletronegatividades, entre 3,171 eV e 3,455 eV; (b) moleza, entre 0,078 eV⁻¹ e 0,082 eV⁻¹; (c) polarizabilidade de segunda ordem, entre 60,80x10⁻³⁰ cm⁵ esu⁻¹ e 96,63x10⁻³⁰ cm⁵ esu⁻¹. Para todos os compostos de 11-28 as suas propriedades mencionadas anteriormente foram inferiores a estes intervalos, respectivamente. Além disso, os compostos de 1-10 apresentam menores valores de potencial químico, propriedade que mede a facilidade em perder elétrons de um composto, em torno de -3,2 eV, e o grupo II apresentou valores na escala de 2,5 eV. Por fim, os compostos do grupo I se mostraram mais duros, η' variando de 6,121 eV à 6,382 eV, enquanto que o grupo II

apresentou valores superiores, no intervalo de 6,405 eV à 6,670 eV. Tendo em vista estas análises, verificamos novamente, porém agora com os descritores de reatividade, que os compostos que apresentam maior afinidade ligante tendem a possuir maior caráter nucleofílico.

6 CONCLUSÕES

Após a análise das regressões lineares simples, utilizando três metodologias diferentes de química quântica, verificou-se que os orbitais moleculares efetivos para a reação são mais adequados a representar a correlação com os valores de pK_i do que os orbitais de fronteira HOMO e LUMO, para a classe de compostos estudados neste trabalho. Além disso, este resultado sugere que as energias dos FERMOs são parâmetros relevantes a serem considerados em futuros estudos quantitativos de estrutura atividade de compostos com estruturas químicas semelhantes aos apresentados nesta tese.

Considerando os fatores de estrutura química e químico-quânticos, sugerimos que novas moléculas possam apresentar valores de afinidade ligantes superiores às estudadas por Dvorak e colaboradores se possuírem as seguintes características: estrutura química similar às moléculas do grupo II, cargas extremamente negativas no átomo de nitrogênio N^1 , altos valores de ϵ_{FERMO} , baixos valores de ω' e altos valores de $\sum_{(FERMO)} c_i^2$.

Verificamos que quatro propriedades eletrônicas ϵ_{FERMO} , carga N^1 , ω' e $\sum_{(FERMO)} c_i^2$ apresentam, em conjunto, capacidades de classificar os 28 compostos estudados segundo seus valores de afinidades ligantes e prever com confiabilidade esses valores pela equação de regressão 31.

Verificou que a utilização das três metodologias diferentes de química quântica, AM1, HFR e DFT, para gerar os descritores eletrônicos resultou na escolha dos mesmos descritores que estão correlacionados com as afinidades ligantes ao receptor H_3 , após análise pelas metodologias PCA e HCA.

Observamos que o método HFR proporcionou melhores descritores químico-quânticos para a construção do modelo de regressão PLS do que utilizando os descritores originários das metodologias AM1 e DFT. No entanto, os métodos HFR e DFT se mostraram adequados a gerar descritores para classificação qualitativa, por métodos multivariados, entre compostos com maiores e menores afinidades ligantes pelo receptor H₃.

A partir da avaliação dos valores dos descritores eletrônicos ϵ_{FERMO} , ω' , AE, EI, AP, χ' , η' , S'' , μ' e β em conjunto com a análise da equação de regressão 31, sugerimos que esses compostos possam ser considerados como elétrons doadores e que há uma grande probabilidade que eles interajam com o receptor histamínico H₃ a partir de um processo de transferência de carga.

7 REFERÊNCIAS

- [1] ARRANG, J. M.; GARBARG, M.S; CHWARTZ, J. C. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H₃) of histamine receptor. **Nature**, v. 302, n. 5911, p. 832-837, 1983.
- [2] LOVENBERG, T. W.; ROLAND, B. L.; WILSON, S. J.; JIANG, X. X.; PYATI, J.; HUVAR, A.; JACKSON, M. R.; ERLANDER, M. G. Cloning and functional expression of the human histamine H₃ receptor. **Molecular Pharmacology**, v. 55, n. 6, p. 1101-1107, 1999.
- [3] LEURS, R.; BAKKER, R. A.; TIMMERMAN, H.; DE ESCH, I. J. P. The histamine H-3 receptor: From gene cloning to H₃ receptor drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 2, p. 107-120, 2005.
- [4] HANCOCK, A. A.; ESBENSHADE, T. A.; KRUEGER, K. M.; YAO, B. B. Genetic and pharmacological aspects of histamine H₃ receptor heterogeneity. **Life Sciences**, v. 73, n. 24, p. 3043-3072, 2003.
- [5] DRUTEL, G.; PEITSARO, N.; KARLSTEDT, K.; WIELAND, K.; SMIT, M. J.; TIMMERMAN, H.; PANULA, P.; LEURS, R. Identification of rat H₃ receptor isoforms with different brain expression and signaling properties. **Molecular Pharmacology**, v. 59, n. 1, p. 1-8, 2001.
- [6] GIOVANNINI, M. G.; EFOUDEBE, M.; PASSANI, M. B.; BALDI, E.; BUCHERELLI, C.; GIACHI, F.; CORRADETTI, R.; BLANDINA, P. Improvement in fear memory by histamine-elicited ERK2 activation in hippocampal CA3 cells. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 27, p. 9016-9023, 2003.
- [7] SILVER, R. B.; MACKINS, C. J.; SMITH, N. C.; KORITCHNEVA, I. L.; LEFKOWITZ, K.; LOVENBERG, T. W.; LEVI, R. Coupling of histamine H₃ receptors to neuronal Na⁺/H⁺ exchange: a novel protective mechanism in myocardial ischemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 5, p. 2855-2859, 2001.

- [8] SILVER, R. B.; POONWASI, K. S.; SEYEDI, N.; WILSON, S. J.; LOVENBERG, T. W.; LEVI, R. Decreased intracellular calcium mediates the histamine H₃ receptor induced attenuation of norepinephrine exocytosis from cardiac sympathetic nerve endings. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 1, p. 501-506, 2002.
- [9] MOLINA-HERNANDEZ, A.; NUNEZ, A.; SIERRA, J. J.; ARIAS-MONTANO, J. A. Histamine H₃ receptor activation inhibits glutamate release from rat striatal synaptosomes. **Neuropharmacology**, v. 41, n. 8, p. 928-934, 2001.
- [10] GEMKOW, M. J.; DAVENPORT, A. J.; HARICH, S.; ELLENBROEK, B. A.; CESURA, A.; HALLETT, D. The histamine H₃ receptor as a therapeutic drug target for CNS disorders. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 9-10, p. 509-515, 2009.
- [11] LIGNEAU, X.; LIN, J. S.; VANNI-MERCIER, G.; JOUVET, M.; MUIR, J. L.; GANELLIN, C. R.; STARK, H.; ELZ, S.; SCHUNACK, W.; SCHWARTZ, J. C. Neurochemical and behavioral effects of ciproxifan, a potent histamine H₃ receptor antagonist. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 287, n. 2, p. 658-666, 1998.
- [12] PARMENTIER, R.; OHTSU, H.; DJEBBARA-HANNAS, Z.; VALATX, J. L.; WATANABE, T.; LIN, J. S. Anatomical, physiological, and pharmacological characteristics of histidine decarboxylase knock-out mice: evidence for the role of brain histamine in behavioral and sleep-wake control. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 17, p. 7695-7711, 2002.
- [13] GARDUÑO-TORRES, B.; TREVIÑO, M.; GUTIÉRREZ, R.; ARIAS-MONTAÑO, J.-A. Pre-synaptic histamine H₃ receptors regulate glutamate, but not GABA release in rat thalamus. **Neuropharmacology**, v. 52, n. 2, p. 527-535, 2007.
- [14] CLAPHAM, J.; KILPATRICK, G. J. Histamine H₃ receptors modulate the release of [3H]-acetylcholine from slices of rat entorhinal cortex: evidence for the possible existence of H₃ receptor subtypes. **British Journal of Pharmacology**, v. 107, n. 4, p. 919-923, 1992.

- [15] FOX, G. B.; ESBENSHADE, T. A.; PAN, J. B.; RADEK, R. J.; KRUEGER, K. M.; YAO, B. B.; BROWMAN, K. E.; BUCKLEY, M. J.; BALLARD, M. E.; KOMATER, V. A.; MINER, H.; ZHANG, M.; FAGHIH, R.; RUETER, L. E.; BITNER, R. S.; DRESCHER, K. U.; WETTER, J.; MARSH, K.; LEMAIRE, M.; PORSOLT, R. D.; BENNANI, Y. L. Pharmacological properties of ABT-239[4-(2-{2-[(2R)-2-methylpyrrolidinyl]ethyl}-benzofuran-5-yl)benzonitrile]: II. neurophysiological characterization and broad preclinical efficacy in cognition and schizophrenia of a potent and selective histamine H₃ receptor antagonist. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 313, n. 1, p. 176-190, 2005.
- [16] THRELFELL, S.; CRAGG, S. J.; KALLO, I.; TURI, G. F.; COEN, C. W.; GREENFIELD, S. A. Histamine H₃ receptors inhibit serotonin release in substantia nigra pars reticulata. **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 40, p. 8704-8710, 2004.
- [17] DI CARLO, G.; GHI, P.; ORSETTI, M. Effect of R-(-)-alpha-methylhistamine and thioperamide on in vivo release of norepinephrine in the rat hippocampus. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 24, n. 2, p. 275-284, 2000.
- [18] HAAS, H.; PANULA, P. The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, n. 2, p. 121-130, 2003.
- [19] TIMMERMAN, H. Histamine H₃ ligands: just pharmacological tools or potential therapeutic agents? **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 4-11, 1990.
- [20] MIYAZAKI, S.; ONODERA, K.; IMAIZUMI, M.; TIMMERMAN, H. Effects of clobenpropit (VUF-9153), a histamine H₃ receptor antagonist, on learning and memory, and on cholinergic and monoaminergic systems in mice. **Life Sciences**, v. 61, n. 4, p. 355-361, 1997.
- [21] YOKOYAMA, H.; ONODERA, K.; MAEYAMA, K.; SAKURAI, E.; IINUMA, K.; LEURS, R.; TIMMERMAN, H.; WATANABE, T. Clobenpropit (VUF-9153), a new histamine H₃ receptor antagonist, inhibits electrically induced convulsions in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 260, n. 1, p. 23-28, 1994.

- [22] YOKOYAMA, H.; ONODERA, K.; IINUMA, K.; WATANABE, T. Effect of thioperamide, a histamine H₃ receptor antagonist, on electrically induced convulsions in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 234, n. 1, p. 129-133, 1993.
- [23] LIN, J. S.; SAKAI, K.; JOUVET, M. Hypothalamo-preoptic histaminergic projections in sleep-wake control in the cat. **European Journal of Neuroscience**, v. 6, n. 4, p. 618-625, 1994.
- [24] LIN, J.-S.; SAKAI, K.; VANNI-MERCIER, G.; ARRANG, J.-M.; GARBARG, M.; SCHWARTZ, J.-C.; JOUVET, M. Involvement of histaminergic neurons in arousal mechanisms demonstrated with H₃ receptor ligands in the cat. **Brain Research**, v. 523, n. 2, p. 325-330, 1990.
- [25] YOSHIMOTO, R.; MIYAMOTO, Y.; SHIMAMURA, K.; ISHIHARA, A.; TAKAHASHI, K.; KOTANI, H.; CHEN, A. S.; CHEN, H. Y.; MACNEIL, D. J.; KANATANI, A.; TOKITA, S. Therapeutic potential of histamine H₃ receptor agonist for the treatment of obesity and diabetes mellitus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 37, p. 13866-13871, 2006.
- [26] YOSHIMATSU, H.; ITATEYAMA, E.; KONDOU, S.; TAJIMA, D.; HIMENO, K.; HIDAKA, S.; KUROKAWA, M.; SAKATA, T. Hypothalamic neuronal histamine as a target of leptin in feeding behavior. **Diabetes**, v. 48, n. 12, p. 2286-2291, 1999.
- [27] ONODERA, K.; YAMATODANI, A.; WATANABE, T.; WADA, H. Neuropharmacology of the histaminergic neuron system in the brain and its relationship with behavioral disorders. **Progress in Neurobiology**, v. 42, n. 6, p. 685-702, 1994.
- [28] ITO, C. The role of the central histaminergic system on schizophrenia. **Drug News & Perspectives**, v. 17, n. 6, p. 383-387, 2004.
- [29] TAYLOR-CLARK, T.; FOREMAN, J. Histamine-mediated mechanisms in the human nasal airway. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 5, n. 3, p. 214-220, 2005.

- [30] MCLEOD, R. L.; RIZZO, C. A.; WEST, R. E., JR.; ASLANIAN, R.; MCCORMICK, K.; BRYANT, M.; HSIEH, Y.; KORFMACHER, W.; MINGO, G. G.; VARTY, L.; WILLIAMS, S. M.; SHIH, N. Y.; EGAN, R. W.; HEY, J. A. Pharmacological characterization of the novel histamine H₃-receptor antagonist N-(3,5-dichlorophenyl)-N'-[[4-(1H-imidazol-4-ylmethyl)phenyl]-methyl]-urea (SCH 79687). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 305, n. 3, p. 1037-1044, 2003.
- [31] ESBENSHADE, T. A.; FOX, G. B.; COWART, M. D. Histamine H₃ receptor antagonists: preclinical promise for treating obesity and cognitive disorders. **Molecular Intervention**, v. 6, n. 2, p. 77-88, 2006.
- [32] HÖFLIGER, M. M.; BECK-SICKINGER, A. G. Receptor-ligand interaction. In: BÖHM, H.-J.; SCHNEIDER, G. (Eds.). **Protein-ligand interactions: from molecular recognition to drug design**. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. v. 19, p. 107-136.
- [33] CELANIRE, S.; WIJTMANS, M.; TALAGA, P.; LEURS, R.; ESCH, I. J. Histamine H₃ receptor antagonists reach out for the clinic. **Drug Discovery Today**, v. 10, n. 23-24, p. 1613-1627, 2005.
- [34] ESBENSHADE, T. A.; BROWMAN, K. E.; BITNER, R. S.; STRAKHOVA, M.; COWART, M. D.; BRIONI, J. D. The histamine H₃ receptor: an attractive target for the treatment of cognitive disorders. **British Journal of Pharmacology**, v. 154, n. 6, p. 1166-1181, 2008.
- [35] GEMKOW, M. J.; DAVENPORT, A. J.; HARICH, S.; ELLENBROEK, B. A.; CESURA, A.; HALLETT, D. The histamine H₃ receptor as a therapeutic drug target for CNS disorders. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 9-10, p. 509-515, 2009.
- [36] WILKINSON, C. F.; HETNARSKI, K.; CANTWELL, G. P.; DI CARLO, F. J. Structure-activity relationships in the effects of 1-alkylimidazoles on microsomal

- oxidation in vitro and in vivo. **Biochemical Pharmacology**, v. 23, n. 17, p. 2377-2386, 1974.
- [37] LIN, J. H.; LU, A. Y. Inhibition and induction of cytochrome P450 and the clinical implications. **Clinical pharmacokinetics**, v. 35, n. 5, p. 361-390, 1998.
- [38] ZHANG, M.; BALLARD, M. E.; PAN, L.; ROBERTS, S.; FAGHIH, R.; COWART, M.; ESBENSHADE, T. A.; FOX, G. B.; DECKER, M. W.; HANCOCK, A. A.; RUETER, L. E. Lack of cataleptogenic potentiation with non-imidazole H₃ receptor antagonists reveals potential drug-drug interactions between imidazole-based H₃ receptor antagonists and antipsychotic drugs. **Brain Research**, v. 1045, n. 1-2, p. 142-149, 2005.
- [39] SLATER, J. W.; ZECHNICH, A. D.; HAXBY, D. G. Second-generation antihistamines: a comparative review. **Drugs**, v. 57, n. 1, p. 31-47, 1999.
- [40] KONKIMALLA, V. B.; CHANDRA, N. Determinants of histamine recognition: implications for the design of antihistamines. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 309, n. 2, p. 425-431, 2003.
- [41] PARSONS, M. E.; GANELLIN, C. R. Histamine and its receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, n. S1, p. S127-S135, 2006.
- [42] COWART, M.; ALTENBACH, R.; BLACK, L.; FAGHIH, R.; ZHAO, C.; HANCOCK, A. A. Medicinal chemistry and biological properties of non-imidazole histamine H₃ antagonists **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 9, p. 979-992, 2004.
- [43] GANELLIN, C. R.; LEURQUIN, F.; PIRIPITSI, A.; ARRANG, J.-M.; GARBARG, M.; LIGNEAU, X.; SCHUNACK, W.; SCHWARTZ, J.-C. Synthesis of Potent Non-imidazole Histamine H₃ Receptor Antagonists. **Pharmaceutical and Medicinal Chemistry**, v. 331, n. 12, p. 395-404, 1998.

- [44] VON COBURG, Y.; KOTTKE, T.; WEIZEL, L.; LIGNEAU, X.; STARK, H. Potential utility of histamine H₃ receptor antagonist pharmacophore in antipsychotics. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 2, p. 538-542, 2009.
- [45] DVORAK, C. A.; APODACA, R.; BARBIER, A. J.; BERRIDGE, C. W.; WILSON, S. J.; BOGGS, J. D.; XIAO, W.; LOVENBERG, T. W.; CARRUTHERS, N. I. 4-phenoxy piperidines: potent, conformationally restricted, non-imidazole histamine H₃ antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 6, p. 2229-2238, 2005.
- [46] DA SILVA, R. R.; RAMALHO, T. C.; SANTOS, J. M.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. On the limits of highest-occupied molecular orbital driven reactions: the frontier effective-for-reaction molecular orbital concept. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, n. 3, p. 1031-1040, 2006.
- [47] MAKSIC, Z. B.; VIANELLO, R. Comment on the paper "on the limits of highest-occupied molecular orbital driven reactions: the frontier effective-for-reaction molecular orbital concept". **Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, n. 36, p. 10651-10652, 2006.
- [48] DA SILVA, R. R.; RAMALHO, T. C.; SANTOS, J. M.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Reply to "comment on the paper 'on the limits of highest-occupied molecular orbital driven reactions: the frontier effective-for-reaction molecular orbital concept'". **Journal of Physical Chemistry A**, v. 110, n. 36, p. 10653-10654, 2006.
- [49] LEVINE, I. N. **Quantum Chemistry**. New York: Prentice-Hall, 2000. 739 p.
- [50] LEWARS, E. G. **Computational chemistry: introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics**. New York: Klumer Academic Publishers, 2003. 471 p.
- [51] JENSEN, F. **Introduction to Computational Chemistry**. Chichester: John Wiley & Sons, 2007. 599 p.

- [52] YOUNG, D. C. **Computational Chemistry: a practical guide for applying techniques to real-world problems**. New York: Wiley & Sons, 2001. 370 p.
- [53] ALLINGER, N. L. Conformational analysis. 130. MM2. A hydrocarbon force field utilizing V1 and V2 torsional terms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 25, p. 8127-8134, 1977.
- [54] ALLINGER, N. L.; KOK, R. A.; IMAM, M. R. Hydrogen bonding in MM2. **Journal of Computational Chemistry**, v. 9, n. 6, p. 591-595, 1988.
- [55] LII, J.-H.; GALLION, S.; BENDER, C.; WIKSTRÖM, H.; ALLINGER, N. L.; FLURCHICK, K. M.; TEETER, M. M. Molecular mechanics (MM2) calculations on peptides and on the protein crambin using the CYBER 205. **Journal of Computational Chemistry**, v. 10, n. 4, p. 503-513, 1989.
- [56] ROOTHAAN, C. C. J. New Developments in molecular orbital theory. **Reviews of Modern Physics**, v. 23, n. 2, p. 69-89, 1951.
- [57] SZABO, A.; S.OSTLUND, N. **Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory**. New York: Dover, 1996. 466 p.
- [58] COOK, D. B. **Handbook of computational chemistry**. New York: Oxford University Press, 1998. 743 p.
- [59] CRAMER, C. J. **Essentials of computational chemistry: theories and models**. Chichester: John Wiley & Sons, 2004. 596 p.
- [60] PIELA, L. **Ideas of quantum chemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. 1086 p.

- [61] HEHRE, W. J.; RADOM, L.; SCHLEYER, P. V.; POPLE, J. ***Ab initio molecular orbital theory***. New York: John Wiley & Sons, 1986. 548 p.
- [62] TRSIC, M.; PINTO, M. F. S. **Química quântica - fundamentos e aplicações**. Barueri: Manole, 2009. 154 p.
- [63] DEWAR, M. J. S.; ZOEBISCH, E. G.; HEALY, E. F.; STEWART, J. J. P. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. **Journal of the American Chemical Society**, v. 107, n. 13, p. 3902-3909, 2002.
- [64] DEWAR, M. J. S.; THIEL, W. Ground states of molecules. 38. The MNDO method. approximations and parameters. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 15, p. 4899-4907, 1977.
- [65] HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Physical Review**, v. 136, n. 3B, p. B864 - B871, 1964.
- [66] KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133 - A1138, 1965.
- [67] PARR, R. G.; YANG, W. **Density-functional theory of atoms and molecules** New York: Oxford University Press, 1989. 333 p.
- [68] KOCH, W.; HOLTHAUSEN, M. C. **Chemist's guide to density functional theory**. Weinheim: Wiley-VCH, 2002. 300 p.
- [69] ESCHRIG, H. **The fundamentals of density functional theory**. Berlin: Spring, 1989. 204 p.

- [70] ZIEGLER, T. Approximate density functional theory as a practical tool in molecular energetics and dynamics. **Chemical Reviews**, v. 91, n. 5, p. 651-667, 1991.
- [71] BAERENDS, E. J.; GRITSENKO, O. V. A quantum chemical view of density functional theory. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 101, n. 30, p. 5383-5403, 1997.
- [72] BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. the role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648-5652, 1993.
- [73] STEPHENS, P. J.; DEVLIN, F. J.; CHABALOWSKI, C. F.; FRISCH, M. J. Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623-11627, 2002.
- [74] MONTGOMERY, D. C.; PECK, E. A.; VINING, G. G. **Introduction to linear regression analysis**. New York: Wiley-Interscience, 2001. 641 p.
- [75] BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: A Practical Guide**. New York: Wiley, 1998. 360 p.
- [76] FERREIRA, M. M. C. Multivariate QSAR. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 6, p. 742-753, 2002.
- [77] FERREIRA, M. M. C.; MONTANARI, C. A.; GAUDIO, A. C. Seleção de variáveis em QSAR. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 439-448, 2002.
- [78] BRERETON, R. G. **Chemometric data analysis for the laboratory and chemical plant**. Chichester: Wiley, 2003. 489 p.
- [79] MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate Calibration**. New York: Wiley, 1992. 419 p.

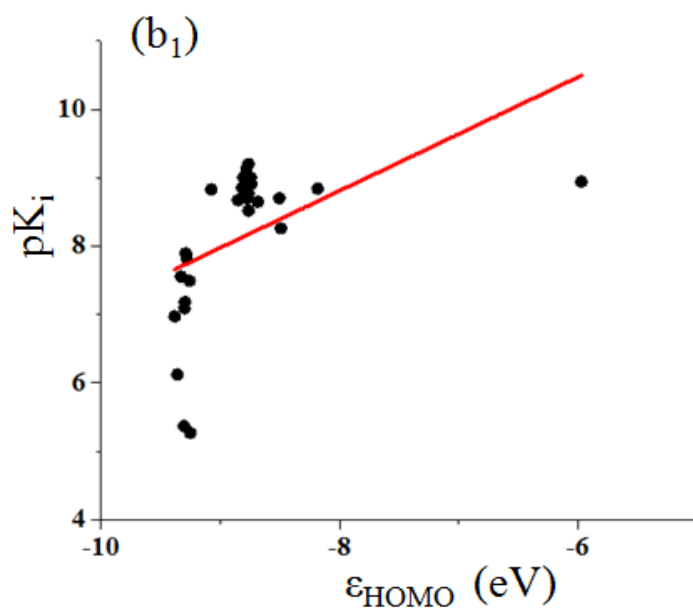
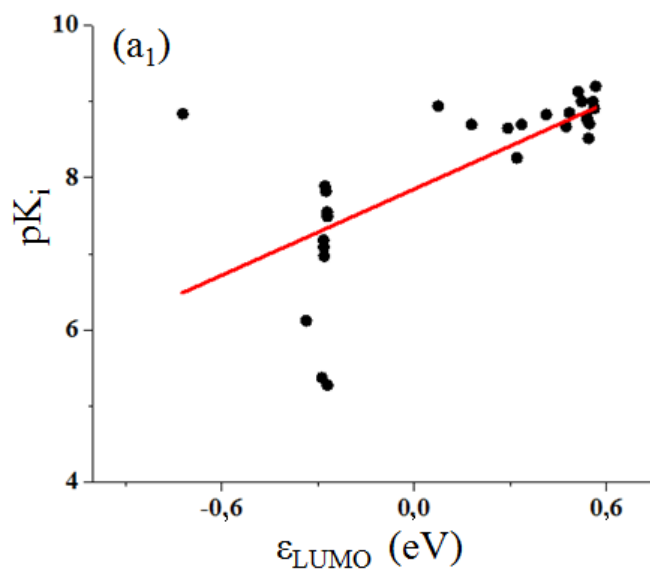
- [80] FUKUI, K. The role of frontier orbitals in chemical reactions (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 21, n. 11, p. 801-809, 1982.
- [81] CHEN, P.; FUJISAWA, K.; SOLOMON, E. I. Spectroscopic and theoretical studies of mononuclear copper(II) alkyl- and hydroperoxo complexes: electronic structure contributions to reactivity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 41, p. 10177-10193, 2000.
- [82] HYPERCHEM, Release for Windows, Version 7.0, Gainesville: Hyper cube, 2002, 1 CD ROM
- [83] FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H. P.; IZMAYLOV, A. F.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J. L.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, JR.; J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J. C. IYENGAR, S. S. TOMASI, J. COSSI, M. REGA, MILLAM, N. J.; KLENE, M. KNOX, J. E.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERTS, R. E. STRATMANN, O. YAZYEV, A. J. AUSTIN, R. CAMMI, C. POMELLI, J. W. OCHTERSKI, R. MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V. G.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; FARKAS, O.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CIOSLOWSKI, J.; FOX, D. J. GAUSSIAN 03, REVISION - C.02, Wallingford CT, 2004.
- [84] BRENEMAN, C. M.; WIBERG, K. B. Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. the need for high sampling density in formamide conformational analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 361-373, 1990.
- [85] APODACA, R.; DVORAK, C. A.; XIAO, W.; BARBIER, A. J.; BOGGS, J. D.; WILSON, S. J.; LOVENBERG, T. W.; CARRUTHERS, N. I. A new class of diamine-

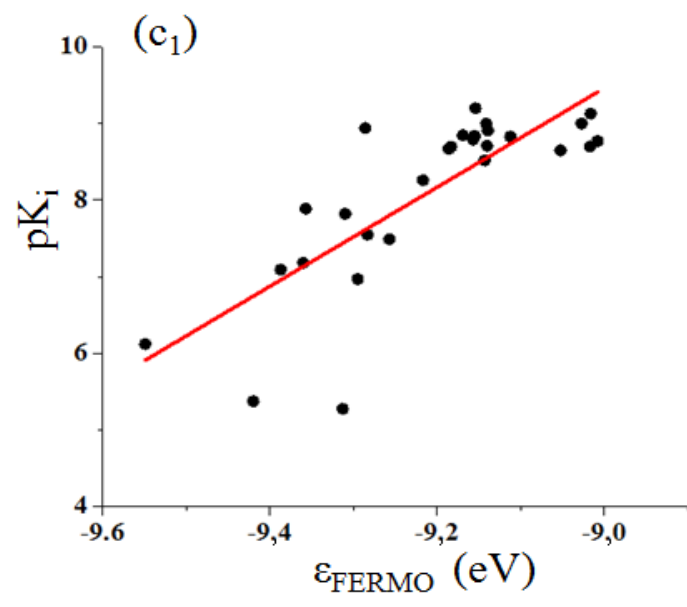
- based human histamine H₃ receptor antagonists: 4-(aminoalkoxy)benzylamines. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 18, p. 3938-3944, 2003.
- [86] KURTZ, H. A.; DUDIS, D. S. Quantum mechanical methods for predicting nonlinear optical properties. In: KENNY B. LIPKOWITZ, D. B. B. (Eds.). **Reviews in Computational chemistry**. New York: Wiley-VCH, 2007. v. 12, p. 241-279.
- [87] HONÓRIO, K. M.; FREITAS, L. G.; TRSIC, M.; DA SILVA, A. B. F. A quantum chemical study on the psychoactivity of cannabinoid compounds. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 538, n. 1-3, p. 99-106, 2001.
- [88] CLARE, B. W. Frontier orbital energies in quantitative structure-activity relationships: a comparison of quantum chemical methods. **Theoretical Chemistry Accounts: Theory, Computation, and Modeling (Theoretica Chimica Acta)**, v. 87, n. 6, p. 415-430, 1994.
- [89] ANH, N. T. **Frontier orbitals: a practical manual**. England: Chichester, 2007. 287 p.
- [90] PEARSON, R. G. Absolute electronegativity and hardness correlated with molecular orbital theory. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, n. 22, p. 8440-8441, 1986.
- [91] PARR, R. G.; SZENTPALY, L. V.; LIU, S. Electrophilicity index. **Journal of the American Chemical Society**, v. 121, n. 9, p. 1922-1924, 1999.
- [92] DA SILVA, R. R.; SANTOS, J. M.; RAMALHO, T. C.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Concerning the FERMO concept and Pearson's hard and soft acid-base principle. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17. n. 2, p. 223-226, 2006.
- [93] SUBRAMANIAN, S.; FERREIRA, M. M. C.; TRSIC, M. A structure-activity relationship study of lapachol and some derivatives of 1,4-naphthoquinones against carcinosarcoma walker 256 **Structural Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 47-57, 1998.

- [94] TARAKANOVA, E.; TSOI, O.; YUKHNEVICH, G.; KISLINA, I.; LIBROVICH, N. Quantum-chemical calculations of the affinity of neutral molecules for protons. **Russian Journal of Physical Chemistry B, Focus on Physics**, v. 2, n. 1, p. 13-15, 2008.
- [95] STEWART, J. J. P. MOPAC2009, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, 2008.
- [96] THOMPSON, M. A. ARGUSLAB 4.0, Planaria Software LLC, Seattle, WA, 2004.
- [97] ALLOUCHE, A. R. Gabedit é um programa computacional de química de interface gráfica. Esta disponível na seguinte página da internet <http://gabedit.sourceforge.net/>
- [98] SCHAFTENAAR, G.; NOORDIK, J. H. Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 14, n. 2, p. 123-134, 2000.
- [99] MINITAB é um programa de estatística pertencente à Minitab Inc, State College, PA.
- [100] BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. **Statistics for experimenters: design, innovation, and discovery**. New York: Wiley, 2005. 633 p.

APÊNDICE I

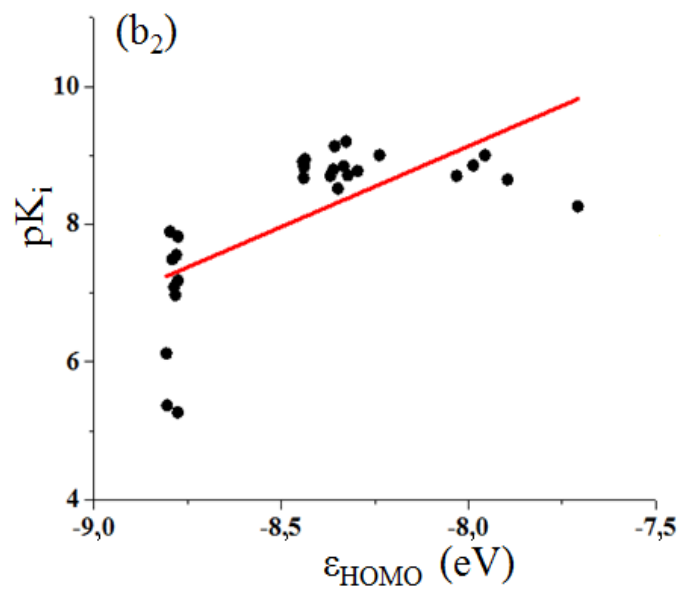
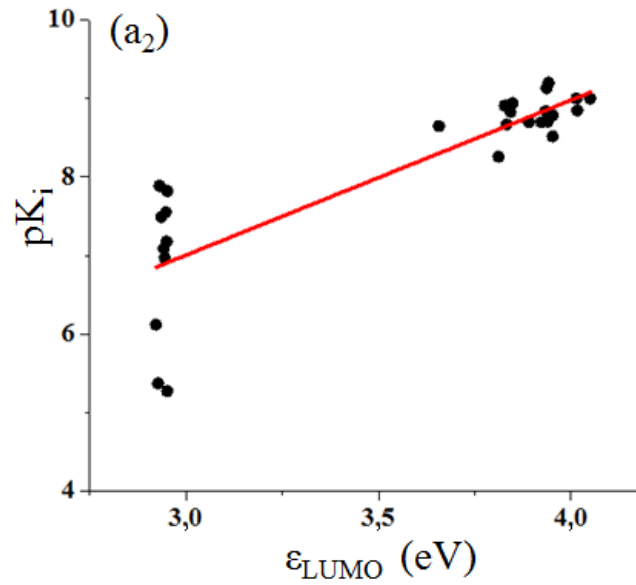
Gráficos de correlação entre as energias orbitais obtidas pela metodologia AM1 e os valores experimentais de pK_i . (a₁) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{LUMO} e pK_i ; (b₁) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{HOMO} e pK_i ; (c₁) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{FERMO} e pK_i .

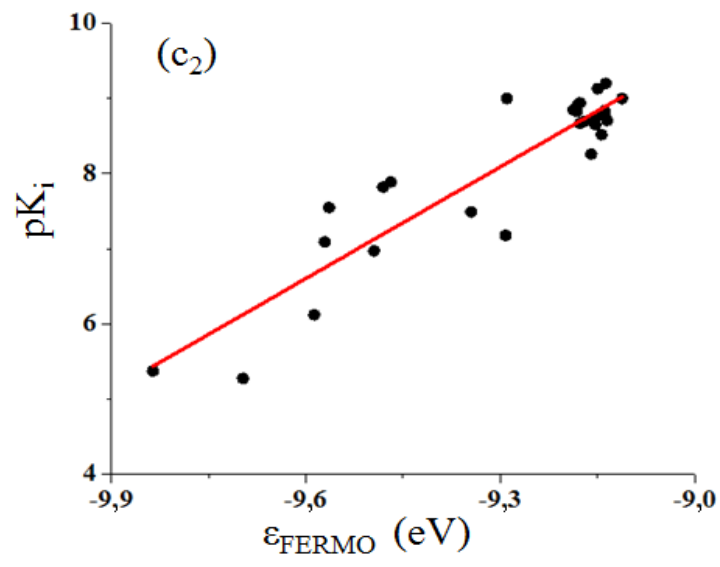




APÊNDICE II

Gráficos de correlação entre as energias orbitais obtidas pela metodologia HFR e os valores experimentais de pK_i . (a₂) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{LUMO} e pK_i ; (b₂) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{HOMO} e pK_i ; (c₂) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{FERMO} e pK_i .





APÊNDICE III

Gráficos de correlação entre as energias orbitais obtidas pela metodologia DFT e os valores experimentais de pK_i . (a₃) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{LUMO} e pK_i ; (b₃) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{HOMO} e pK_i ; (c₃) representa o gráfico de correlação entre ϵ_{FERMO} e pK_i .

