

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE FÍSICA

Tese de Doutorado

**ESTUDO DE ESTRUTURA ELETRÔNICA E
ANÁLISE MULTIVARIADA DE CANDIDATOS
A INIBIDORES DA AChE**

Alexandre Adriano Neves de Paula

ORIENTADOR: Prof. Ricardo Gargano

CO-ORIENTADOR: Prof. João Batista Lopes Martins

Brasília, 31 de julho de 2009

“A vida é muito importante para ser levada a sério.”

Oscar Wilde

“É preciso ter dúvidas. Só os estúpidos têm uma confiança absoluta em si mesmos.”

Orson Welles

Dedico:

À minha mãe, pelos limites temperados com amor incondicional.

Aos meus irmãos, Junio e Magali.

À minha companheira Gisele pelo amor, incentivo e ajuda nas horas mais difíceis.

Aos meus filhos, Caio e Vitor, por terem me ensinado a ser uma pessoa melhor.

Agradeço:

Aos meus professores do Colégio Técnico Universitário - UFJF, por terem acreditado em mim.

Aos meus colegas e amigos durante a minha graduação, mestrado e doutorado, por terem me incentivado e ajudado a trilhar este difícil percurso.

Aos professores e funcionários da Universidade Federal de Juiz de Fora e da Universidade de Brasília.

Ao meus orientadores e amigos Ricardo Gargano e João Batista Lopes Martins, por terem sempre acreditado em mim e ajudado quando precisei.

Resumo

Neste trabalho apresentamos um estudo sobre novos candidatos a inibidores da acetilcolinesterase obtidos a partir de um lipídio fenólico não-isoprenóide do líquido da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*). Foram investigados, através do cálculo de estrutura eletrônica, dois Padrões de Estrutura Molecular (PEM) derivados do cardanol: um composto por 15 moléculas construídas a partir do PEM2 com os grupos substituintes metila, acetila, *N,N*-dimetilcarbamoíla, *N,N*-dimetilamina, *N,N*-dietilamina, pirrolidina, piperidina e *N*-benzilamina e outro composto por 20 moléculas derivadas do PEM3 substituindo fragmentos que fariam interação com a serina²⁰⁰ (S200) e do triptofano⁸⁴ (W84) pelos anéis de 5 e 6 membros. As propriedades eletrônicas, tais como energias (HOMO-1, HOMO, LUMO, LUMO+1 e derivados), distribuições de cargas (anel benzênico, oxigênio 56, carbono 11 e nitrogênio das aminas secundárias) entre outras, foram obtidas usando os níveis de cálculos RHF e B3LYP com os conjuntos de funções de base 6-31G, 6-31G(d), 6-31+G(d), 6-311G(d,p) 6-311G(2d,p) e 6-311+G(2d,p). Os resultados obtidos revelam que os derivados do PEM2, formadas com as substituições acetila, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilamina e pirrolidina, são as estruturas que mais se correlacionam com o fármaco amplamente utilizado como inibidor da acetilcolinesterase contra a doença de Alzheimer (rivastigmina). Com relação aos derivados do PEM3 os compostos que melhor se correlacionam com a rivastigmina foram as estruturas PEM3-01, PEM3-03, PEM3-06 e PEM3-19.

Abstract

In this work is presented a study about new potential candidates of acetylcholinesterase (AChE) inhibitors designed from cardanol, a non-isoprenoid phenolic lipid of cashew *Anacardium occidentale* nut-shell liquid. From electronic structure calculations were investigated two molecular structure models (PEM): the first is formed by 15 molecules derivatives from the cardanol (PEM2) using the groups methyl, acetyl, N,N-dimethylcarbamoyl, N,N-dimethylamine, N,N-diethylamine, piperidine, pyrrolidine, and N,N-methylbenzylamine; while the second is formed by 20 molecules derivatives from cardanol (PEM3) substituting the fragments that interacts with ser200 and W84 sites by rings with 5 and 6 species. Electronic properties, such as, energies (HOMO, LUMO, HOMO-1, LUMO+1 and derivatives) and charge distributions were performed at RHF and B3LYP levels using 6-31G, 6-31G(d), 6-31+G(d), 6-311G(d,p) 6-311G(2d,p) and 6-311+G(2d,p) basis functions. The obtained results indicated that the PEM2 structures with substitution by acetyl, N,N-dimethylcarbamoyl, N,N-dimethylamine, and pyrrolidine groups PEM3 were better correlated to rivastigmine and represent possible AChE inhibitors against Alzheimer disease. In relation to PEM3 molecular structure model the compounds that presented a significant contribution in the recognition by AChE were PEM3-01, PEM3-03, PEM3-06 e PEM3-19.

Sumário

1	Introdução	14
1.1	Objetivos Gerais	20
1.2	Justificativas	20
1.2.1	Padrão de Estrutura Molecular 2 (PEM2)	22
1.2.2	Padrão de Estrutura Molecular 3 (PEM3)	25
2	Metodologias	28
2.1	O Problema Molecular	28
2.2	Solução da equação de Schrödinger eletrônica	30
2.3	A Aproximação de Hartree-Fock	33
2.3.1	Introdução das bases nas equações espaciais	40
2.4	Análise de componentes principais	43
2.4.1	Cálculo das componentes principais e suas respectivas variâncias	45
3	Resultados e discussões	50
3.1	Padrão de Estrutura Molecular 2 (PEM2)	50
3.1.1	Primeiros resultados do PEM2	51
3.1.2	Recentes resultados do PEM2	57
3.2	Padrão Estrutura Molecular 3 (PEM3)	68
4	Conclusões e Perspectivas	74

5	Apêndice A	77
5.1	Principais causas de mortes	79
5.1.1	Principais doenças ou lesões que causam YLD	79
5.1.2	Principais doenças ou lesões que causam DALYs	79
	Referências	91

Lista de Tabelas

2.1	Matriz do conjunto de dados iniciais. As linhas representam os indivíduos (<i>indivíduos n</i>) e as colunas as variáveis (<i>variáveis m</i>).	45
3.1	Nomeclatura das 15 estruturas derivadas do cardanol (PEM2). Notação utilizada para a substituição do hidrogênio a partir do grupo de fenólicos cardanol (R1 na figura 3.1) e carbono da cadeia lateral (R2 na Figura 3.1). CA representa o cardanol.	53
3.2	Peso das propriedades eletrônicas que formam as PCs.	56
3.3	Valores das energias eletrônicas E(HOMO-1), E(HOMO), E(LUMO), E(LUMO+1), e das carga do anel, C-C ₁₁ , C-O ₅₆ e C-N _{R2} dos 15 compostos derivados do cardanol e da rivastigmina (16).	61
3.4	Variância, porcentagem e acumulado da porcentagem nos casos I, II and III das PC1, PC2 e PC3 obtidos com PCA.	63
3.5	Peso das propriedades eletrônicas E(HOMO-1), E(LUMO+1), C-O ₅₆ , C-N _{R2} , E(LUMO) e E(L1-L) das PC1, PC2 e PC3 dos casos I, II and III, obtidos com PCA.	65
3.6	Valores das energias eletrônicas dos orbitais HOMO-1, HOMO, LUMO, LUMO+1 e cargas do N (nitrogênio), do O (oxigênio) e do anel dos 20 derivados do PEM3, e dos compostos 11 e 13 derivados do PEM2 e da rivastigmina.	70

3.7	Valores obtidos para o volume molar, área da superfície, energia de hidratação, polarizabilidade e log-P dos 20 derivados do PEM3, e dos compostos 11 e 13 derivados do PEM2 e da rivastigmina.	71
3.8	Variância, porcentagem e acumulado da porcentagem dos compostos do PEM3, rivastigmina e estruturas 11 e 13 do PEM2 das PC1, PC2 e PC3 obtidos com PCA.	72
3.9	Peso das propriedades eletrônicas, E(LUMO), E(LUMO+1), E(GAP+1) e E(L1-L) das PC1, PC2 e PC3 dos compostos do PEM3, rivastigmina e estruturas 11 e 13 do PEM2, obtidos com PCA.	72
5.1	CID -10 da Doença de Alzheimer e outras demências	78
5.2	Resumo do ônus do mal de Alzheimer e outras demências no ano de 2004	81

Lista de Figuras

1.1	Inibidores da acetilcolinesterase (AChE).	18
1.2	Lipídeos fenólicos não isoprenóides constituintes do LCC.	21
1.3	Planejamento estrutural de novos candidatos a AChEI do tipo PEM2.	23
1.4	Estrutura parcial da enzima AChE mostrando a tríade catalítica.	24
1.5	Variantes planejadas do cardanol com PEM2.	25
1.6	Planejamento do padrão de estrutura molecular 3	26
1.7	Compostos derivados do padrão de estrutura molecular 3	27
3.1	Representação esquemática dos possíveis candidatos a inibidores da enzima AChE, obtidos a partir dos lipídios fenólicos não isoprenóicos do cajueiro.	51
3.2	Mapeamento da superfície da energia superficial estrutura formada colocando no radical “R” <i>N,N</i> -dimetilcarbomoíla e em “W” a pirrolidina, utilizando o pacote computacional CAChe.	52
3.3	Contribuição para a diferença LUMO+1 – HOMO-1 vs LUMO+1, para os derivados do cardanol (PEM2) e rivastigmina.	54
3.4	Contribuição para a diferença LUMO+1 – LUMO vs HOMO, para os derivados do cardanol (PEM2) e rivastigmina.	55
3.5	Distribuição da variância e porcentagem da variância nas PCs.	56
3.6	Gráfico PC1 vs PC2 obtidos a partir do PCA, mostrando a separação dos derivados do cardanol (PEM2) e rivastigmina.	57

3.7	Contribuição da E(LUMO+1) contra C-N _{R2} para os derivados do cardanol e rivastigmina. Propriedades calculadas utilizando o método B3LYP com a função de base 6-311+G(2d,p) dos derivados do cardanol PEM2	60
3.8	Geometria otimizada da rivastigmina. O orbital HOMO-1 da rivastigmina para o nível B3LYP/6-311+G(2d,p). Os átomos cinzas são carbonos, os átomos brancos são hidrogênio, os átomos vermelhos são oxigênio e os átomos azuis são nitrogênio	62
3.9	Gráficos dos casos I, II e III da separação das estruturas derivadas do cardanol e da rivastigmina com as duas ou três PCs mais relevantes.	64
3.10	Curvas de inibição da acetilcolinesterase para os derivados do cardanol (CA_c.1) 11 , (CA_c.2) 12 e (CA_c.3) 13 [1]. Velocidade de reação máxima (V_{max}) da AChE <i>Electrophorus Electricus</i> em relação ao controle (sem inibição). O solvente teve efeitos desprezíveis nas concentrações testadas. As curvas simbolizam a função regressão para o modelo de inibição completo do padrão de sítio único.	66
3.11	Duas fotografias do gráfico do mapeamento da estrutura PEM-03 com variação dos ângulos diedrais dos anéis benzênicos em relação ao plano da cadeia central de carbonos	68
3.12	Gráfico da PC1 contra PC2 obtidas a partir da PCA das 20 estruturas que compõem o PEM3, dos compostos PEM2-11 (C1) e PEM2-13 (C2) e da rivastigmina (R). A separação dos derivados do cardanol (PEM3) e rivastigmina são destacados.	73

Lista de Abreviaturas

AChE	Acetilcolinesterase
ACh	Acetilcolina
AChEI	Inibidores da Acetilcolinesterase
AHF	Aproximação de Hartree-Fock
AM1	do inglês “ <i>Austin Model 1</i> ” / Modelo Austin 1
B3LYP	Funcional híbrido de troca de Becke, chamado B3, combinado com o funcional de correlação, denominado LYP (Lee, Yang e Parr).
BChE	Butilcolinesterase
CID-10	Classificação Internacional de Doenças e problemas relacionados a saúde.
DA	Doença de Alzheimer
DALY	Do inglês “ <i>Disability-Adjusted Life Year</i> ” / Anos de vida corrigidos da inabilidade
DFT	Do inglês “ <i>Density Functional Theory</i> ” / Teoria do funcional densidade
FAEC	Fundo de Ações Estratégicas e Compensação
FDA	Do inglês “ <i>Food and Drug Administration</i> ” / Administração de drogas e alimentos
GAP	Diferença entre os orbitais de fronteira: LUMO – HOMO
GAP+1	Diferença entre os orbitais: LUMO+1 – HOMO-1
GBD-2004	Do inglês “ <i>The Global Burden of Disease - 2004 update</i> ” / Ônus global das doenças - 2004 com atualização em 2008
H-H1	Diferença entre os orbitais: HOMO – HOMO-1
HOMO	Do inglês “ <i>High Occuped Molecular Orbital</i> ” / orbital com energia mais alta ocupado

HOMO-1	Penúltimo orbital com energia mais alto ocupado
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
L1-L	Diferença entre os orbitais: LUMO+1 – LUMO
LCC	Líquido da Casca da Castanha de Caju
LUMO	Do inglês “ <i>Low Unoccupied Molecular Orbital</i> ” / orbital com energia mais baixa desocupado
LUMO+1	Segundo orbital com energia mais baixa desocupado
MS	Ministério da Saúde
NDDO	Do inglês “ <i>Neglect of Diatomic Differential Overlap</i> ” / Desprezo da sobreposição diatômica diferencial
PC	Do inglês “ <i>Principal Component</i> ” / Componente Principal
PC1	Do inglês “ <i>Principal Component 1</i> ” / Primeira Componente Principal
PC2	Do inglês “ <i>Principal Component 2</i> ” / Segunda Componente Principal
PCA	Do inglês “ <i>Principal Component Analysis</i> ” / Análise de Componentes Principais
PEM	Padrão de Estrutura Molecular
PEM2	Padrão de Estrutura Molecular 2
PEM3	Padrão de Estrutura Molecular 3
PM3	Do inglês “ <i>Parametric Method Number 3</i> ” / Método de parametrização 3
RHF	Do inglês “ <i>Restricted Hartree-Fock</i> ” / Hartree-Fock restrito
S200	Sítio da Serina200
SAP	Sítio Aniônico Periférico
SCF	Do inglês “ <i>Self Consistent Field</i> ” / Campo Auto-Consistente
SEP	Superfície de Energia Potencial
Trp84	Triptofeno84, resíduo 84 da Acetilcolinesterase
UCB	Universidade Católica de Brasília
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UNB	Universidade de Brasília
W84	Sítio do Triptofano84
YLD	Do inglês “ <i>Year Lost due to Disability</i> ” / Os anos perdidos por inabilidade

Capítulo 1

Introdução

O aumento da expectativa de vida da população brasileira nas últimas décadas tem feito com que casos de doença de Alzheimer (DA), considerada a principal causa de demência entre pessoas de faixa etária acima dos 65 anos de idade (com faixas de 50% a 60% dos casos, forma esporádica) [2] e até mesmo em pessoas mais jovens, por volta de quarenta anos (forma precoce), cresçam substancialmente. Sua natureza é crônica e progressiva e compromete gravemente a qualidade de vida dos portadores. Com a evolução da doença, há um declínio cognitivo contínuo, instalando-se múltiplas perturbações, incluindo memória, atenção, aprendizado, pensamento, orientação, compreensão, cálculo, linguagem e julgamento. O comprometimento dessas funções vem normalmente acompanhado, e ocasionalmente precedido, por deterioração do controle emocional e comportamento social.

A demência interfere nas atividades do dia-dia do paciente, tais como: atividades fisiológicas, toaletes, vestimenta, alimentação e higiene pessoal entre outras. A DA também compromete gravemente a relação do paciente com a família, pois muitas vezes o paciente não reconhece seus familiares, que acaba por ser uma das causas de abandono e transferência destes pacientes para asilos de idosos.

Segundo dados de projeção do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e

Estatística) para o período de 1980-2050 (revisão 2008) [3], o Brasil possuirá cerca de 18,6 milhões de pessoas em 2009 com mais de 60 anos de idade. Estimativas de 2001 [4] mostram que 4,6% da população com mais de 60 anos de idade da América Latina apresentam casos de demência, sendo 0,6% a 0,9% na faixa de 60 a 64 anos, 1,2% a 1,8% para a faixa de 65 a 69 anos e aumentando em muito com a idade, particularmente a partir dos 75 anos, apresentando taxas bastante expressivas para outras faixas, como 5,1% a 8% para a faixa de 75 a 79 anos e 22,9% a 36,7% para pessoas com mais de 85 anos[3]. Estima-se que 2% a 4% da população com mais de 65 anos apresentem DA, aumentando drasticamente com a idade a partir dos 75 anos [2, 4].

A partir dos dados do GBD 2004 (do inglês “*The global Burden of Disease - 2004 update*” / Ônus global das doenças - 2004 com atualização em 2008) [5] e do extenso banco de dados do sistema de informações sanitárias e estatísticas da saúde [6] da OMS (Organização Mundial da Saúde), foi possível sintetizar estatísticas referentes à DA. A partir destes dados, foi possível sumarizar os resultados referentes a DA e outras demências (veja tabela 5.2 do apêndice A). A descrição detalhada da DA e outras demências pode ser vista a partir do código CID-10 (Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionadas a Saúde) F01, F03, G30 e G31.

DA e outras demências foram a vigésima quinta causas de mortes no mundo no ano de 2004. No entanto, analisando apenas os países de alta renda (países classificados pelo banco mundial na tabela C2 do GDB-2004 [5]), elas já aparecem como a sexta doença que mais causa morte. Olhando apenas para as pessoas com 60 ou mais anos de todo o mundo ela passa a ser a décima-primeira com maior número de óbitos no mundo, a primeira em YLD (do inglês “*years lost due to disability*” / os anos perdidos por inabilidade) e a quarta com maior DALY (do inglês “*disability-adjusted life year*” / anos de vida corrigidos da inabilidade). O caso se agrava bastante quando olhamos apenas para os países de alta renda, eles

apresentam esta condição de saúde como a sexta maior causa de morte, quarta no YLD e no DALY, e se compararmos apenas as pessoas acima de 60 anos ela é a principal em YLD (chegando a 20,9% deste grupo de pessoas) e a segunda no DALY (sendo 9,44% deste grupo de pessoas). Juntamente com estas estimativas temos que o peso da inabilidade para o demente, estimado por especialistas de varias áreas e nacionalidades, era mais elevado do que qualquer outra condição de saúde [4].

Dados estatísticos do Ministério da Saúde [7] em 2002 revelam a existência de 600 mil a 1 milhão de idosos portadores de DA no Brasil. De acordo com a OMS em 2004, no Brasil tinha-se cerca de 244 mil anos perdidos por inabilidade [5]. Baseando-se num estudo da população do Canadá as pessoas têm em média uma sobrevida, prováveis casos de alzheimer, de 3,1 anos [7], estima-se que no Brasil tenha entre 50 mil a 100 mil (244/3,1) pessoas com a doença. Estes dados são bastante conflitantes com os dados do Ministério da Saúde.

Recursos do Fundo de Ações Estratégicas e Compensação (FAEC) [7], da ordem de R\$ 59 milhões, sendo R\$ 34 milhões para distribuição de medicamentos excepcionais e R\$ 25 milhões para reestruturação da assistência, são aplicados anualmente para que a evolução da doença seja retardada, permitindo melhor qualidade de vida aos pacientes, quanto à permanência de suas funções e manutenção, por mais tempo, de sua autonomia.

Embora as pessoas com demências sejam grandes consumidores nos países desenvolvidos, a maior parte dos recursos diretos para o tratamento destas pessoas vem da comunidade e de cuidados residenciais. Knapp *et al* [8] estimaram que no Reino Unido, 224 mil de 461 mil pessoas idosas com deterioração cognitiva vivem em instituições a um custo de US\$ 8,2 bilhões a cada ano, ou seja, 0,6% do produto interno bruto do Reino Unido. Nos Estados Unidos, o custo anual com cuidados informais era de US\$ 18 bilhões por ano, no ano de 1998 [9]. O “ônus da doença” é altamente dependente da cultura e região de cada povo. As estimativas do “ônus

da doença” para algumas regiões do mundo, são incompletas, ou até mesmo não existem, ou são geradas por um único estudo que não permite generalização. No Brasil existem apenas pesquisas isoladas sobre o ônus que a Doença de Alzheimer tem para a sociedade, pois o Ministério da Saúde não tem uma base de dados para a análise. É preciso investir mais sobre esta questão para definir políticas públicas melhores sobre a DA.

Do ponto de vista histopatológico, a DA consiste em distúrbio neurodegenerativo caracterizado pela presença de placas senis, acúmulos esféricos da proteína amiloide [10], apresentando atrofia e degeneração dos neurônios colinérgicos subcorticais, principalmente aqueles na parte basal do prosencéfalo (núcleo basal de Meynert), que conferem inervação colinérgica a todo córtex cerebral [10–13].

Bioquimicamente, a DA é uma patologia decorrente da redução dos níveis de acetilcolina (ACh) no processo sináptico, diminuição da neurotransmissão colinérgica cortical e, em menor extensão, a diminuição de outros neurotransmissores como noradrenalina, dopamina, serotonina, glutamato e substância P [14,15]. Estudos recentes demonstraram que a DA também pode estar associada à redução do número de receptores nicotínicos e muscarínicos (M2) de acetilcolina, localizados nas terminações colinérgicas pré-sinápticas, com preservação dos receptores muscarínicos M1 e M2 pós-sinápticos [4]. A hipótese colinérgica [16–18] é a teoria bioquímica mais aceita mundialmente e a primeira forma racional de tratamento, para esta neuropatologia. Ela consiste na restauração do nível do neurotransmissor ACh encontrado em baixas concentrações no cérebro de pacientes portadores da DA. Esta restauração pode ser feita através da inibição reversível das colinesterases, acetilcolinesterase (AChE) e butilcolinesterase (BChE), enzimas que naturalmente catabolizam a acetilcolina liberada no processo de neurotransmissão [17,18].

Entre os agentes químicos com perfil anticolinesterásico que apresentaram resultados promissores para o tratamento da DA encontram-se os inibidores da

acetilcolinesterase (AChEI), a exemplo da tacrina (Cognex[®]), donepezil (Aricept[®]), fisostigmina e o produto natural galantamina (Reminyl[®]), recentemente aprovado pelo FDA (do inglês “*Food and Drug Administration*” / Administração de drogas e alimentos)(Figura 1.1). A tacrina foi o primeiro fármaco sintético aprovado pelo FDA, entretanto, devido aos sérios efeitos colaterais provocados, sua utilização está sendo bastante limitada [10].

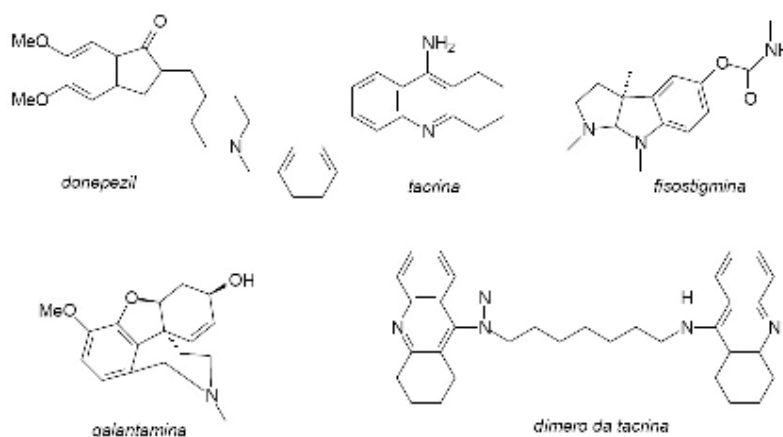


Figura 1.1: Inibidores da acetilcolinesterase (AChE).

A busca por novas entidades químicas úteis no tratamento DA tem recebido grande atenção da Física e Química Medicinal. Entretanto, poucas entidades superaram as etapas de ensaios pré-clínicos e clínicos. As estratégias de modificação estrutural de protótipos naturais e/ou hibridização molecular têm sido muito exploradas e já lograram alguns protótipos mais eficientes (mais seletivos e menos tóxicos) que os fármacos comerciais [19–25].

Recentemente pesquisadores brasileiros do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista (Araraquara) [26] sintetizaram um composto natural isolado a partir do *Sena spectalis* (conhecida como cássia do nordeste e comum nos estados de São Paulo e Paraná) que apresentou as mesmas características de

fármacos já comercializados para a DA. O acetato de espectralina é uma substância pertencente à classe das piperidinas que atua na inibição da ação da enzima acetilcolinesterase [26].

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o emprego dos lipídeos fenólicos não isoprenóides do cajueiro (*Anacardium occidentale*) como matéria-prima na preparação de compostos com maior valor agregado, o presente estudo objetiva a utilização dos lipídeos fenólicos não isoprenóides do líquido da casca da castanha de caju (LCC), na obtenção racional de novos agentes terapêuticos inibidores da enzima AChE, candidatos úteis ao tratamento da DA.

O cajueiro, espécie cultivada e maior dispersão do gênero, pode ser encontrada em diversos ecossistemas do nordeste brasileiro, principalmente nas zonas costeiras, fazendo parte da vegetação de praias e dunas e nas formações de restinga. Apesar de cultivada em mais de vinte países, em termos de importância sua exploração restringe-se ao Brasil, Índia, Vietnã, Tanzânia, Indonésia, Moçambique e Guiné-Bissau, sendo a produção brasileira cerca de 19% em relação a mundial. O principal centro de diversidade do gênero *Anacardium* é a região amazônica (florestas úmidas, matas de galeria e cerrado), com um centro secundário de diversidade nos cerrados (Planalto Central) [27].

O cultivo do cajueiro representa para o Nordeste uma atividade de elevada importância econômica e social, com área plantada estimada em 680 mil hectares e produção de 150 mil toneladas de castanha de caju que proporciona exportações da ordem de 30 mil toneladas de amêndoas, gerando divisas de 140 milhões de dólares, tendo os estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte como os mais representativos em termos de produção. Anualmente são oferecidos 16.000 empregos diretos na zona urbana e o equivalente a 547.352 homem/dia na zona rural. Em 1991, as exportações de amêndoas, suco e LCC atingiram valores da ordem de US\$ 18,62 milhões de dólares, representando 32,2% do total das exportações do RN [27].

1.1 Objetivos Gerais

Utilização dos lipídeos fenólicos não isoprenóides do cajueiro (*Anacardium occidentale*), como matéria-prima para obtenção racional de novos candidatos a inibidores da enzima AChE, agentes terapêuticos úteis no tratamento da DA.

1.2 Justificativas

No processo de industrialização da castanha de caju para obtenção da amêndoa, fonte rica de proteínas e componentes graxos, isola-se o LCC, um material de grande interesse como matéria-prima na fabricação de inseticidas, germicidas, antioxidantes, isolantes térmicos, material de atrito, plastificantes, tensoativos, tintas, vernizes entre outros [28–30]. Recentemente, o LCC tem sido utilizado como aditivo para combustíveis e lubrificantes [31]. Em função da excelência de mercado para a amêndoa, esse subproduto do processamento industrial da castanha de caju é um importante produto da pauta de exportação do Brasil. Entretanto, devido os preços irrisórios praticados pelo mercado de exportação por vezes torna-se rejeito da cajucultura [27]. O LCC é um óleo viscoso e acre que compreende 25% do peso do fruto in natura, sendo uma das fontes mais ricas de lipídeos fenólicos não isoprenóides, tais como ácidos anacárdicos, cardóis, cardanóis e metilcardóis [32]. Do ponto de vista químico, os lipídeos fenólicos do LCC configuram-se como uma matéria-prima versátil para uma série de transformações químicas, devido à natureza dualística - caráter aromático e acíclico -, aliado à existência de diversos grupos funcionais no anel aromático e múltiplas insaturações na cadeia alifática em C-8 (Figura 1.2).

Os derivados fenólicos do LCC constituem um sistema biofórico natural compreendendo características eletrônicas e hidrofóbicas, as quais são requisitos

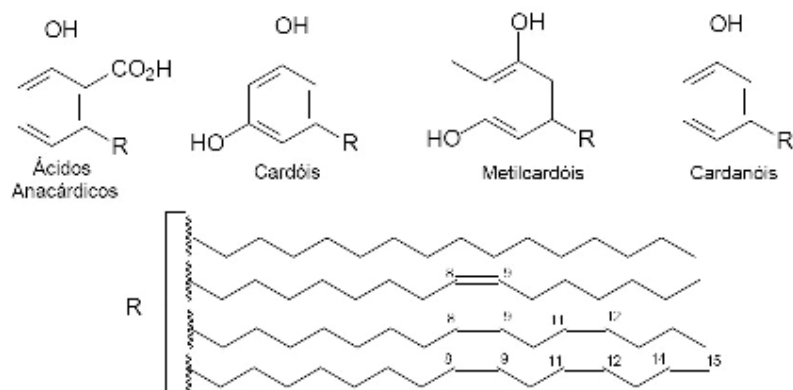


Figura 1.2: Lipídeos fenólicos não isoprenóides constituintes do LCC.

estruturais relevantes ao reconhecimento molecular pela enzima acetilcolinesterase (AChE).

O desenvolvimento de novos candidatos a agentes terapêuticos úteis ao tratamento da DA, face à alta demanda por agentes dessa natureza, corrobora e atua em sinergia com os esforços governamentais para o desenvolvimento da indústria farmacêutica brasileira, cuja utilização de fontes de matérias-primas abundantes e economicamente viáveis no país possibilitará o pronto provimento à população, promovendo o desenvolvimento regional com diminuição de custos associados à distribuição de medicamentos importados. Adicionalmente, a inserção dos novos produtos para o tratamento da DA baseados nessa estratégia terapêutica, visa o retardamento das perturbações relacionadas a doença na população de idosos com redução nos recursos aplicados em saúde pública para esta patologia.

Além da indústria farmacêutica nacional, o desenvolvimento da cajucultura poderá ser um dos setores produtivos beneficiados pela proposta, principalmente na região Nordeste onde o cultivo do cajueiro representa uma atividade de elevada importância econômica e social.

A importância industrial do LCC é refletida em centenas de patentes inter-

nacionais e trabalhos publicados, envolvendo a sua caracterização e utilização. Essa versátil matéria-prima vem sendo empregada em diversos projetos de pesquisa com resultados promissores [33–40]. Recentemente, foram solicitados pedidos de patente nacional e internacional para derivados úteis como absorvedores de radiação ultravioleta a partir do LCC, cuja titularidade da propriedade intelectual é compartilhada entre a UCB (Universidade Católica de Brasília), a UnB (Universidade de Brasília) e a UFRJ (Universidade Federal do Rio de Janeiro) [41, 42].

Os compostos-alvo foram planejados a partir da estratégia de hibridação molecular de inibidores da enzima AChE de forma a gerar novos Padrões de Estrutura Molecular (PEM) pertencente a essa classe terapêutica. No nosso estudo investigaremos dois PEM: um composto por 15 moléculas derivados do cardanol com os grupos substituintes metila, acetila, *N,N*-dimetilcarbamoíla, *N,N*-dimetilamina, *N,N*-dietilamina, pirrolidina, piperidina e *N*-benzilamina (PEM2) e outro composto por 20 moléculas derivadas do cardanol substituindo os sítios da serina200 (S200) e do triptofano84 (W84) pelos anéis de 5 e 6 membros (PEM3).

1.2.1 Padrão de Estrutura Molecular 2 (PEM2)

O PEM2 envolve a hibridação molecular entre a subunidade farmacofórica primária da rivastigmina (a) e a subunidade farmacofórica secundária que compreende a cadeia alquílica lateral do acetato de espectralina (b) (Figura 1.3).

De modo a avaliar o perfil de reconhecimento molecular dos novos derivados foram planejadas algumas séries variando-se o padrão de substituição do grupo R para a hidroxila fenólica do cardanol bem como variação das aminas secundárias que compreende o reconhecimento molecular pelo resíduo Trp84 (triptofano84). Quanto aos substituintes do grupo fenólico foram planejadas três séries com: metila, acetila e *N,N*-dimetilcarbamoíla. Considerando as aminas secundárias foram selecionadas aminas alicíclicas e heterocíclicas tais como *N,N*-dimetilamina, *N,N*-dietilamina,

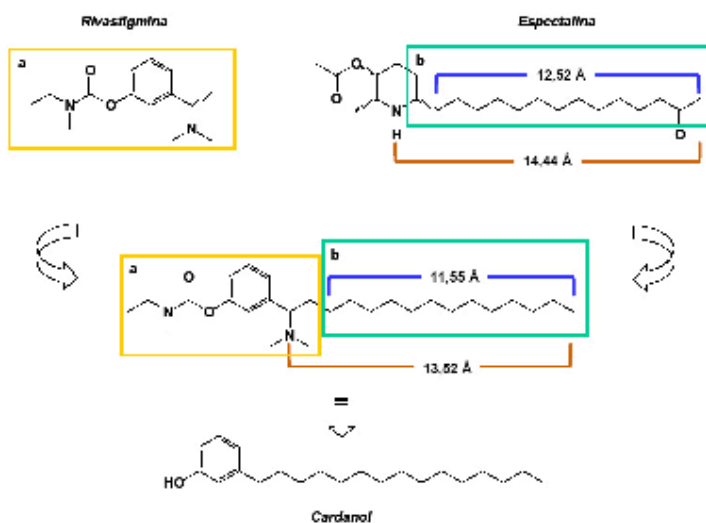


Figura 1.3: Planejamento estrutural de novos candidatos a AChEI do tipo PEM2.

pirrolidina e piperidina, visando estudar a liberdade conformacional destes compostos e aminas aromáticas como a *N*-metilbenzilamina, a qual apresenta um grupo aromático que pode interagir com o resíduo Trp84 (W84) ou Phe330 (F330) (Figura 1.4) através de interações T ou -stacking [43].

A partir destas variantes planejadas do cardanol (PEM2) (Figura 1.5) será feito um estudo de caracterização de padrões em relação a rivastigmina, um inibidor potencialmente ativo da AChE, para uma caracterização das possíveis estruturas no tratamento de DA. Este estudo foi dividido em duas partes, que se baseiam no cálculo das propriedades eletrônicas, tais como energias (HOMO-1, HOMO, LUMO, LUMO+1 e derivadas), distribuições de cargas (anel benzênico, oxigênio 56, carbono 11 e nitrogênio das aminas secundárias), Log-P entre outras dos derivados do cardanol e da rivastigmina. A primeira utilizou o nível de cálculo Hartree-Fock-Restrito [44] e várias bases diferentes, enquanto a segunda utilizou o método B3LYP com conjunto de funções de base: 6-31G, 6-31G (d) e 6-311+G(2d,p). Estes cálculos, foram realizados a partir das estruturas otimizadas com método semi-

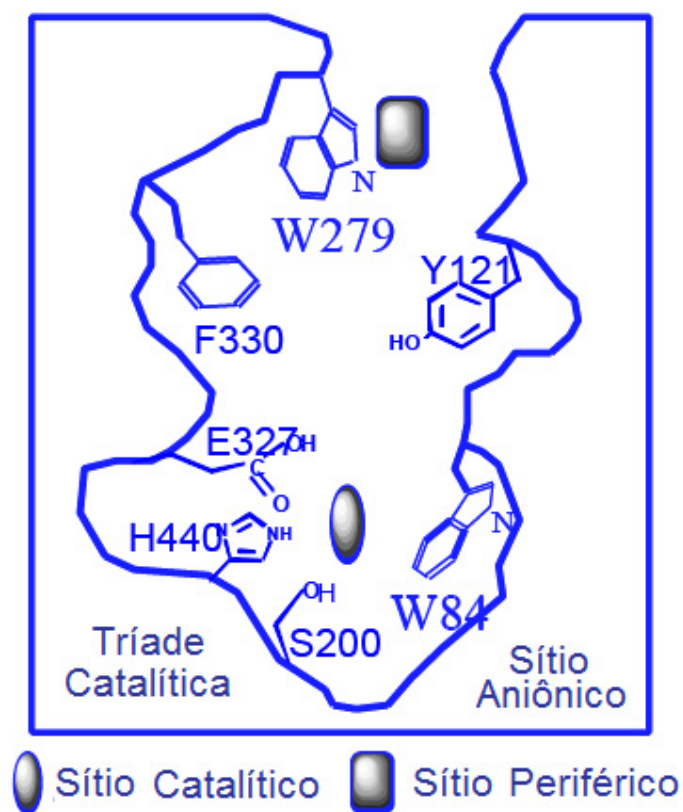


Figura 1.4: Estrutura parcial da enzima AChE mostrando a tríade catalítica.

empírico PM3 [45] provenientes da aproximação NDDO [46].

A partir da comparação dos resultados obtidos das estruturas PEM2 com os da rivastigmina foi possível: identificar quais grupos substituintes mais contribuirão para tornar os derivados do cardanol inibidores potencialmente ativos para o reconhecimento molecular dos compostos-alvo pela AChE, além de intensificarem os efeitos anticolinesterásicos, minimizando os possíveis efeitos indesejáveis.

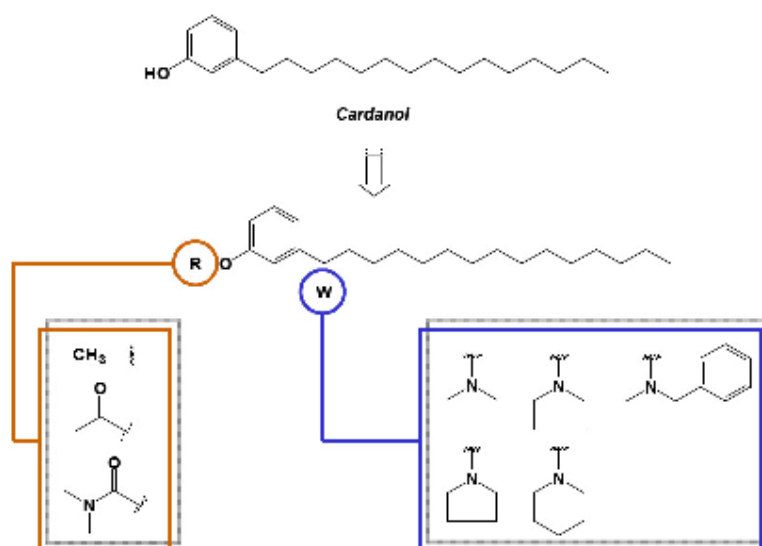


Figura 1.5: Variantes planejadas do cardanol com PEM2.

1.2.2 Padrão de Estrutura Molecular 3 (PEM3)

O PEM3 envolve a substituição dos sítios da serina200 (S200) e do triptofano84 (W84) pelos anéis de 5 a 6 membros (Figura 1.6). De modo a avaliar o perfil de reconhecimento molecular dos novos derivados do cardanol foram planejadas 20 compostos (Figura 1.7) usando o PEM3.

A partir do PEM3 (Figura 1.7) foi feito também um estudo de caracterização de padrões em relação a rivastigmina e aos dois compostos mais correlacionados com a rivastigmina advindos do PEM2, para uma mais completa caracterização das possíveis estruturas no tratamento de DA. Este estudo se baseia também no cálculo das mesmas propriedades eletrônicas para o composto do PEM2, Log-P, energia de hidratação, polarizabilidade e volume molar, utilizando o funcional B3LYP com o conjunto de funções de base: 6-31G, 6-31G (d) e 6-311+G(2d,p). Estes cálculos foram realizados a partir de estruturas otimizadas com método semi-empírico PM3 [45] provenientes da aproximação NDDO [46].

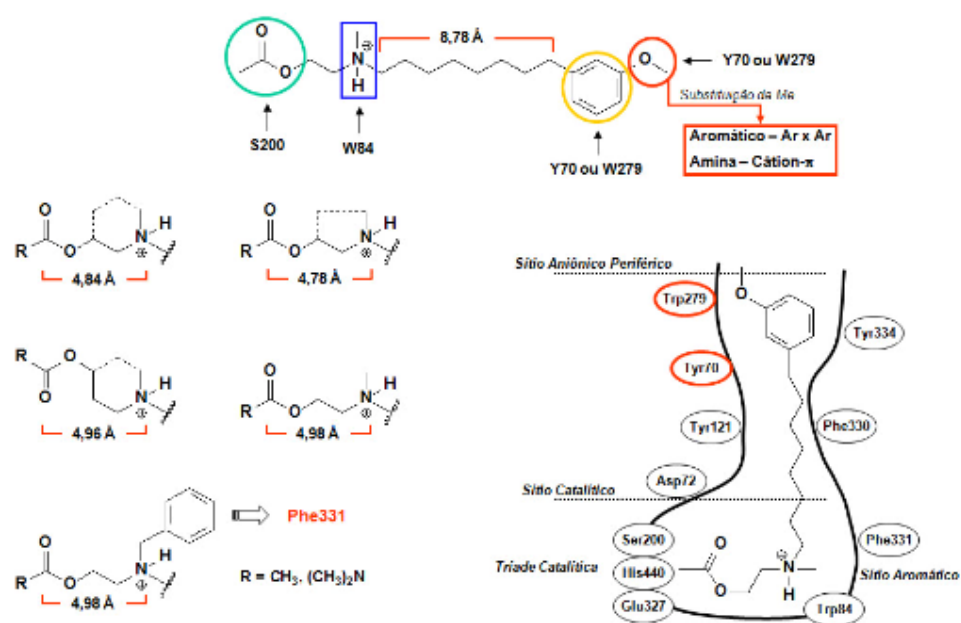


Figura 1.6: Planejamento do padrão de estrutura molecular 3

A partir da comparação dos resultados obtidos para os compostos do PEM3, rivastigmina, e as estruturas **11** e **13** do PEM2 foi também possível identificar quais moléculas do PEM3 que mais se correlacionam com a rivastigmina.

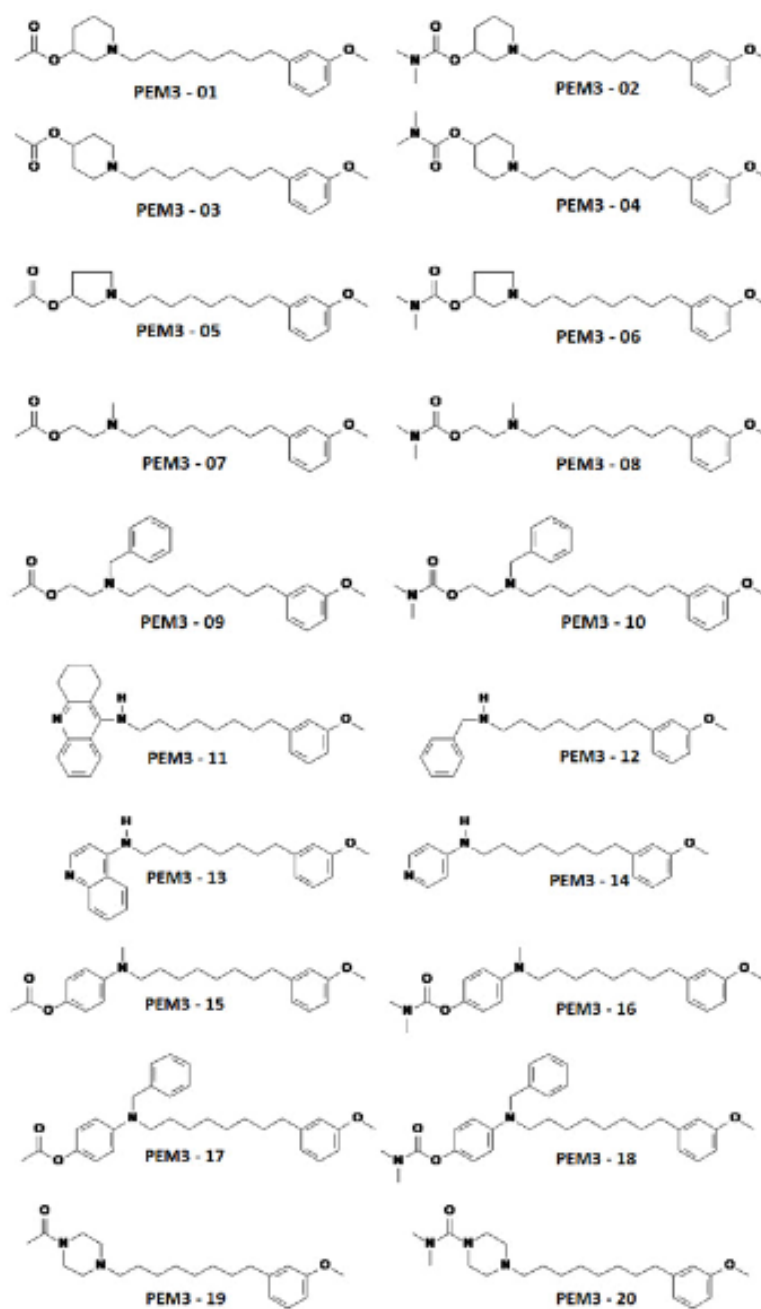


Figura 1.7: Compostos derivados do padrão de estrutura molecular 3

Capítulo 2

Metodologias

2.1 O Problema Molecular

Para descrever quanticamente um sistema molecular constituído por N elétrons e M núcleos, via equação de Schrödinger estacionária e sem correções relativísticas (em unidades atômicas), dada por:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (2.1)$$

com

$$\begin{aligned} \hat{H} = & - \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{A=1}^M \frac{Z_A}{r_{iA}} \\ & + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^{M-1} \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}, \end{aligned} \quad (2.2)$$

onde os índices i e j referem-se aos elétrons, e os índices A e B , aos núcleos. As massas dos núcleos são indicadas por M_A e as distâncias entre dois núcleos, entre

um núcleo e um elétron, e entre dois elétrons são, respectivamente, indicadas por R_{AB} , r_{Ai} e r_{ij} .

Infelizmente, a interação elétron-núcleo é forte, e por isso não pode ser desprezada. Desta forma, o termo $\sum_{A=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{Z_A}{r_{iA}}$, na expressão (2.2) não nos permite separar o hamiltoniano em uma parte eletrônica e outra nuclear. Desta forma, não é possível escrever a função de onda da molécula como um produto de duas funções de onda: uma nuclear e uma eletrônica.

A equação de Schrödinger molecular, com a hamiltoniana (2.2), é praticamente impossível de ser resolvida sem aproximações, mesmo utilizando métodos numéricos. Entretanto, sabemos que os núcleos são muito mais massivos que os elétrons, e por isso, estes últimos movem-se muito mais rápidos que os primeiros. Este fato permite escrever a função de onda da seguinte forma:

$$\Psi(\vec{r}, \vec{R}) = \phi(\vec{r}; \vec{R})\xi(\vec{R}), \quad (2.3)$$

onde $\phi(\vec{r}; \vec{R})$ representa a função de onda eletrônica, dependente apenas parametricamente das coordenadas nucleares, e $\xi(\vec{R})$ representa a função de onda nuclear. A equação (2.3) é conhecida como expansão adiabática [44].

Substituindo a expressão (2.3) na equação (2.1) e considerando que $\nabla_A \phi(\vec{r}, \vec{R})$ e $\nabla_A^2 \phi(\vec{r}, \vec{R})$ sejam iguais a zero, podemos desacoplar a equação de Schrödinger, com a hamiltoniana (2.2), em duas outras: uma eletrônica, e outra nuclear. Este desacoplamento é conhecido como Aproximação de Born-Oppenheimer (A.B.O.) [44]. Dentro da A.B.O. a equação eletrônica é dada por:

$$\left[\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{A=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{Z_A}{r_{Ai}} + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} \right] \phi(\vec{r}; \vec{R}) = \epsilon(\vec{R}) \phi(\vec{r}; \vec{R}), \quad (2.4)$$

A equação (2.4) deve ser resolvida para cada configuração nuclear, fornecendo assim um conjunto de funções de onda eletrônicas e suas respectivas energias.

A equação nuclear, dentro da A.B.O., é dada por

$$\left[\sum_{A=1}^M \frac{1}{2M_A} \nabla_A^2 + V(\vec{R}) \right] \xi(\vec{R}) = E \xi(\vec{R}), \quad (2.5)$$

onde

$$V(\vec{R}) = \sum_{A=1}^{M-1} \sum_{B>A}^M \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} + \epsilon(\vec{R}). \quad (2.6)$$

$V(\vec{R})$ representa a superfície de energia potencial (SEP), a qual governa o movimento dos núcleos do sistema molecular.

A equação de Schrödinger nuclear independente do tempo, equação 2.5, descreve a vibração, rotação e translação da molécula em estudo. As propriedades eletrônicas dos derivados do cardanol (PEM2 e PEM3) e da rivastigmina podem ser obtidas resolvendo a equação de Schrödinger eletrônica. Desta forma, descrevemos a seguir as metodologias utilizadas, neste trabalho, para resolver a equação 2.4

2.2 Solução da equação de Schrödinger eletrônica

Supondo que não haja interação entre os elétrons de uma molécula constituída por N elétrons, ou que aquela seja considerada sob uma forma média, o hamiltoniano eletrônico pode ser escrito da seguinte forma [44]:

$$\widehat{H}_e = \sum_{i=1}^N \widehat{h}(i), \quad (2.7)$$

onde $\widehat{h}(i)$ é o operador hamiltoniano do elétron i .

Assim, para uma dada configuração nuclear \vec{R} , a solução $\phi(\vec{r}; \vec{R})$ da equação eletrônica tem a forma:

$$\phi(\vec{r}) = \phi_1(\vec{r}_1)\phi_2(\vec{r}_2)\cdots\phi_N(\vec{r}_N). \quad (2.8)$$

As funções de onda $\phi_i(\vec{r}_i)$ são chamadas de orbitais espaciais moleculares, por tratar-se de elétrons em uma molécula, e descrevem a distribuição espacial dos elétrons.

Visto que a função de onda eletrônica $\phi(\vec{r})$ depende apenas das coordenadas espaciais dos elétrons, o movimento destes não é completamente descrito. É necessário especificarmos os *spins* dos elétrons e, para isso, vamos introduzir as funções de *spin* $\alpha(\omega)$ e $\beta(\omega)$, correspondentes a *spin - up* e *spin - down*, respectivamente, tais que:

$$\int \alpha^*(\omega)\alpha(\omega)d\omega = \int \beta^*(\omega)\beta(\omega)d\omega = 1, \quad (2.9)$$

$$\int \alpha^*(\omega)\beta(\omega)d\omega = \int \beta^*(\omega)\alpha(\omega)d\omega = 0, \quad (2.10)$$

onde ω é uma variável de *spin*.

Utilizando as funções de *spin* $\alpha(\omega)$ e $\beta(\omega)$, e adotando a seguinte notação

$$x = \{\vec{r}, \omega\} \quad (2.11)$$

Podemos escrever, a função de onda eletrônica $\phi(\vec{r})$ como:

$$\phi(\vec{x}) = \chi_1(\vec{x}_1)\chi_2(\vec{x}_2)\cdots\chi_N(\vec{x}_N), \quad (2.12)$$

a qual é conhecida como produto de Hartree [44]. A variável x_i representa o conjunto de coordenadas espaciais e de *spin* do i -ésimo elétron. As funções de onda

$\chi_i(x_i)$ são chamadas de orbitais de *spin* moleculares e descrevem a distribuição espacial e o *spin* dos elétrons.

Para cada orbital espacial molecular, podemos formar dois orbitais de *spin* moleculares:

$$\chi(\vec{x}) = \begin{cases} \phi(\vec{r})\alpha(\omega) \\ \text{ou} \\ \phi(\vec{r})\beta(\omega). \end{cases} \quad (2.13)$$

Como o hamiltoniano do sistema não faz referência ao *spin*, a introdução da dependência do *spin* na solução da equação de Schrödinger eletrônica não é suficiente para uma completa descrição da dinâmica eletrônica. O caráter fermiônico dos elétrons exige que a função de onda eletrônica obedeça a um princípio independente da mecânica quântica, o princípio da anti-simetria [44].

Esse princípio diz que a função de onda $\phi(x)$ deve ser anti-simétrica com respeito a troca das coordenadas x de quaisquer dois elétrons, ou seja,

$$\phi(x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_j, \dots, x_N) = -\phi(x_1, x_2, \dots, x_j, \dots, x_i, \dots, x_N). \quad (2.14)$$

O produto de Hartree, dado pela equação (2.12), não leva em consideração a indistinguibilidade dos elétrons ao especificar claramente qual orbital de cada elétron ocupa, além de não satisfazer o princípio da anti-simetria. Porém, é fácil notar que uma função de onda $\phi(x)$ do tipo:

$$\phi(x) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_1(x_1) & \chi_2(x_1) & \cdots & \chi_N(x_1) \\ \chi_1(x_2) & \chi_2(x_2) & \cdots & \chi_N(x_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(x_N) & \chi_2(x_N) & \cdots & \chi_N(x_N) \end{vmatrix} \quad (2.15)$$

satisfaz esse princípio, além de não fazer distinção entre os elétrons. O fator $\frac{1}{\sqrt{N!}}$ é um fator de normalização da função de onda $\phi(x)$. O determinante dos orbitais de *spin* moleculares é chamado de determinante de Slater [44]. A equação (2.15) pode ser reescrita usando a seguinte notação:

$$\phi(x) = |\chi_1(x_1)\chi_2(x_2)\cdots\chi_N(x_N)\rangle, \quad (2.16)$$

ou, ainda:

$$\phi(x) = |\chi_1\chi_2\cdots\chi_N\rangle. \quad (2.17)$$

2.3 A Aproximação de Hartree-Fock

A função de onda mais simples, que leva em consideração o princípio da anti-simetria, para descrever o estado fundamental de uma molécula com N elétrons pode ser expressa da seguinte forma:

$$|\phi_0\rangle = |\chi_1\chi_2\cdots\chi_N\rangle. \quad (2.18)$$

Definido o funcional energia a partir da equação de Schrödinger eletrônica,

$$\epsilon_0[\chi_i] = \langle\phi_0|H_e|\phi_0\rangle, \quad (2.19)$$

sujeito ao vínculo de os orbitais de *spin* moleculares serem ortonormais

$$\langle\chi_i|\chi_j\rangle = \int \chi_i^*(x_i)\chi_j(x_i)dx_i, \quad (2.20)$$

o método variacional diz que a melhor aproximação para a solução $|\phi_0\rangle$ da equação de Schrödinger eletrônica é a função de onda $|\tilde{\phi}_0\rangle$ que minimiza a energia ϵ_0 . A fim de encontrarmos esta função de onda $|\tilde{\phi}_0\rangle$, utilizaremos o método dos multiplicadores de Lagrange [44]. Desta forma, podemos definir o seguinte funcional:

$$L[\chi_i] = \epsilon_0[\chi_i] - \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \lambda_{ij} (\langle \chi_i | \chi_j \rangle - \delta_{ij}), \quad (2.21)$$

onde λ_{ij} são os multiplicadores de Lagrange, e o valor esperado para a energia ϵ_0 é dado por:

$$\begin{aligned} \epsilon_0[\chi_i] = & \sum_{i=1}^N \langle \chi_i | \hat{h}(x_i) | \chi_i \rangle + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \left[\iint \chi_i^*(x_1) \chi_i(x_1) r_{12}^{-1} \chi_j^*(x_2) \chi_j(x_2) dx_1 dx_2 \right. \\ & \left. - \iint \chi_i^*(x_1) \chi_j(x_1) r_{12}^{-1} \chi_j^*(x_2) \chi_i(x_2) dx_1 dx_2 \right]. \end{aligned} \quad (2.22)$$

Variando infinitesimalmente os orbitais de *spin* moleculares, obtemos:

$$\delta L = \delta \epsilon_0 - \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \lambda_{ij} \delta \langle \chi_i | \chi_j \rangle \quad (2.23)$$

e impondo a condição:

$$\delta L = 0, \quad (2.24)$$

obtemos a equação de Hartree-Fock:

$$\begin{aligned} h(x_1) \chi_i(x_1) + \sum_{j \neq i} \left[\int \chi_j^*(x_2) r_{12}^{-1} \chi_j(x_2) dx_2 \right] \chi_i(x_1) \\ - \sum_{j \neq i} \left[\int \chi_j^*(x_2) r_{12}^{-1} \chi_j(x_2) dx_2 \right] \chi_j(x_1) = \epsilon_i \chi_i(x_i), \end{aligned} \quad (2.25)$$

onde

$$h(x_1) = -\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_A \frac{Z_A}{r_{1A}} \quad (2.26)$$

é o hamiltoniano de um único elétron (no caso, o elétron 1) interagindo apenas com os núcleos da molécula.

Introduzindo os operadores de Coulomb e de troca, J_j e K_j respectivamente, tais que:

$$J_j(x_1)\chi_i(x_1) = \left[\int \chi_j^*(x_2)r_{12}^{-1}\chi_j(x_2)dx_2 \right] \chi_i(x_1), \quad (2.27)$$

$$K_j(x_1)\chi_i(x_1) = \left[\int \chi_j^*(x_2)r_{12}^{-1}\chi_j(x_2)dx_2 \right] \chi_j(x_1), \quad (2.28)$$

a equação (2.25) pode ser escrita como:

$$\left[h(x_1) + \sum_{j \neq i} J_j(x_1) - \sum_{j \neq i} K_j(x_1) \right] \chi_i(x_1) = \epsilon_i \chi_i(x_1), \quad (2.29)$$

Sabendo que,

$$[J_i(x_1) - K_i(x_1)] \chi_i(x_1) = 0, \quad (2.30)$$

logo, podemos remover a restrição $j \neq i$ dos somatórios em (2.29) e, introduzindo o operador de Fock f , finalmente podemos escrever a equação de Hartree-Fock simplesmente como uma equação de autovalor:

$$f(x_1)\chi_i(x_1) = \epsilon_i \chi_i(x_1), \quad (2.31)$$

onde,

$$f(x_1) = h(x_1) + \nu^{HF}(x_1) \quad (2.32)$$

e

$$\nu^{HF}(x_1) = \sum_j [J_j(x_1) - K_j(x_1)]. \quad (2.33)$$

O operador ν^{HF} é chamado potencial de Hartee-Fock.

Como visto anteriormente em 2.12 o orbital de *spin* $\chi_i(\vec{x}_i)$ pode ter outras duas funções de *spin* α ou β

$$\chi_i(\vec{x}) = \begin{cases} \phi_j(\vec{r})\alpha(\omega) \\ \text{ou} \\ \phi_j(\vec{r})\beta(\omega). \end{cases} \quad (2.34)$$

Assumindo a função de *spin* α e aplicando na equação Hartree-fock (2.31) (os resultados para função de *spin* β são idênticos), temos.

$$f(x_1)\phi_j(\vec{r}_1)\alpha(\omega_1) = \epsilon_j\phi_j(\vec{r}_1)\alpha(\omega_1), \quad (2.35)$$

onde ϵ_j , é a energia do orbital espacial ϕ_j idêntica a ϵ_i , energia do orbital de *spin* χ_i . Multiplicando pela esquerda a equação 2.35 por $\alpha^*(\omega_1)$ e integrando nos *spin* temos:

$$\left[\int d\omega_1 \alpha^*(\omega_1) f(\vec{x}_1) \alpha(\omega_1) \right] \phi_j(\vec{r}_1) = \epsilon_j \phi_j(\vec{r}_1). \quad (2.36)$$

Escrevendo o operador de Fock do orbital de *spin* e substituindo na equação (2.36), temos:

$$f(\vec{x}_1) = h(\vec{r}_1) + \sum_m^N \int d\vec{x}_2 \chi_m^*(\vec{x}_2) r_{12}^{-1} (1 - \wp_{12}) \chi_m(\vec{x}_2) \quad (2.37)$$

onde \wp é o operador de troca de *spin*, de modo que a equação (2.36) se torna

$$\begin{aligned} f(\vec{r}_1) \phi(\vec{r}_1) &= h(\vec{r}_1) \phi(\vec{r}_1) + \sum_m^N \int d\omega_1 d\vec{x}_2 \alpha^*(\omega_1) \chi_m^*(\vec{x}_2) r_{12}^{-1} \chi_m(\vec{x}_2) \alpha(\omega_1) \phi(\vec{r}_1) \\ &\quad - \sum_m^N \int d\omega_1 d\vec{x}_2 \alpha^*(\omega_1) \chi_m^*(\vec{x}_2) r_{12}^{-1} \chi_m(\vec{x}_1) \alpha(\omega_2) \phi(\vec{r}_2) \end{aligned} \quad (2.38)$$

onde o operador $f(\vec{r}_1)$ é o operador de Fock camada fechada, dado por

$$f(\vec{r}_1) = \int d\omega_1 \alpha^*(\omega_1) f(\vec{x}_1) \alpha(\omega_1). \quad (2.39)$$

Agora, para camada fechada, a integração dos orbitais de *spin* ocupados inclui uma soma igual longo para as funções de *spin* α e β , ou seja:

$$\sum_m^N \rightarrow \sum_m^{N/2} + \sum_m^{N/2}. \quad (2.40)$$

Com a equação (2.40), podemos escrever

$$\begin{aligned}
& f(\vec{r}_1)\phi(\vec{r}_1) = h(\vec{r}_1)\phi(\vec{r}_1) \\
& + \sum_m^{N/2} \int d\omega_1 d\omega_2 d\vec{r}_2 \alpha^*(\omega_1) \phi_m^*(\vec{r}_2) \alpha^*(\omega_2) r_{12}^{-1} \phi_m(\vec{r}_2) \alpha(\omega_2) \alpha(\omega_1) \phi_j(\vec{r}_1) \\
& + \sum_m^{N/2} \int d\omega_1 d\omega_2 d\vec{r}_2 \alpha^*(\omega_1) \phi_m^*(\vec{r}_2) \beta^*(\omega_2) r_{12}^{-1} \phi_m(\vec{r}_2) \beta(\omega_2) \alpha(\omega_1) \phi_j(\vec{r}_1) \\
& - \sum_m^{N/2} \int d\omega_1 d\omega_2 d\vec{r}_2 \alpha^*(\omega_1) \phi_m^*(\vec{r}_2) \alpha^*(\omega_2) r_{12}^{-1} \phi_m(\vec{r}_1) \alpha(\omega_1) \alpha(\omega_2) \phi_j(\vec{r}_2) \\
& - \sum_m^{N/2} \int d\omega_1 d\omega_2 d\vec{r}_2 \alpha^*(\omega_1) \phi_m^*(\vec{r}_2) \beta^*(\omega_2) r_{12}^{-1} \phi_m(\vec{r}_1) \beta(\omega_1) \alpha(\omega_2) \phi_j(\vec{r}_2).
\end{aligned} \tag{2.41}$$

Podemos agora realizar as integrações dos *spin*, integrando em $d(w_1)$ e $d(w_2)$. O último termo da equação 2.41 desaparece por causa da ortogonalidade do *spin*. Isto reflete o fato de existir apenas uma troca de interação entre os elétrons de *spin* paralelo. O dois termos de coulomb são iguais e, assim, obtemos

$$\begin{aligned}
f(\vec{r}_1)\phi(\vec{r}_1) = h(\vec{r}_1)\phi(\vec{r}_1) + & \left[2 \sum_m^{N/2} \int d\vec{r}_2 \phi_m^*(\vec{r}_2) r_{12}^{-1} \phi_m(\vec{r}_2) \right] \phi_j(\vec{r}_1) \\
& - \left[\sum_m^{N/2} \int d\vec{r}_2 \phi_m^*(\vec{r}_2) r_{12}^{-1} \phi_m(\vec{r}_1) \right] \phi_j(\vec{r}_2)
\end{aligned} \tag{2.42}$$

Trocando os índices m por a , o operador de fock de camada fechada tem a forma,

$$f(\vec{r}_1) = h(\vec{r}_1) + \sum_a^{N/2} \int d\vec{r}_2 \phi_a^*(\vec{r}_2) (2 - \wp_{12}) r_{12}^{-1} \phi_a(\vec{r}_2) \tag{2.43}$$

equivalentemente pode ser escrita

$$f(1) = h(1) + \sum_a^{N/2} 2J_a(1) - K_a(1), \quad (2.44)$$

onde os operadores de troca e coulomb de camada fechada são definidos por

$$J_a(1) = \int d\vec{r}_2 \phi_a^*(\vec{r}_2) r_{12}^{-1} \phi_a(\vec{r}_2) \quad (2.45)$$

$$K_a(1)\phi_i(1) = \left[\int d\vec{r}_2 \phi_a^*(\vec{r}_2) r_{12}^{-1} \phi_i(\vec{r}_2) \right] \phi_a(1). \quad (2.46)$$

Estas equações são análogas a aquelas dos orbitais de *spin*, exeto pelo fator 2 que aparece no operador de coulomb. A soma da equação (2.43) é, naturalmente, ao longo dos $N/2$ orbitais ocupados. A equação espacial de Hartree-Fock camada fechada, fica

$$f(1)\phi_j(1) = \varepsilon_j \phi_j(1). \quad (2.47)$$

A energia proveniente da equação de Hartree-Fock-Restrito (camada fechada) para um elétron, com a parte de *spin* integrada, pode ser escrita como:

$$\varepsilon_i = \langle i|h|i \rangle + \sum_{j=1}^{N/2} 2 \langle ij|ij \rangle - \langle ij|ji \rangle \quad (2.48)$$

ou

$$\varepsilon_i = h_{ii} + \sum_{j=1}^{N/2} 2J_{ij} - K_{ij}. \quad (2.49)$$

Somando todas as energias dos orbitais espaciais, temos

$$\sum_{i=1}^{N/2} \varepsilon_i = \sum_{i=1}^{N/2} h_{ii} + \sum_{i=1}^{N/2} \sum_{j=1}^{N/2} 2J_{ij} - K_{ij}, \quad (2.50)$$

a qual é diferente da energia total do sistema, que é dada por,

$$E_0 = 2 \sum_{i=1}^{N/2} h_{ii} + \sum_{i=1}^{N/2} \sum_{j \neq i}^{N/2} 2J_{ij} - K_{ij}. \quad (2.51)$$

Substituindo 2.50 na equação 2.51, podemos escrever a energia E_0 como

$$E_0 = \sum_{i=1}^{N/2} (h_{ii} + f_{ii}) = \sum_{i=1}^{N/2} (h_{ii} + \varepsilon_i). \quad (2.52)$$

2.3.1 Introdução das bases nas equações espaciais

Com as integrais de *spin* eliminadas, o cálculo de orbitais moleculares será apenas na parte espacial.

A equação de Hartree-Fock (2.47) é uma equação não-linear, visto que o operador de Fock depende de suas autofunções, e deve ser resolvida iterativamente.

Segundo a contribuição de Roothaan [47], introduzindo um conjunto de funções base espacial conhecidas, a equação diferencial pode ser convertida para um conjunto de equações algébricas e resolvidas por técnicas de matriz padrão.

Estamos, portanto, introduzindo um conjunto de K conhecidas funções de base $\{\psi_\mu(\vec{r}) \mid \mu = 1, 2, \dots, K\}$ e expandindo os desconhecidos orbitais moleculares numa expansão linear, tal como:

$$\phi_i = \sum_{\mu=1}^K C_{\mu i} \psi_\mu \quad i = 1, 2, \dots, K \quad (2.53)$$

em que, $C_{\mu i}$ são os coeficientes das K funções de bases a serem determinadas.

Se o conjunto $\{\psi_\mu\}$ fosse completo, esta seria uma expansão exata, e qualquer conjunto completo $\{\psi_\mu\}$ poderia ser utilizado. Infelizmente, este é sempre restrito, por razões práticas computacionais, as K funções de base são um conjunto finito. Como tal, é importante escolher uma base que irá proporcionar, tanto quanto for possível, uma expansão suficientemente “exata” para orbitais moleculares $\{\phi_i\}$, particularmente, para os orbitais moleculares $\{\phi_i\}$ que estão ocupados em $|\Phi_0\rangle$ e determinar o estado fundamental da energia E_0 . As funções mais utilizadas para estudos de sistemas moleculares são as funções do tipo gaussianas, que são definidas pela equação 2.54 como:

$$\psi(x, y, z)_\mu = \aleph x^l y^m z^n e^{-\alpha r^2} \quad (2.54)$$

em que, l , m e n são número inteiros que combinados representam as funções do tipo s , p , d e f , $r = (x^2 + y^2 + z^2)^{-1/2}$ e \aleph é uma constante de normalização.

Nosso problema do cálculo orbitais moleculares de Hartree-Fock se reduz ao cálculo dos coeficientes de expansão $C_{\mu i}$. Podemos obter uma matriz $C_{\mu i}$ substituindo a expansão linear da Eq. (2.53) na equação Hartree-Fock (2.47), ou seja,

$$f(1) \sum_{\mu}^K C_{\mu i} \psi_{\mu}(1) = \epsilon_i \sum_{\mu}^K C_{\mu i} \psi_{\mu}(1). \quad (2.55)$$

Multiplicando $\psi_{\nu}^*(1)$ pelo lado esquerdo e integrando, nos transformamos a equação diferencial numa equação matricial.

$$\sum_{\mu}^K C_{\mu i} \int d\vec{r}_1 \psi_{\nu}^*(1) f(1) \psi_{\mu}(1) = \epsilon_i \sum_{\mu}^K C_{\mu i} \int d\vec{r}_1 \psi_{\nu}^*(1) \psi_{\mu}(1), \quad (2.56)$$

identificando $S_{\nu\mu} = \int d\vec{r}_1 \psi_{\nu}^*(1) \psi_{\mu}(1)$, uma matriz hermitiana (assumimos as funções de bases $\{\psi_{\mu}\}$ ortogonais), e a matriz $F_{\nu\mu} = \int d\vec{r}_1 \psi_{\nu}^*(1) f(1) \psi_{\mu}(1)$,

também Hermitiana, podemos reescrever a equação de Hartree-Fock na forma matricial como

$$\sum_{\mu}^K F_{\nu\mu} C_{\mu i} = \epsilon_i \sum_{\mu}^K S_{\nu\mu} C_{\mu i} \quad i = 1, 2, \dots, K, \quad (2.57)$$

ou simplesmente

$$\mathbf{FC} = \epsilon \mathbf{SC}. \quad (2.58)$$

Para resolver a equação (2.58) utiliza-se o método SCF (do inglês “*Self Consistent Field*” / Campo Auto-Consistente) [44], pois o operador de *Fock* depende dos coeficientes $\{C_i\}$, ou seja, $\mathbf{F} = \mathbf{F}(\mathbf{C})$. Este método consiste basicamente em :

- 1) Dado um conjunto inicial $\{C_i\}$, constrói-se a matriz \mathbf{F} ;
- 2) Resolve-se a equação 2.58 e obtém-se um conjunto de coeficientes $\{C'_i\}$ e autovalores $\{\epsilon'\}$;
- 3) Monta-se uma nova matriz \mathbf{F} e repete-se o processo. A convergência pode ser testada na comparação das energias ou das matrizes \mathbf{C} de duas interações sucessivas.

Na prática, soluções exatas para a equação (2.47) são possíveis apenas para átomos.

A essência da aproximação de Hartree-Fock (AHF) está no fato de considerarmos que cada elétron de um átomo, ou de uma molécula, interage com os outros por meio de um campo médio. Utilizando a AHF (Aproximação de Hartree-Fock) é possível obter até 99% da energia do estado fundamental no cálculo de estrutura eletrônica molecular. Para a obtenção do restante dessa energia, de extrema importância no estudo de muitas propriedades químicas das moléculas, é

necessária a utilização de métodos mais precisos, que incluam os efeitos da correlação eletrônica [44]. Entretanto, a importância da AHF não se reduz, já que a maioria dos métodos utilizados na busca dessa energia restante tem a AHF como ponto de partida, os chamados métodos pós Hartree-Fock. Além do método Hartree-Fock, utilizou-se nos resultados obtidos neste trabalho, o método de funcional densidades híbrido B3LYP [48–50]

A base dos métodos híbridos vem da combinação dos funcionais “DFT puros” [51] com o modelo de Hartree-Fock para o termo de troca. Desta forma, o funcional híbrido de troca de Becke [49] chamado B3, combinado com o funcional de correlação, denominado LYP (Lee, Yang e Parr) [50], é conhecido como método B3LYP

2.4 Análise de componentes principais

O problema de muitos dados é comum em diversas áreas da ciência e tecnologia, onde encontramos sistemas com muitas variáveis, em que todas precisam ser analisadas. O homem possui capacidade de realizar este tipo de análise, uma vez que toda nossa aprendizagem está relacionada com a capacidade cerebral de identificar, isolar, associar objetos concretos e conceitos de forma a definir padrões. Essa capacidade humana é tema de pesquisas recentes. Bons exemplos são as redes neurais [52–56] e a inteligência artificial [57].

Para um estudo de dados multivariados, existem inúmeras técnicas disponíveis na literatura [58], desta forma é necessária uma escolha cautelosa, pois cada método tem suas peculiaridades que podem trazer dificuldades na análise final dos dados. Existe uma diferença marcante entre os métodos, que podem ser classificados em dois grupos: os das “variável-dirigidas” onde o relevante, durante a análise, é a relação entre as variáveis, e os “indivíduo-dirigidas” que aborda principalmente as relações

entre os indivíduos.

O papel principal da análise multivariada é reduzir a grande quantidade de dados para um número menor de parâmetros significativos, para fornecer uma visão estatisticamente privilegiada do conjunto de dados. Por exemplo, em um composto orgânico, são necessários diferentes tipos de dados para determinação de algum processo de atividade biológica, como as energias dos orbitais LUMO e HOMO, a densidade de estados, o calor de formação, entre outros. Então, para realizar uma análise, nos perguntamos: quais desses dados são, ou não, relevantes para o processo? Para isso, escolhemos um método estatístico de análise multivariada, como a análise das componentes principais (PCA do inglês “*Principal Component Analysis*”) [58,59].

Para examinar as relações entre um conjunto de variáveis correlacionadas, transformamos o conjunto de variáveis originais para um conjunto de variáveis não correlacionadas, chamadas componentes principais (PC do inglês “*principal components*”). A técnica para obter as componentes principais é chamada PCA. As componentes principais são obtidas em ordem decrescente de importância, pois a primeira componente é a combinação linear das variáveis com maior variância nos dados originais.

A PCA foi desenvolvida por Karl Pearson [60] início do século XX, e aperfeiçoada em 1930 por Harold Hotelling e colaboradores [61]. Em resumo, o objetivo desta técnica é verificar se algumas poucas componentes principais respondem pela maior parte das variáveis originais. Se isso ocorre, a dimensionalidade efetiva do problema é drasticamente reduzida se comparada com a dimensionalidade original. Em outras palavras, muitas das variáveis originais estavam correlacionadas. Assim poucas componentes são realmente significativas, podendo ajudar-nos na melhor compreensão dos dados que serão úteis nas análises subsequentes, uma vez que trabalharemos com um número muito menor de dados.

2.4.1 Cálculo das componentes principais e suas respectivas variâncias

Vamos descrever o nosso conjunto de dados constituído por N indivíduos (estruturas) caracterizados por M variáveis (propriedades das estruturas) do tipo medidas quantitativas. Este grupo de dados conduz a um quadro de partida não-simétrico X cujo termo geral x_{nm} representa o valor tomado pela m -ésima variável no indivíduo n .

	Variável 1	Variável 2	...	Variável M
Indivíduo 1	x_{11}	x_{12}	...	x_{1M}
Indivíduo 2	x_{21}	x_{22}	...	x_{2M}
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
Indivíduo N	x_{N1}	x_{N2}	...	x_{NM}

Tabela 2.1: Matriz do conjunto de dados iniciais. As linhas representam os indivíduos (*indivíduos n*) e as colunas as variáveis (*variáveis m*).

Frequentemente é necessária uma modificação do quadro de partida, quando a dispersão das variáveis é muito diferente ou quando as variáveis diferem quanto à sua natureza sendo expressas em unidades de medida não comparáveis. Para ultrapassar este problema vamos fazer um tratamento dos dados iniciais, reduzindo as variáveis, ou seja, tornando-as adimensionais com média nula e variância unitária.

O termo geral do conjunto de dados modificado, é dado por:

$$y_{nm} = \frac{x_{nm} - \bar{x}_m}{\sigma_m}, \quad (2.59)$$

onde \bar{x}_m é a média aritmética dos valores tomados pela variável m e σ_m é o desvio padrão da variável m , ou seja,

$$\bar{x}_m = \frac{\sum_{n=1}^N x_{nm}}{N}, \quad (2.60)$$

e

$$\sigma_m = \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^N (x_{nm} - \bar{x}_m)^2}{N - 1}}, \quad N \neq 1. \quad (2.61)$$

A partir deste tratamento inicial dos dados podemos chegar à matriz de covariância $C(Y)$, encontrada a partir do produto da matriz transposta \mathbf{Y}^T pela matriz \mathbf{Y} , formando uma matriz simétrica com ordem $M \times M$,

$$C(Y)_{M \times M} = Y_{M \times N}^T Y_{N \times M}, \quad (2.62)$$

ou simplesmente

$$C(Y) = Y^T Y, \quad (2.63)$$

com

$$C(Y) = \begin{pmatrix} c_{11} & c_{12} & \cdots & c_{1M} \\ c_{21} & c_{22} & \cdots & c_{2M} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ c_{M1} & c_{M2} & \cdots & c_{MM} \end{pmatrix}. \quad (2.64)$$

O termo geral da matriz de covariância fica:

$$c_{mm'} = \sum_{n=1}^N \left(\frac{x_{nm} - \bar{x}_m}{\sigma_m} \right) \left(\frac{x_{nm'} - \bar{x}_{m'}}{\sigma_{m'}} \right), \quad (2.65)$$

onde $c_{mm'}$, para $m \neq m'$, representa a covariância da variável m com a variável m' e para $m = m'$ representa a variância da variável m .

A matriz $C(Y)$ capta as correlações entre todos os pares de variáveis possíveis. Os termos da diagonal principal de $C(Y)$ representam a variância de um tipo particular de variável. Quanto maior os valores da diagonal principal maior será a nossa variância, que é uma medida da sua dispersão estatística, indicando quão longe em geral os seus valores se encontram do valor esperado. Os termos de fora da diagonal de $C(Y)$ são os termos da covariância (covariância é definida como uma medida de como duas variáveis variam conjuntamente) entre os termos da medição. Quanto menor o valor de um termo de fora da diagonal principal menor será a correlação entre duas variáveis. Então temos que maximizar os termos da diagonal principal e minimizar os de fora dela, como as covariâncias não podem ser negativas, então o ótimo dessa situação é diagonalizar esta matriz. Para fazer isto da maneira mais fácil, o método escolhido por PCA é considerar que a matriz P (matriz formada pelas componentes principais) seja formada por vetores de base ortogonais. Ou seja, a matriz P é uma matriz ortogonal. Para encontrarmos P , basta calcularmos os autovetores da matriz $C(Y)$ onde cada autovetor são os coeficientes de uma PC relacionada a um autovalor que é a variância desta componente principal. Então para termos a componente de maior relevância basta encontrar o autovetor do maior autovalor. Numa visão mais simples, funciona como uma rotação generalizada para alinhar a base com a máxima variância do eixo, tal como

$$PC = PV, \quad (2.66)$$

onde a matriz P , de dimensão $M \times M$, contém M vetores dispostos em colunas, cada um com comprimento M , que representam os M autovetores da matriz de covariância C . Os autovalores e autovetores estão ordenados e pareados. O m -ésimo autovalor corresponde ao m -ésimo autovetor. Vamos reordenar os autovalores

e autovetores mantendo a mesma relação entre eles. Colocando a matriz V , dos autovalores, em ordem decrescente de autovalor. Assim teremos,

$$V = \begin{pmatrix} \text{Variância da PC1} & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & \text{Variância da PC2} & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & \text{Variância da PCM} \end{pmatrix} \quad (2.67)$$

onde $\text{Variância da PC1} \geq \text{Variância da PC2} \geq \cdots \geq \text{Variância da PCM}$.

Mantendo a mesma relação para a matriz P , teremos,

$$P = \begin{pmatrix} p_{11} & p_{12} & \cdots & p_{1M} \\ p_{21} & p_{22} & \cdots & p_{2M} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ p_{M1} & p_{M2} & \cdots & p_{MM} \end{pmatrix}, \quad (2.68)$$

onde os elementos de cada vetor coluna da matriz P são os coeficientes de uma CP. Assim temos,

	<i>PC1</i>	<i>PC2</i>	<i>...</i>	<i>PCM</i>
<i>Peso da variável 1</i>	p_{11}	p_{12}	\cdots	p_{1M}
<i>Peso da variável 2</i>	p_{21}	p_{22}	\cdots	p_{2M}
\vdots	\vdots	\vdots	\ddots	\vdots
<i>Peso da variável M</i>	p_{M1}	p_{M2}	\cdots	p_{MM}

(2.69)

então o termo geral de uma PC é construído a partir dos autovetores,

$$PCm' = \sum_{m=1}^M y_{mm'} * p_{mm'}. \quad (2.70)$$

Estes cálculos foram implementados em um programa que desenvolvemos durante a realização deste trabalho. O programa foi largamente testado e comparado com o Ein*Sight [62]. No momento o programa está sendo aperfeiçoado para, em seguida, ser disponibilizado numa interface mais amigável.

Capítulo 3

Resultados e discussões

Neste capítulo, descrevemos os primeiros resultados teóricos, via cálculos de estrutura eletrônica, de candidatos a inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) planejados a partir dos lipídeos fenólicos não isoprenóides do cajueiro (*Anacardium occidentale*). Os resultados dos derivados do cardanol são separados em dois padrões de estruturas moleculares (PEM2 e PEM3) e são apresentados nas seções seguintes.

3.1 Padrão de Estrutura Molecular 2 (PEM2)

As geometrias das estruturas criadas a partir do PEM2 foram otimizadas, via métodos semi-empíricos PM3 (do inglês “*Parametric Method Number 3*”) [45] e AM1 (do inglês “*Austin Model 1*”) [63], incluindo a análise conformacional para determinar as geometrias de menor energia, das séries obtidas variando-se o padrão de proteção da hidroxila fenólica do cardanol (radical “R1” da Figura 3.1) com grupos metila (1), acetila (2) e *N,N*-dimetilcarbomoíla (3), bem como as variações contendo aminas secundárias como substituintes no carbono benzílico da cadeia lateral (radical “R2” da Figura 3.1). São consideradas 5 aminas secundárias: *N,N*-dimetilamina

(1), *N,N*-dietilamina (2), pirrolidina (3), piperidina (4) e *N*-benzilamina (5), como demonstrado na Figura 3.1.

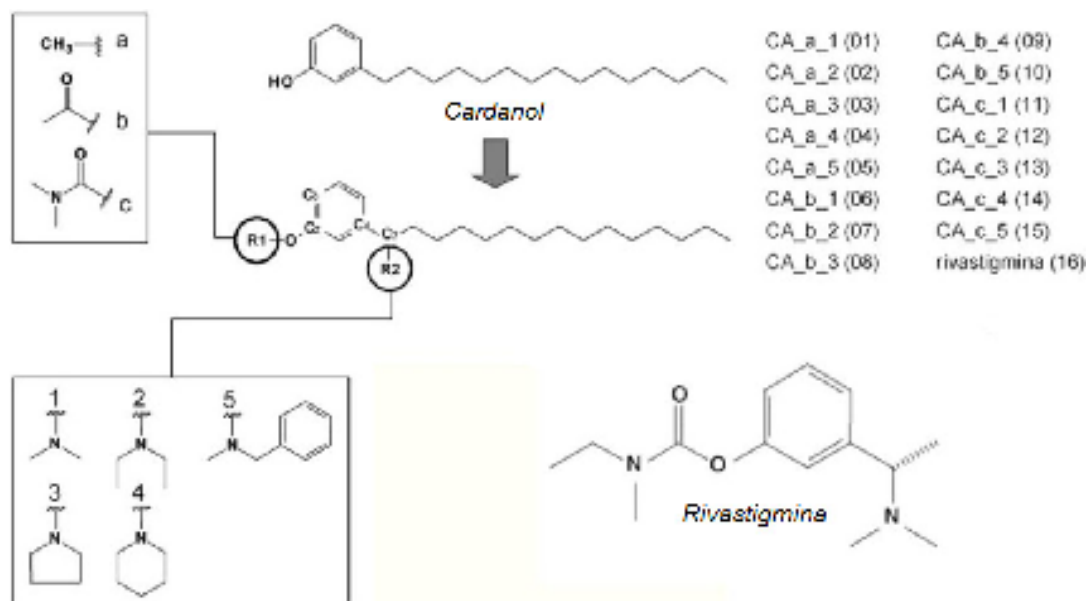


Figura 3.1: Representação esquemática dos possíveis candidatos a inibidores da enzima AChE, obtidos a partir dos lipídios fenólicos não isoprenóicos do cajueiro.

O grupo aromático presente nesta última variação poderá desempenhar importante papel no reconhecimento molecular pelo resíduo Trp84 ou Phe 330 da enzima acetilcolinesterase. As estruturas foram construídas, pré-otimizadas e submetidas a análise conformacional utilizando o programa CaChe [64], que fornece um mapeamento da SEP das estruturas estudadas. A Figura 3.2 mostra o mapeamento da estrutura formada colocando o substituinte “R1” *N,N*-dimetilcarbomoíla e em “R2” a pirrolidina.

3.1.1 Primeiros resultados do PEM2

A partir do mapeamento das estruturas do PEM2, selecionamos as geometrias de menor energia para as 15 estruturas representadas na Figura 3.1. Em

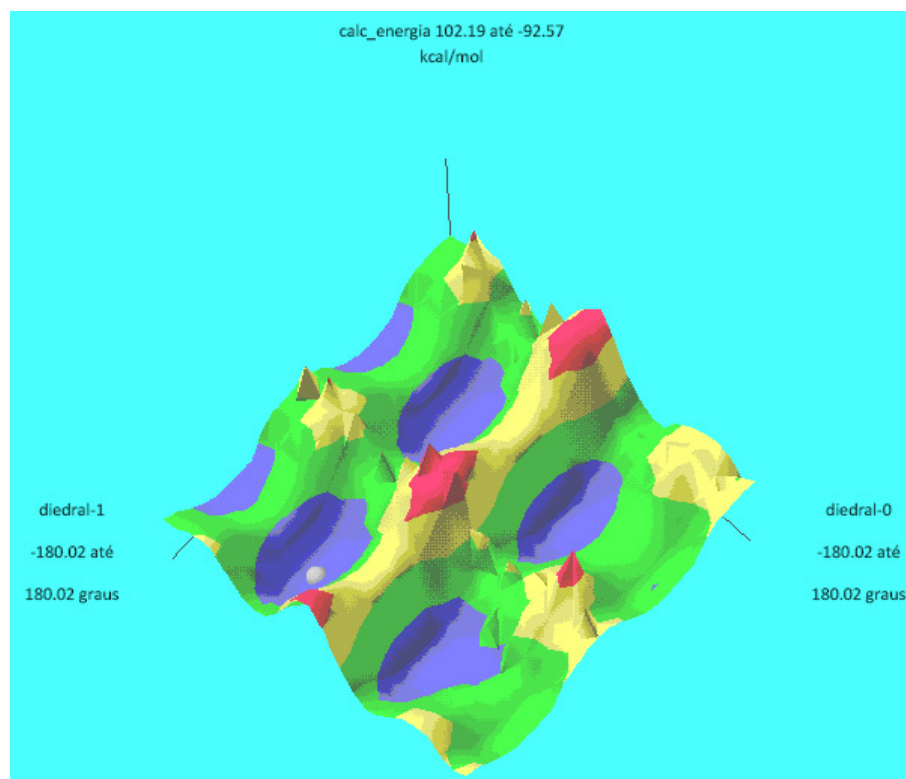


Figura 3.2: Mapeamento da superfície da energia superficial estrutura formada colocando no radical “R” *N,N*-dimetilcarbomoíla e em “W” a pirrolidina, utilizando o pacote computacional CAChe.

seguida, estas geometrias foram reotimizadas (mantendo as mesmas conformações de mínimo obtido via CaChe [64]) utilizando o método Hartree-Fock-Restrito e as funções de base 6-31G, 6-31G(d), 6-31+G(d) e 6-311G(d,p). Todos estes cálculos foram realizados via pacote computacional Gaussian98 [65]. Utilizando estas novas conformações, determinamos, também via Gaussian98, as propriedades eletrônicas tais como energia do HOMO-1 (penúltimo orbital com energia mais alto ocupado), energia do HOMO (orbital com energia mais alto ocupado), energia do LUMO (orbital com energia mais baixa desocupado), energia do LUMO+1 (segundo orbital com energia mais baixa desocupado), as cargas dos nitrogênios contidas nos substituintes “R1” e “R2” (Figura 3.1) dos derivados do cardanol, além do calor de

formação (via método semi-empírico) destas séries. A partir destas propriedades calculamos outras propriedades como; energia do GAP (LUMO – HOMO), energia do GAP+1 (LUMO+1 – HOMO-1), energia do H-H1 (HOMO – HOMO-1) e do L1-L (LUMO+1 – LUMO). Os resultados obtidos para estas propriedades foram comparados com os resultados que obtivemos isoladamente para o padrão rivastigmina, um inibidor ativo, à procura de correlações que nos permitam encontrar um padrão para a classificação desses candidatos a AChEI quanto às suas atividades. Neste processo comparativo, verificamos que os resultados da classificação são muito similares. No entanto, a base 6-311G(d,p) será usada na distinção dos inibidores, pois foi a que forneceu a menor energia para todas as estruturas.

Com o objetivo de facilitar a identificação das 15 moléculas propostas, utilizamos uma nomenclatura para estas moléculas (CA_R1_R2), baseada nos substituintes ligados, nas posições “R1” e “R2” do núcleo central (Figura 3.1) formado pelo cardanol. Desta forma, pegando como exemplo o símbolo CA_1_1 que indica a molécula obtida ligando os radicais metila e *N,N*-dimetila nos radicais “R” e “W”, respectivamente, no núcleo central do cardanol. A Tabela 3.1 mostra as 15 nomenclaturas das moléculas estudadas.

nomenclatura	estrutura	nomenclatura	estrutura
PEM2-01	CA_a.1	PEM2-09	CA_b.4
PEM2-02	CA_a.2	PEM2-10	CA_b.5
PEM2-03	CA_a.3	PEM2-11	CA_c.1
PEM2-04	CA_a.4	PEM2-12	CA_c.2
PEM2-05	CA_a.5	PEM2-13	CA_c.3
PEM2-06	CA_b.1	PEM2-14	CA_c.4
PEM2-07	CA_b.2	PEM2-15	CA_c.5
PEM2-08	CA_b.3	16	rivastigmina

Tabela 3.1: Nomeclatura das 15 estruturas derivadas do cardanol (PEM2). Notação utilizada para a substituição do hidrogênio a partir do grupo de fenólicos cardanol (R1 na figura 3.1) e carbono da cadeia lateral (R2 na Figura 3.1). CA representa o cardanol.

Primeiramente, tentamos realizar uma análise binária das propriedades eletrônicas

sem uso direto do método PCA. O que observamos foi que algumas moléculas se agrupam com a rivastigmina, em relação a certas propriedades eletrônicas. Antes de discutimos essas análises observemos as relações entre as energias dos orbitais. A primeira (Figura 3.3) apresenta a contribuição para a diferença LUMO+1 – HOMO-1 contra LUMO+1. Notamos, a partir deste gráfico, que as duas propriedades agrupam as estruturas PEM2-06 (**6**), PEM2-08 (**8**), PEM2-11 (**11**) e PEM2-13 (**13**) à rivastigmina (**16**), separando elas das restantes. Indicando que as propriedades dos eixos do gráfico funcionem como fator de distinção entre os inibidores ativos e inativos da AChE.

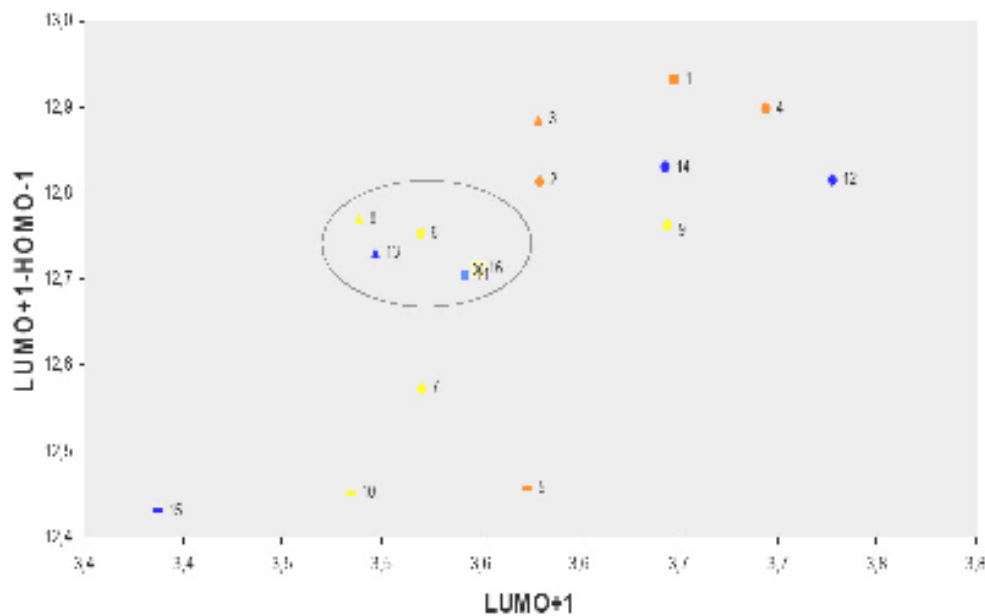


Figura 3.3: Contribuição para a diferença LUMO+1 – HOMO-1 vs LUMO+1, para os derivados do cardanol (PEM2) e rivastigmina.

A Figura 3.4 representa as energias da diferença LUMO+1 – LUMO contra a do HOMO. Neste gráfico, podemos novamente notar que as estruturas PEM2-06 (**6**), PEM2-08 (**8**) e PEM2-13 (**13**) se localizam próximo à rivastigmina (**16**), mostrando também que as propriedades dos eixos auxiliam na distinção. Também

observamos que a molécula PEM2-11 (**11**) se encontra um pouco distante do aglomerado próximo à rivastigmina, mas do lado inverso de onde se encontram as outras estruturas fora do aglomerado.

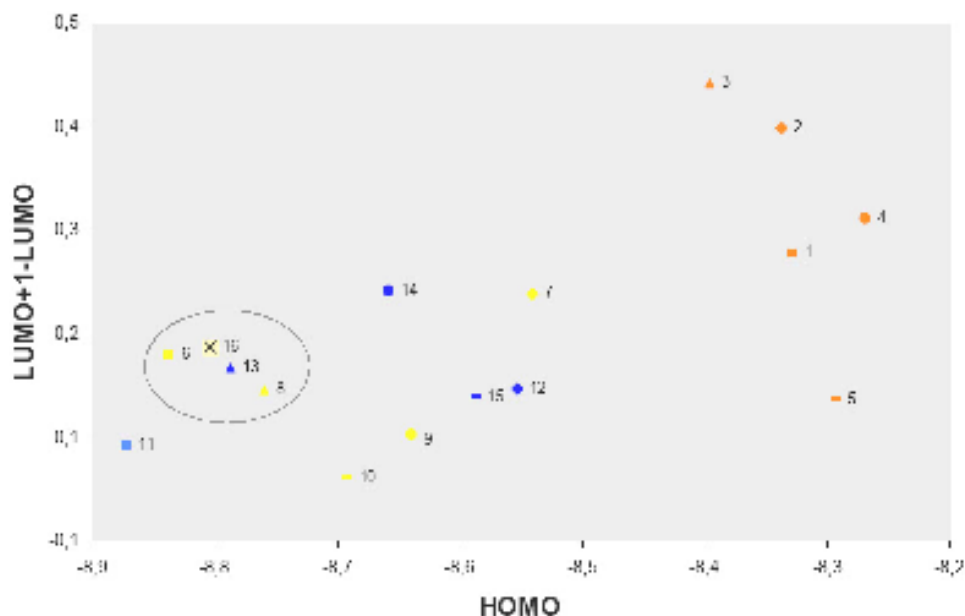


Figura 3.4: Contribuição para a diferença $LUMO+1 - LUMO$ vs $HOMO$, para os derivados do cardanol (PEM2) e rivastigmina.

Ao utilizarmos o método de reconhecimento de padrões PCA, reduzimos o número de propriedades que são mais relevantes à seleção das moléculas, ou seja, as que mais se correlacionam com a da rivastigmina. Além disto, este método auxilia na classificação através da separação das estruturas em um conjunto de variáveis não correlacionadas (PC) que são formadas pelas propriedades eletrônicas originais. As PCs são obtidas em ordem decrescente de importância, pois a primeira componente é a combinação linear das propriedades eletrônicas com maior variância.

A partir das 9 propriedades eletrônicas inicialmente determinadas, fizemos estudos sistemáticos, considerando a variância e o peso das mesmas e concluímos que as PCs podem ser escritas em termos de 4 propriedades eletrônicas descritas na

tabela 3.2.

Energias	PC1	PC2	PC3
HOMO-1	0,5526519	-0,1651031	-0,181517
LUMO+1	0,426917	0,7834858	-0,3924858
GAP	-0,4860612	0,5929316	0,3480295
H – H-1	0,5254161	0,8557445	0,8317944

Tabela 3.2: Peso das propriedades eletrônicas que formam as PCs.

A análise de como a variância dos dados se distribui sobre as PCs pode ser vista na Figura 3.5. Desta figura podemos notar que as duas principais componentes, PC1 e PC2 são responsáveis, respectivamente, por 78,34% e 16,23% dos dados, totalizando 94,57%. Este fato, se faz necessário para que se tenha uma boa confiabilidade nos dados sobre PCA.

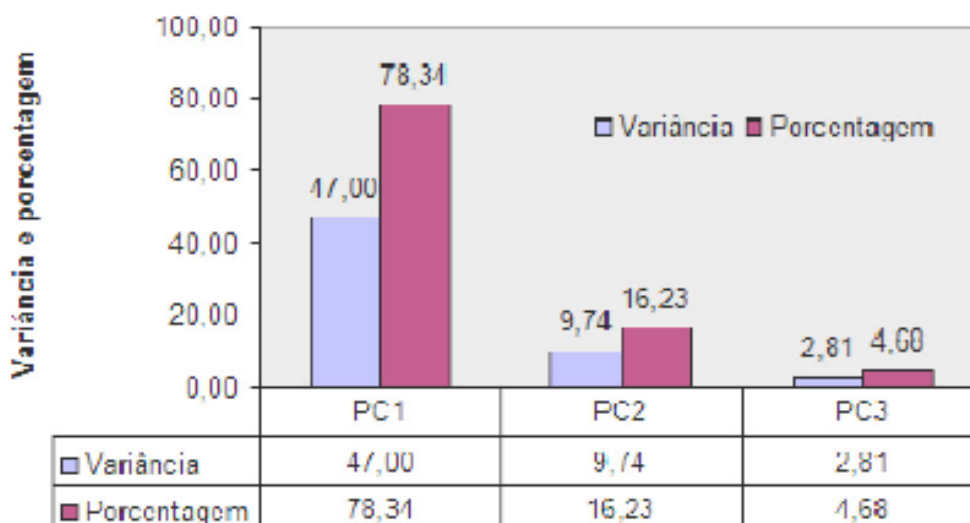


Figura 3.5: Distribuição da variância e porcentagem da variância nas PCs.

Na Figura 3.6 podemos verificar uma proximidade de alguns derivados do

cardanol com a rivastigmina (**16**) o que indica uma correlação entre eles.

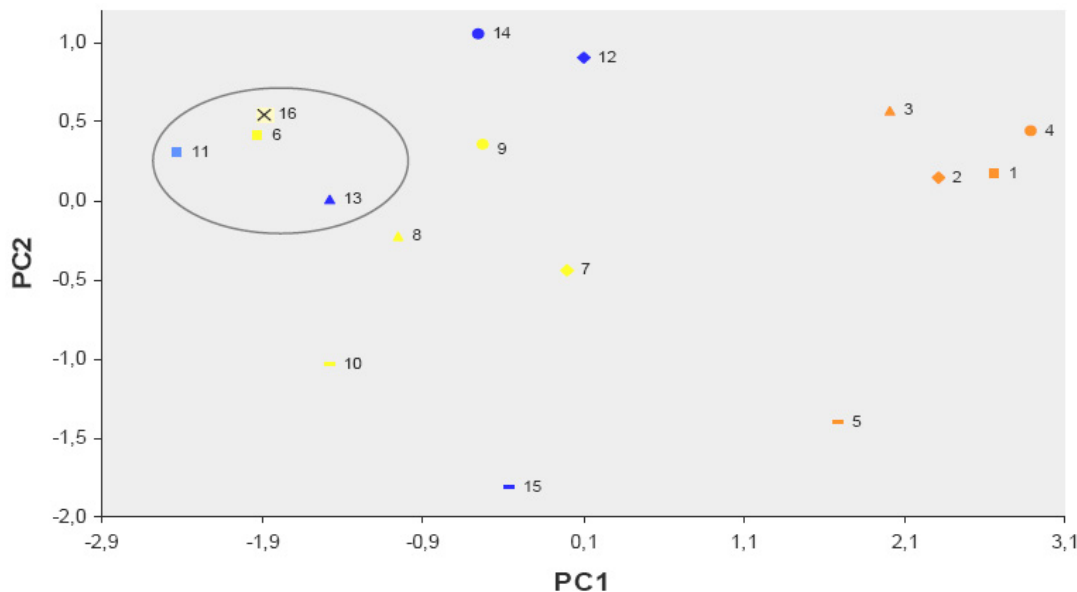


Figura 3.6: Gráfico PC1 vs PC2 obtidos a partir do PCA, mostrando a separação dos derivados do cardanol (PEM2) e rivastigmina.

Assim como visto na análise binária das propriedades, as estruturas PEM2-06 (**6**), PEM2-08 (**8**) e PEM2-13 (**13**) são os que mais correlacionam com a rivastigmina (**16**), o que nos indica uma possível atividade destas estruturas. É importante salientar que estes resultados apenas indicam os possíveis candidatos para inibidores da AChE.

3.1.2 Recentes resultados do PEM2

Na primeira etapa do trabalho comparamos as propriedades eletrônicas (energias dos HOMO, LUMO, HOMO-1, LUMO+1 e seus derivados e carga do nitrogênio pertencente ao substituinte R2) dos lipídeos fenólicos modificados contra a rivastigmina, usando métodos semi-empíricos e RHF. Nesta nova seção novas propriedades são incluídas, como a carga do anel aromático, carga do oxigênio 56 e

do carbono 11, usando o nível de cálculo B3LYP com as funções de bases 6-31G, 6-31G(d) e 6-311+G(2d,p).

Estas propriedades, tendo em conta efeitos de correlação, foram utilizadas na PCA. A fim de melhorar esta análise, os PCs foram obtidos em um modelo tridimensional. Portanto, estes resultados B3LYP complementam nosso estudo da seção anterior [66]. Além disso, estes resultados poderiam melhorar o conhecimento das propriedades importantes para a inibição da AChE.

Na seção anterior, foi proposto um novo conjunto de moléculas AChEI com base em uma substituição do hidrogênio a partir do grupo de fenólicos cardanol (R1 na Figura 3.1), por grupos, tais como (a) metil, (b) acetil, e (c) *N,N*-dimetilcarbamonila, bem como as substituições no benzílico carbono da cadeia lateral (R2 na Figura 3.1) por aminas secundárias, (1) *N,N*-dimetilamina (2), *N,N*-dietilamina (3) pirrolidina, (4) piperidina, e (5) *N,N*-metilbenzilamina. As variações obtidas a partir das substituições rendeu quinze estruturas de novos derivados do cardanol. A Tabela 3.1 mostra a notação usada para os compostos derivados do cardanol utilizados neste trabalho.

Geometrias destas quinze estruturas bem como rivastigmina foram tomadas a partir do resultado otimizado da seção anterior [66] usando os métodos semi-empíricos AM1 e PM3. Análise conformacional da energia mínima foi feita utilizando-se o mapas da superfície de energia potencial (Figura 3.2 da seção anterior). Estas estruturas mínimas foram totalmente otimizadas e os procedimentos para este estudo utilizou as seguinte etapas:

- Cálculos das propriedades eletrônicas, ou seja, cálculos das duas energias de orbitais moleculares mais altos ocupados $E(\text{HOMO})$ e $E(\text{HOMO}-1)$, as duas energias de orbitais moleculares mais baixos desocupados $E(\text{LUMO})$ e $E(\text{LUMO}+1)$, carga dos anéis aromáticos, carga do C_{11} ($C-C_{11}$), carga do O_{56} ($C-O_{56}$) e carga do nitrogênio pertencente ao grupo R2 ($C-N_{R2}$) (ver Figura

3.1 para a notação). Estes cálculos foram realizados utilizando método B3LYP com grupo de funções de base: 6-31G, 6-31G (d) e 6-311+G(2d,p).

- A partir destes dados das propriedades eletrônicas nos derivamos outras propriedades GAP [E(LUMO) – E(HOMO)], GAP+1 [E(LUMO+1) – E(HOMO-1)], E(H-H1) [E(HOMO) – E(HOMO-1)] and E(L1-L) [E(LUMO+1) – E(LUMO)].
- Os cálculos foram realizados utilizando programa computacional Gaussian03 [67].

Para comparar estas novas propriedades eletrônicas obtidas a partir dos quinze derivados do cardanol com rivastigmina utilizamos o PCA. Este método reduz o número inicial de parâmetros estabelecidos (propriedades eletrônicas) para os mais relevantes no que diz respeito à capacidade de selecionar compostos que são mais semelhantes com a rivastigmina. O dados do PCA foram redimensionados, tornando-as adimensionais com média nula e variância unitária. Este procedimento foi utilizado a fim de eliminar efeitos artificiais, onde algumas propriedades eletrônicas com um grande valor poderia dominar a análise.

O próximo passo foi analisar cada propriedade dos quinze derivados com o objetivo de selecionar os compostos que mais se correlacionam com a rivastigmina. Também analisamos relações entre pares de propriedade dos quinze compostos. Esta última análise foi importante para produzir as mais relevantes variáveis em relação à rivastigmina. Por exemplo, a Figura 3.7 mostra a contribuição de E(LUMO+1) contra $C-N_{R2}$ para os derivados do cardanol e rivastigmina.

A partir destes dados preliminares, as variáveis eletrônicas utilizadas para o cálculo de PCA foram modificados e, em seguida, classificadas em componentes principais (PCs) em ordem de importância. A primeira componente é uma combinação linear das propriedades eletrônicas com a maior variância dos dados em

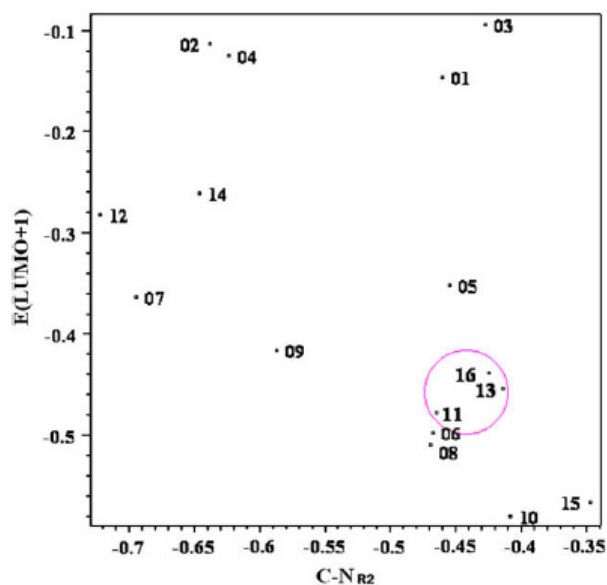


Figura 3.7: Contribuição da E(LUMO+1) contra C-N_{R2} para os derivados do cardanol e rivastigmina. Propriedades calculadas utilizando o método B3LYP com a função de base 6-311+G(2d,p) dos derivados do cardanol PEM2

relação às outras.

Os valores para as propriedades estudadas, retirados das quinze estruturas, foram muito próximos para todos os conjuntos de base considerados. Conseqüentemente, apresentamos os resultados apenas do conjunto da função de base mais extenso 6-311+G(2d,p), a fim de representar melhor os resultados finais.

O orbital HOMO-1 da rivastigmina em B3LYP/6-311+G(2d,p), utilizando geometria otimizada AM1 (Figura 3.8) mostra a principal contribuição dos orbitais π dos anéis aromáticos. A mesma contribuição do orbital HOMO-1 foi encontrada para todas as estruturas calculadas, ou seja, as contribuições estão centradas principalmente no fragmento análogo à rivastigmina para todos os compostos.

A Tabela 3.3 apresenta os resultados das energias HOMO-1, HOMO, LUMO e LUMO+1, e também das cargas do anel benzênico, C₁₁, O₅₆, e N_{R2} dos derivados do cardanol e da rivastigmina.

	energia dos orbitais (eV)				carga			
	HOMO-1	HOMO	LUMO	LUMO+1	anel	C ₁₁	O ₅₆	N _{R2}
01	-6,13	-5,74	-0,37	-0,15	0,20	0,35	-0,38	-0,46
02	-6,16	-5,45	-0,38	-0,11	0,22	0,15	-0,36	-0,64
03	-6,18	-5,43	-0,40	-0,09	0,29	-0,08	-0,35	-0,43
04	-6,11	-5,50	-0,35	-0,12	0,21	0,31	-0,38	-0,62
05	-6,11	-5,77	-0,49	-0,35	0,04	0,40	-0,35	-0,45
06	-6,77	-5,81	-0,55	-0,50	0,28	0,41	-0,54	-0,47
07	-6,50	-5,81	-0,78	-0,36	0,27	0,33	-0,52	-0,70
08	-6,83	-5,53	-0,56	-0,51	0,35	0,15	-0,54	-0,47
09	-6,67	-5,54	-0,50	-0,42	0,29	0,35	-0,54	-0,59
10	-6,80	-5,87	-0,59	-0,58	0,34	0,31	-0,54	-0,41
11	-6,76	-5,80	-0,49	-0,48	0,21	0,48	-0,43	-0,46
12	-6,62	-5,56	-0,34	-0,28	0,19	0,46	-0,45	-0,73
13	-6,78	-5,45	-0,51	-0,45	0,34	-0,10	-0,44	-0,42
14	-6,59	-5,50	-0,39	-0,26	0,21	0,26	-0,44	-0,65
15	-6,67	-5,69	-0,61	-0,57	0,33	0,05	-0,43	-0,35
16	-6,64	-5,99	-0,49	-0,44	0,19	0,33	-0,39	-0,42

Tabela 3.3: Valores das energias eletrônicas E(HOMO-1), E(HOMO), E(LUMO), E(LUMO+1), e das carga do anel, C-C₁₁, C-O₅₆ e C-N_{R2} dos 15 compostos derivados do cardanol e da rivastigmina (**16**).

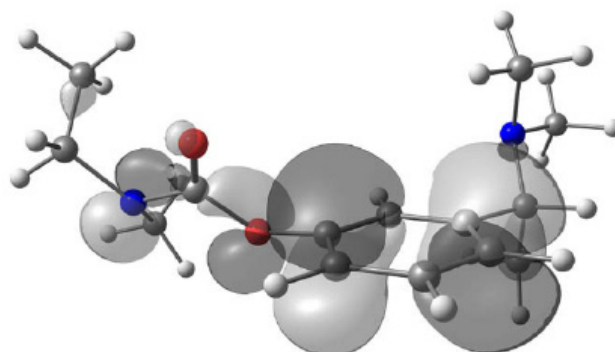


Figura 3.8: Geometria otimizada da rivastigmina. O orbital HOMO-1 da rivastigmina para o nível B3LYP/6-311+G(2d,p). Os átomos cinzas são carbonos, os átomos brancos são hidrogênio, os átomos vermelhos são oxigênio e os átomos azuis são nitrogênio

Um estudo sistemático de todas as propriedades foi realizado considerando a análise binária, PCs e peso da variância calculada dos dados. A Figura 3.7 mostra os derivados do cardanol CA_c.1 e CA_c.3 como os que mais correlacionam com a rivastigmina para $E(\text{LUMO}+1)$ contra C-N_{R2} .

Inicialmente, usamos todas as propriedades de todas as estruturas na análise de PCA. Então excluímos algumas destas propriedades a partir desta análise tentando encontrar as mais relevantes. Isto nos permitiu encontrar as três propriedades mais importantes divididas em três casos, chamados casos I, II e III (Figura 3.9). Identificamos que as propriedades $E(\text{HOMO}-1)$, $E(\text{LUMO}+1)$ e C-O_{56} são comuns aos três casos. Elas parecem ser as principais propriedades para uma boa agregação entre as estruturas melhores correlacionadas com a rivastigmina. Além dessas propriedades também identificamos C-N_{R2} (usado nos casos I e III), LUMO (usado nos casos II e III) e $L + 1 - L$ (usado no caso II), como descritores aptos. A Tabela 3.4 apresenta a variação de cada componente (PC1, PC2 e PC3), com seu respectivo percentual. No caso II, tivemos o maior valor em por cento para PC1 e tivemos o melhor percentual acumulado de variância ($\cong 97,5\%$), para as três primeiras PCs nos casos I e II. A Tabela 3.5 mostra os pesos das propriedades mais importantes

para as três primeiras componentes.

CASO I

	Variância	Porcentagem	Acumulativo
PC1	39,35	65,59	65,59
PC2	16,48	27,47	93,06
PC3	2,65	4,41	97,47

CASO II

	Variância	Porcentagem	Acumulativo
PC1	51,00	68,00	68,00
PC2	16,46	21,95	89,95
PC3	5,87	7,82	97,77

CASO III

	Variância	Porcentagem	Acumulativo
PC1	47,01	62,68	62,68
PC2	16,50	22,00	84,68
PC3	8,13	10,84	95,52

Tabela 3.4: Variância, porcentagem e acumulado da porcentagem nos casos I, II and III das PC1, PC2 e PC3 obtidos com PCA.

Encontramos, a partir da análise PCA (Figura 3.9), as estruturas que melhor se correlacionam com rivastigmina são os dimetilcarbamatos **11** (CA_c.1) e **13** (CA_c.3) para os três casos estudados. Estes resultados indicaram quais substituintes mais prováveis para os potenciais candidatos para o desenvolvimento de inibidores da AChE para o tratamento da DA a partir do cardanol.

As previsões da análise foram então avaliadas experimentalmente, por Areas e colaboradores [1], para a série de dimetilcarbamatos **11-15**. Os compostos foram sintetizados a partir do cardanol como hidrocloreto, utilizando métodos padrões. A inibição da enzima foi testada como descrito na referência [68], exceto que a AChE purificada a partir do *Electrophorus Electricus* foi usada em vez de tecido homo-

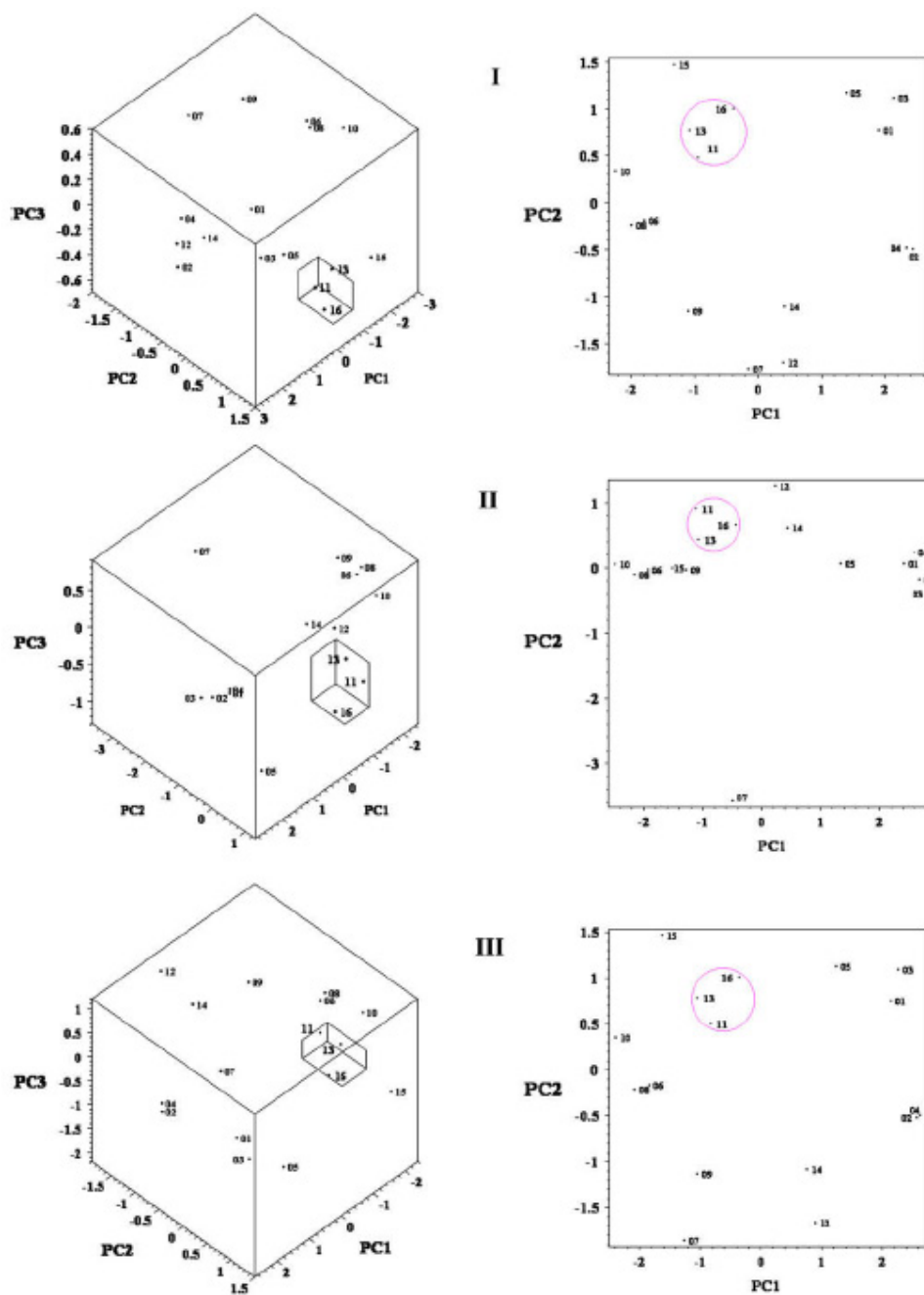


Figura 3.9: Gráficos dos casos I, II e III da separação das estruturas derivadas do cardanol e da rivastigmina com as duas ou três PCs mais relevantes.

	CASO I			CASO II			CASO III		
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
E(HOMO-1)	0,58	0,12	0,61	0,51	-0,15	-0,22	0,50	0,10	-0,52
E(LUMO+1)	0,59	-0,17	0,13	0,52	-0,04	0,44	0,54	-0,18	-0,10
C-O₅₆	0,51	0,44	-0,72	0,46	0,23	-0,74	0,47	0,43	-0,09
C-N_{R2}	-0,23	0,87	0,30				-0,20	0,88	0,05
E(LUMO)				0,36	0,66	0,43	0,44	0,03	0,84
E(L1-L)				0,36	-0,69	0,18			

Tabela 3.5: Peso das propriedades eletrônicas E(HOMO-1), E(LUMO+1), C-O₅₆, C-N_{R2}, E(LUMO) e E(L1-L) das PC1, PC2 e PC3 dos casos I, II and III, obtidos com PCA.

geneizados. Os compostos **11-13** inibiu a AChE como descrito na concentração dependente (Figura 3.10) [1], ao passo que as estruturas **14** e **15** mostraram pouca atividade, inibindo a enzima menos que 25% a 100 μM . O derivado dimetilamino **11** foi o mais potente, com IC₅₀ (Índice de concentração 50) de 50,0 μM , seguido pela pirrolidina **13** (84,3 μM) e do dietilamino **12** (251,1 μM). Assim, o procedimento PCA selecionou corretamente os dois compostos mais potentes da série.

Segundo a literatura [69–71] a rivastigmina atinge o fundo da garganta do sítio ativo onde ela interage com o resíduo Serina200 (Ser200) da tríade catalítico Ser200-His440-Glu327 através da sua espécie carbamoila, enquanto os grupos aromáticos e amônio dirigem-se para interagir com os resíduos conservados Trp84 (adjacente à tríade catalítica) e um segundo resíduo aromático, Phe330, que parecem estar envolvidos com aromáticos de cátion- π ou interações hidrofóbicas. Através de um mecanismo comum de inibição, o grupo carbamoil é covalentemente ligado ao sítio ativo da serina, enquanto o grupo separado, (-)-S-3-[1-(dimetilamino)-etil]fenol (NAP), atua como um inibidor competitivo da AChE, que permanece ativo no sítio ativo da garganta. Bar-On e colaboradores demonstraram que o grupo fenol da NAP está dentro da distância de ligação do hidrogênio para interagir com fragmento

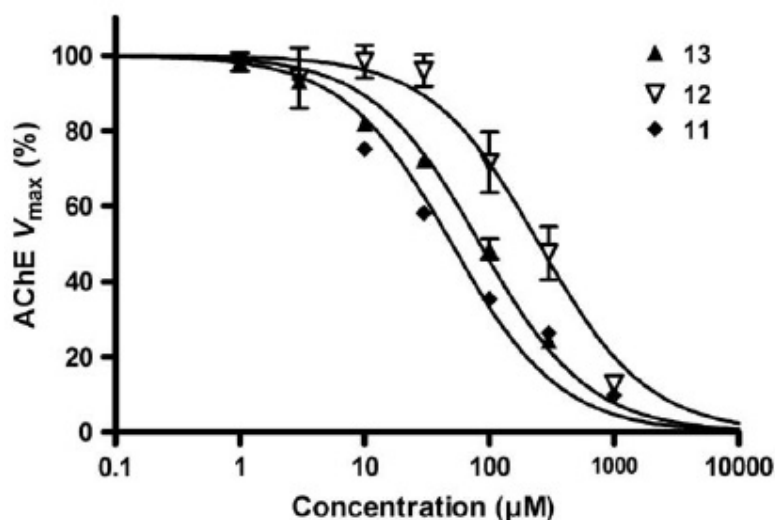


Figura 3.10: Curvas de inibição da acetilcolinesterase para os derivados do cardanol (CA_c.1) **11**, (CA_c.2) **12** e (CA_c.3) **13** [1]. Velocidade de reação máxima (V_{max}) da AChE *Electrophorus Electricus* em relação ao controle (sem inibição). O solvente teve efeitos desprezíveis nas concentrações testadas. As curvas simbolizam a função regressão para o modelo de inibição completa do padrão de sítio único.

dorsal do resíduo Gly118, enquanto grupos aromáticos e metil realizam interações aromáticos-hidrofóbicos e as interações π - π com Trp84 e Phe330 [69].

Considerando a possibilidade de que os derivados do cardanol são capazes de penetrar profundamente até chegar ao fundo do sítio ativo da garganta (Figura 1.4) da mesma maneira que a rivastigmina, e tendo em conta os resultados descritos anteriormente por Sterling e colaboradores [72] (que mostrou atividade da AChEI e 30 vezes maior que da *N,N*-etilmetilcarbamoíla análogo da rivastigmina em comparação com o agrupamento *N,N*-dimetilcarbamoíla), esperamos que haja um melhor acesso do resíduo Ser200 para o *N,N*-dimetilcarbamoíla agrupamento de CA_c.1 (**11**) e CA_c.3 (**13**) resultando na carbamoilação deste resíduo.

A fim de avaliar a influência dos grupos hidrofóbicos, bem como a liberdade de conformação do agrupamento de amônio, a dimetilamina (**11**) e seus grupos pirrolidinas bi-homólogos (**13**) restritos conformacionalmente foram selecionados.

Neste caso, o aumento de uma região hidrofóbica na pirrolidina é esperado para interagir os resíduos Trp84 e Phe330 melhor com dimetilamina, salvo se houver uma restrição estérica na região adjacente à tríade catalítica e que delimita o volume acessível ao grupo pirrolidina. No que diz respeito a cadeia lateral alifática longa, nós esperávamos que esta se acomodaria ao longo da garganta, onde são possíveis interações complementares hidrofóbicas/aromáticos dos resíduos aminoácidos.

Por outro lado, Castro e co-trabalhadores [68] utilizando um acoplamento flexível nos experimentos salientou que derivados do alcalóide natural piperidina (–)-espectralina não eram susceptíveis de interagir com o sítio ativo da tríade, possivelmente devido ao volume da longa cadeia lateral alifática. De modo semelhante, se os volumes da cadeia lateral alifática de CA_c_1 (**11**) e CA_c_3 (**13**) não permitirem os derivados de alcançar o fundo do sítio ativo, elas podem ser capazes de interagir de forma similar à spectralina ou mesmo donepezil [73] por interações aromáticas cátion- π e π - π dos grupos de amônio e os agrupamentos aromáticos com os resíduos aromáticos Phe330, Trp84 no meio do caminho acima da garganta do sítio ativo ou Trp279 no sítio aniônico periférico (SAP) enquanto espera-se que aconteçam ligações de hidrogênio com os grupos carbamato e amônio da parte da fragmento importante dos aromáticos e hidrofóbicas por ligações com resíduos doadores de ligação de hidrogênio do SAP, por exemplo, Tyr70, Tyr121, Trp279, Phe288, Phe290, Phe331, Arg289 e Ser286 acima da SAP, na parte superior da garganta, bem como moléculas de água [73]. Uma vez que as paredes da garganta são formadas predominantemente por cadeias laterais de resíduos aromáticos, interações hidrofóbicas a partir da longa cadeia alifática destes derivados do cardanol, espera-se que seja uma contribuição significativa para o reconhecimento pela AChE e modulações das suas atividades.

3.2 Padrão Estrutura Molecular 3 (PEM3)

As geometrias das estruturas criadas a partir do PEM3 foram otimizadas, via método semi-empírico AM1, incluindo a análise conformacional para determinar as geometrias de menor energia, dos 20 compostos (Figura 1.7) construídos a partir do planejamento dos derivados do cardanol utilizando o PEM3 (Figura 1.6).

As estruturas foram construídas, pré-otimizadas e submetidas a uma análise conformacional da energia mínima utilizando o programa CAChe [64], que fornece um mapeamento da SEP das estruturas estudadas. A Figura 3.11 mostra o mapeamento da estrutura PEM-03, com variação dos ângulos diedrais dos anéis benzênicos em relação ao plano da cadeia central de carbonos.

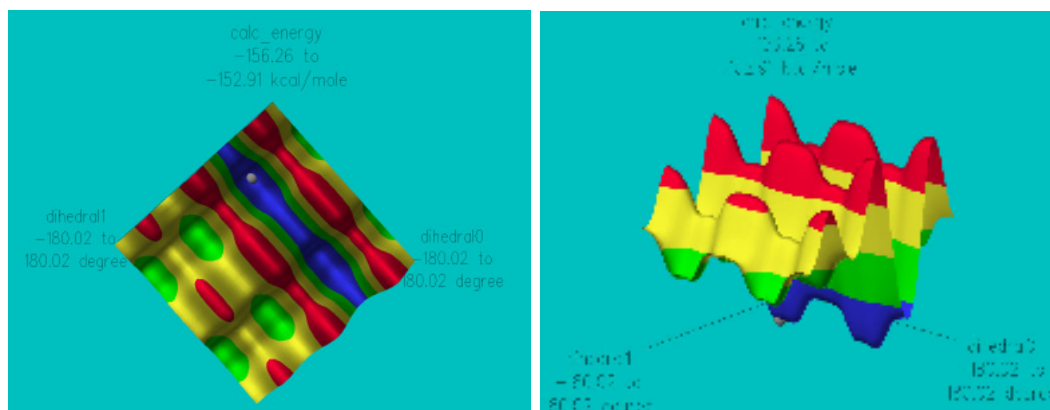


Figura 3.11: Duas fotografias do gráfico do mapeamento da estrutura PEM-03 com variação dos ângulos diedrais dos anéis benzênicos em relação ao plano da cadeia central de carbonos

A partir deste mapeamento das estruturas do PEM3, selecionamos as geometrias de menor energia para as 20 estruturas representadas na Figura 1.7. Em seguida, estas geometrias foram reotimizadas (mantendo as mesmas conformações de mínimo obtido via CaChe [64]) utilizando o método B3LYP e a função de base 6-311+G(2d,p) via pacote computacional Gaussian03 [67]. As propriedades eletrônicas, tais como as duas energias de orbitais moleculares mais altos ocupa-

dos E(HOMO) e E(HOMO-1), as duas energias de orbitais moleculares mais baixos desocupados E(LUMO) e E(LUMO+1), cargas do anel aromático, cargas do C₁₁ (C-C₁₁), cargas do O₅₆ (C-O₅₆), cargas do nitrogênio (C-N), volume molar, energia de hidratação, polarizabilidade e Log-P. Foram obtidas utilizando o método B3LYP com a função de base 6-311+G(2d,p). Juntamos a estas propriedades, propriedades derivadas das energias: E(GAP), E(GAP+1), E(L1-L) e E(H-H1). Os resultados obtidos (Tabelas 3.6 e 3.7) foram comparados com os resultados que obtivemos isoladamente para o padrão rivastigmina e as estruturas PEM2-11 e PEM2-13 (compostos do PEM2 que apresentaram maior correlação com a rivastigmina). Esta comparação visa a procura de correlações que nos permitam encontrar um padrão para a classificação dessas drogas quanto à suas atividades.

Para comparar as propriedades eletrônicas obtidas a partir dos vinte derivados do cardanol (PEM3) com as estruturas PEM2-11, PEM2-13 e rivastigmina, utilizamos novamente PCA. Este método reduz o número inicial de parâmetros estabelecidos (propriedades eletrônicas) para os mais relevantes no que diz respeito à capacidade de selecionar compostos que são mais semelhantes com a rivastigmina. Os dados do PCA foram redimensionados, tornando eles adimensionais com média nula e variância unitária. Este procedimento foi utilizado novamente a fim de eliminar efeitos artificiais, onde algumas propriedades eletrônicas com um grande valor poderia dominar a análise.

O próximo passo foi o analisar cada propriedade dos vinte derivados com o objetivo de selecionar os compostos que mais se correlacionam com a rivastigmina e as estruturas PEM2-11 e PEM2-13. Também analisamos relações entre pares de propriedades dos vinte e três compostos. Esta última análise foi importante para produzir as mais relevantes variáveis em relação à rivastigmina.

Inicialmente, usamos todas as propriedades de todas as estruturas na análise de PCA. Em seguida, excluimos algumas destas propriedades a partir desta análise

	Energia dos orbitais (eV)				Carga		
	HOMO-1	HOMO	LUMO	LUMO+1	N	O	ANEL
PEM3 - 01	-6,12	-5,82	-0,36	-0,30	-0,54	-0,37	0,21
PEM3 - 02	-6,11	-5,74	-0,35	-0,14	-0,52	-0,38	0,21
PEM3 - 03	-6,12	-5,83	-0,35	-0,28	-0,49	-0,37	0,21
PEM3 - 04	-6,11	-5,77	-0,35	-0,12	-0,50	-0,37	0,18
PEM3 - 05	-6,14	-5,65	-0,38	-0,36	-0,39	-0,37	0,20
PEM3 - 06	-6,16	-5,59	-0,42	-0,27	-0,45	-0,37	0,19
PEM3 - 07	-6,10	-5,73	-0,34	-0,34	-0,36	-0,37	0,20
PEM3 - 08	-6,09	-5,67	-0,33	-0,13	-0,44	-0,37	0,20
PEM3 - 09	-6,14	-5,81	-0,58	-0,47	-0,25	-0,37	0,19
PEM3 - 10	-6,10	-5,74	-0,52	-0,42	-0,16	-0,37	0,20
PEM3 - 11	-6,13	-5,91	-1,39	-0,47	-0,72	-0,39	0,19
PEM3 - 12	-6,11	-5,93	-0,63	-0,53	-0,69	-0,37	0,20
PEM3 - 13	-6,17	-5,88	-1,43	-0,65	-0,64	-0,38	0,21
PEM3 - 14	-6,17	-6,15	-0,59	-0,49	-0,75	-0,38	0,20
PEM3 - 15	-6,15	-5,44	-0,65	-0,46	-0,43	-0,38	0,19
PEM3 - 16	-6,09	-5,31	-0,36	-0,33	-0,50	-0,37	0,20
PEM3 - 17	-6,14	-5,31	-0,65	-0,56	-0,35	-0,38	0,20
PEM3 - 18	-6,13	-5,21	-0,61	-0,51	-0,40	-0,39	0,19
PEM3 - 19	-6,14	-5,96	-0,39	-0,25	-0,52	-0,37	0,20
PEM3 - 20	-6,11	-5,72	-0,34	-0,19	-0,56	-0,37	0,20
PEM2 - 11	-6,76	-5,80	-0,49	-0,48	-0,46	-0,43	0,21
PEM2 - 13	-6,78	-5,45	-0,51	-0,45	-0,41	-0,44	0,34
rivastigmina	-6,64	-5,99	-0,49	-0,44	-0,39	-0,42	0,19

Tabela 3.6: Valores das energias eletrônicas dos orbitais HOMO-1, HOMO, LUMO, LUMO+1 e cargas do **N**(nitrogênio), do **O**(oxigênio) e do anel dos 20 derivados do PEM3, e dos compostos **11** e **13** derivados do PEM2 e da rivastigmina.

	Volume molar	Área Superf	energia hidrat	Polarizabilidade	LOG-P
PEM3 - 01	348,60	730,47	-0,43	42,12	5,40
PEM3 - 02	371,10	772,82	0,10	45,49	5,88
PEM3 - 03	348,60	729,40	-0,54	42,12	5,45
PEM3 - 04	371,10	774,55	-0,06	45,49	6,00
PEM3 - 05	332,40	694,59	-0,35	40,28	4,84
PEM3 - 06	354,90	726,64	-0,11	43,65	5,31
PEM3 - 07	338,50	701,50	-0,67	39,22	5,36
PEM3 - 08	362,30	750,10	-0,01	42,53	5,56
PEM3 - 09	399,20	789,51	-2,11	48,92	7,37
PEM3 - 10	423,00	836,79	-1,23	52,24	7,57
PEM3 - 11	383,30	779,85	-2,76	52,39	9,15
PEM3 - 12	331,30	671,94	-3,90	40,82	6,55
PEM3 - 13	336,40	713,79	-5,41	45,74	7,47
PEM3 - 14	302,30	644,97	-6,17	38,67	6,11
PEM3 - 15	365,30	754,60	-2,88	45,78	5,87
PEM3 - 16	389,00	802,48	-2,05	49,10	5,81
PEM3 - 17	426,00	859,84	-4,25	55,49	7,76
PEM3 - 18	449,70	913,07	-3,35	58,80	7,70
PEM3 - 19	341,10	701,16	0,19	40,86	4,64
PEM3 - 20	364,90	738,79	0,45	44,17	5,11
PEM2 - 11	439,20	878,45	4,71	51,02	8,52
PEM2 - 13	451,30	907,02	4,88	53,81	8,73
rivastigmina	241,10	511,04	0,29	28,98	2,14

Tabela 3.7: Valores obtidos para o volume molar, área da superfície, energia de hidratação, polarizabilidade e log-P dos 20 derivados do PEM3, e dos compostos **11** e **13** derivados do PEM2 e da rivastigmina.

tentando encontrar as mais relevantes. Isto permitiu-nos encontrar as quatro propriedades mais importantes: $E(\text{LUMO})$, $E(\text{LUMO}+1)$, $E(\text{GAP})$ e $E(\text{LUMO}+1 - \text{LUMO})$. Elas demonstraram ser as principais propriedades para uma boa agregação entre as estruturas melhores correlacionadas com a rivastigmina. A Tabela 3.8 apresenta a variação de cada componente (PC1, PC2 e PC3), com seu respectivo percentual. Tivemos o maior valor em termos percentuais para PC1 (63,16%) e tivemos o percentual acumulado de variância (84,19%), para as duas primeiras PCs. A Tabela 3.9 mostra os pesos das propriedades mais importantes para as três primeiras componentes.

	Variância	Porcentagem	Acumulativo
PC1	55,58	63,16	63,16
PC2	18,51	21,03	84,19
PC3	13,92	15,81	100,00

Tabela 3.8: Variância, porcentagem e acumulado da porcentagem dos compostos do PEM3, rivastigmina e estruturas 11 e 13 do PEM2 das PC1, PC2 e PC3 obtidos com PCA.

	PC1	PC2	PC3
E(LUMO)	0,61	-0,20	0,20
E(LUMO+1)	0,45	0,57	0,58
E(GAP+1)	0,41	0,46	-0,78
E(L1-L)	-0,50	0,64	0,11

Tabela 3.9: Peso das propriedades eletrônicas, $E(\text{LUMO})$, $E(\text{LUMO}+1)$, $E(\text{GAP}+1)$ e $E(\text{L1-L})$ das PC1, PC2 e PC3 dos compostos do PEM3, rivastigmina e estruturas 11 e 13 do PEM2, obtidos com PCA.

A partir da análise PCA (Figura 3.12), verificamos que as estruturas mais se correlacionam com a rivastigmina são os compostos **01** (PEM3-01), **03** (PEM3-03), **06** (PEM3-06) e **19** (PEM3-19). As estruturas **C1** (PEM2-11) e **C2** (PEM2-13), como era esperado, também se aproximam da rivastigmina. Estes resultados

indicaram quais candidatos do PEM3, são mais prováveis para os potenciais candidatos para o desenvolvimento de inibidores da AChE para o tratamento da DA.

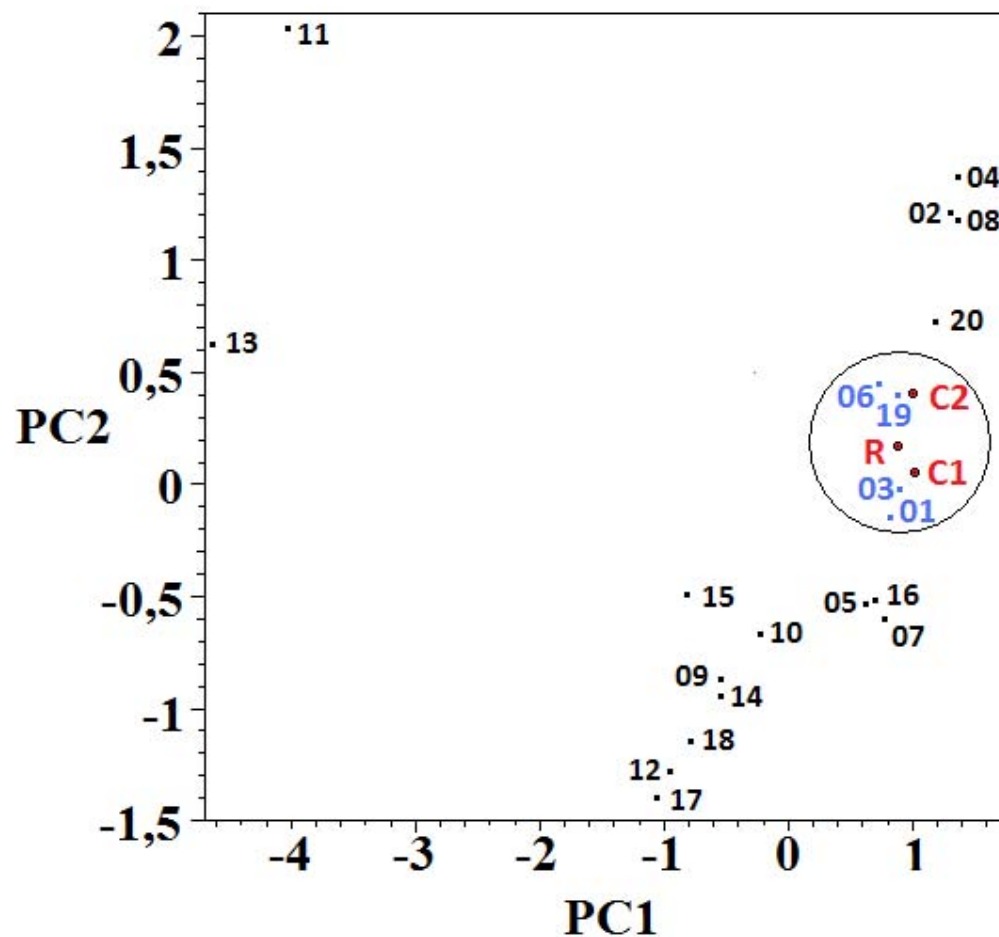


Figura 3.12: Gráfico da PC1 contra PC2 obtidas a partir da PCA das 20 estruturas que compõem o PEM3, dos compostos PEM2-11 (C1) e PEM2-13 (C2) e da rivastigmina (R). A separação dos derivados do cardanol (PEM3) e rivastigmina são destacados.

Capítulo 4

Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho é apresentado, pela primeira vez na literatura, cálculos de estrutura eletrônica de trinta e cinco derivados do cardanol. O principal objetivo deste estudo foi o uso de lipídeos fenólicos não isoprenóides do cajueiro como matéria prima para obtenção racional de novos candidatos a inibidores da enzima AChE. As estruturas foram divididas em duas partes: A PEM2, composta por quinze estruturas, e a PEM3, constituídas por vinte estruturas. No cálculo das propriedades eletrônicas dos derivados do cardanol PEM2 e PEM3 foram utilizados os métodos Hartree-Fock-Restrito e B3LYP, com as funções de base 6-31G, 6-31G(d), 6-31+G(d), 6-311G(d,p), e 6-311+G(2d,p).

Os resultados da análise multivariada dos derivados do PEM2 e rivastigmina foram reportados, num primeiro momento, utilizando o método Hartree-Fock-Restrito com a função de base 6-311G(d,p) e num momento final o método B3LYP e a base 6-311+G(2d,p).

As análises das estruturas do PEM2 e rivastigmina foram realizadas por pares de propriedades, a fim de encontrar os principais descritores, com base na correlação com a rivastigmina. No momento inicial as propriedades eletrônicas mais relevantes emergentes da PCA foram E(HOMO-1), E(LUMO+1), E(GAP)

e $E(H-H+1)$. O método PCA também revelou que os compostos PEM2-06, PEM2-08, PEM2-11 e PEM2-13 foram os que mais se correlacionaram com a rivastigmina. Já no segundo momento com um nível de cálculo e base mais acurados temos que os descritores mais importantes foram $E(HOMO-1)$, $E(LUMO+1)$, $C-O_{56}$, $C-N_{R2}$, $E(LUMO)$ e $L1-L$. A análise multivariada nos forneceu os compostos PEM2-11 e PEM2-13 que mais se correlacionavam com a rivastigmina. As análises previram uma possível atividade desses compostos como inibidores da AChE e esta foi confirmada pela síntese e testes farmacológicos.

A partir das estruturas do PEM3, juntamente com as estruturas PEM2-11 e PEM2-13, além da rivastigmina, utilizando o método B3LYP e a função de base 6-311+G(2d,p), apresentamos os cálculos de uma série de novas propriedades eletrônicas. Estas foram analisadas em pares, a fim de encontrar os principais descritores, com base na correlação com rivastigmina. As propriedades eletrônicas mais relevantes que emergiram da PCA foram $E(LUMO)$, $E(LUMO+1)$, $E(GAP+1)$ e $E(L1-L)$. A PCA também revelou que as moléculas PEM3-01, PEM3-03, PEM3-06 e PEM3-19 são as que melhores se correlacionam com rivastigmina e com os compostos PEM2-11 e PEM2-13, prevendo também uma possível atividade daquelas moléculas como inibidores da AChE.

Os esforços para esclarecer ainda mais o mecanismo de inibição da enzima AChE pelos derivados do cardanol PEM2 e PEM3 aqui propostos estão atualmente em curso. Com o grande avanço dos *hardware* abre grandes perspectivas de um refinamento na otimização das estruturas estudadas e de obter uma melhor acurácia das propriedades eletrônicas. Na PCA estamos melhorando o programa, desenvolvido por nós, para que tenha uma interface mais amigável e nos forneça um conjunto de informações filtrados de todas os parâmetros utilizados. A partir destas ações poderemos terminar um estudo de quiralidade e inserção de um átomo protonado nas estruturas do PEM2, cujos os cálculos já se encontram bastante adiantados.

Em seguida, pretende-se fazer uma análise mais completa dos compostos do PEM3 juntamente com os do PEM2. Além disto, pretendemos também como perspectivas futuras testar, assim como foi feita para os compostos do PEM2, que mais estruturas se correlacionaram com a rivastigmina, um teste de atividade.

Capítulo 5

Apêndice A

Este apêndice é um estudo detalhado sobre o ônus da doença de Alzheimer no mundo, apresentando estatísticas globais ou por regiões, divididas em faixas de renda. Ele foi feito a partir da publicação da OMS (Organização Mundial de Saúde) os “*The Global Burden of Disease – 2004*” (GBD-2004) (com atualização em 2008) [5] (que em português fica “Ônus global das doenças – 2004”) e do extenso banco de dados do sistema de informações sanitárias e estatísticas da saúde da OMS [6].

Para o nosso estudo separamos os países em quatro categorias de renda per capita anual, a partir do rendimento nacional bruto do ano de 2004, definidos pelo banco mundial [74]. Os grupos de renda baixa (US\$825 ou menos), de renda média inferior (US\$826 – 3 255), de renda média superior (US\$3 256 – 10 065) e de renda alta (US\$10 066 ou mais).

Foram analisadas 136 tipos de doenças ou lesões, que são descritos na tabela C3 do GBD-2004 [5]. Cada tipo possui um ou mais códigos do CID-10 (Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionadas a Saúde). **Alzheimer e outras demências** são analisadas como tipos de doenças, descrita pelos códigos F01, F03, G30 e G31 do CID-10 [75, 76] (ver tabela 5.1).

Código do CID - 10	Descrição da doença ou lesão
F01	Demência vascular
F01.0	Demência vascular de início agudo
F01.1	Demência por infartos múltiplos
F01.2	Demência vascular subcortical
F01.3	Demência vascular mista, cortical e subcortical
F01.8	Outra demência vascular
F01.9	Demência vascular não especificada
F03	Demência não especificada
G30	Doença de Alzheimer
G30.0	Doença de Alzheimer de início precoce
G30.1	Doença de Alzheimer de início tardio
G30.8	Outras formas de doença de Alzheimer
G30.9	Doença de Alzheimer não especificada
G31	Outras doenças degenerativas do sistema nervoso não classificadas em outra parte
G31.0	Atrofia cerebral circunscrita
G31.1	Degeneração cerebral senil, não classificadas em outra parte
G31.2	Degeneração do sistema nervoso devida ao álcool
G31.8	Outras doenças degenerativas especificadas do sistema nervoso
G31.9	Doença degenerativa do sistema nervoso, não especificada

Tabela 5.1: CID -10 da Doença de Alzheimer e outras demências

A partir destes dados compilamos as principais causas de mortes, os anos de incapacidade (YLD do inglês “*years lost due to disability*”) e DALYs (*disability-adjusted life years* - anos de vida perdidos por incapacidade ou por morte prematura). Este último, definido como uma nova métrica, para quantificar a carga de doenças, lesões e fatores de risco [77]. O DALY é baseado em anos vida perdidos por morte prematura, morte antes da expectativa de vida, e os anos de vida vividos sem saúde plena. Dividimos os nossos resultados em pessoas de todas as idades e pessoas a partir de 60 anos de idade. Também apresentamos os resultados para todo o mundo ou apenas para os países de alta renda.

5.1 Principais causas de mortes

5.1.1 Principais doenças ou lesões que causam YLD

Os anos de vida perdidos por incapacidade (YLD) para uma causa específica de um determinado período de tempo são determinados a partir do número de casos incidentes neste período, da duração média da doença e do peso (Equação 5.1). O fator de ponderação (peso) reflete a gravidade da doença, em uma escala de 0 (saúde perfeita) a 1 (óbito) [78].

$$YLD = \text{Número de casos incidentes neste período} \times \\ \text{duração média da doença até a morte ou cura} \times \text{fator peso} \quad (5.1)$$

5.1.2 Principais doenças ou lesões que causam DALYs

O DALYs é uma métrica criada para quantificar o fardo da doença a partir de mortalidade e morbidade. Um DALY pode ser pensado como um ano perdido de vida “saudável”. A soma destes DALYs em toda a população, ou o peso da doença,

pode ser pensado como uma medida da diferença entre o atual estado de saúde e uma situação ideal de saúde onde toda a população viveria com até idade avançada, livres da doença e da deficiência.

DALY para uma doença ou condição de saúde são calculados como a soma dos anos de vida perdidos (YLL) devido à mortalidade prematura da população e os anos perdidos devido a incapacidade (YLD) para os casos da incidência da doença ou condição de saúde 5.2.

$$DALY = YLL + YLD \quad (5.2)$$

onde, o YLL corresponde basicamente ao número de mortes multiplicado pela expectativa de vida. A fórmula básica para YLL (sem ainda incluir outras preferências sociais), é a seguinte para uma determinada causa, idade e sexo:

$$YLL = \text{número de mortes} \times \text{expectativa de vida das pessoas que morreriam neste ano} \quad (5.3)$$

Apresentamos um resumo das estimativas de DALYs para o ano de 2004. Estas estimativas são baseadas nos resultados do GBD-2004 (com atualização em 2008). As estimativas DALYs são baseadas na análise das informações nacionais mais recentes disponíveis sobre os níveis de mortalidade e suas causas do final de 2007, juntamente com informações mais recentes da OMS para 35 programas sobre a importância da causa na saúde pública, regionais e informações sobre a incidência e prevalência de doenças, lesões e as sequelas de incapacidades destas lesões. Os dados, métodos e categorias de causas são descritas na referências [5] e [79].

De posse destes dados podemos ter uma visão privilegiada do ônus que a doença do mal de Alzheimer e outras demências trazem para toda sociedade e seus governos (Tabela 5.2).

Tabela 5.2: Resumo do ônus do mal de Alzheimer e outras demências no ano de 2004

		Mortes			YLD			DALY		
		rank	10 ⁶	%	rank	10 ⁶	%	rank	10 ⁶	%
Mundo	0+	25	0,5	0,8	18	9,39	1,57	34	11,16	0,73
	60+	11	0,5	1,6	1	7,8	11,54	4	9,24	4,15
Países de alta renda	0+	6	0,28	3,4	4	3,69	5,42	4	4,39	3,59
	60+	5	0,28	4	1	3,39	20,9	2	4,05	9,44

O levantamento estatístico foi mais focado nos países de alta renda devido a uma confiabilidade maior dos dados levantados destes países.

Referências Bibliográficas

- [1] De Paula A. A. N., Martins J. B. L., Dos Santos M. L., Nascente L. de C., Romeiro L. A. S. Areas T. F. M. A., Vieira K. S. T., Gambo N. F., Castro N. G. e Gargano R. New potential ache inhibitor candidates. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44:3754–3759, 2009.
- [2] P. T. Francis, A. M. Palmer, M. Snape e G. K. Wilcock. The cholinergic hypothesis of alzheimer’s disease: a review of progress. *J. Neurol. Neurosurg. Phychiatry*, 66(11):137–147, fevereiro fevereiro de 1999.
- [3] IBGE/Diretoria de Pesquisas. Coordenação de População e Indicadores Sociais. Gerência de Estudos e Análises da Dinâmica Demográfica. *Projeção da População do Brasil por Sexo e Idade para o Período 1980-2050*. Revisão 2008.
- [4] Global prevalence of dementia a delphi consensus study ferri cp, prince m, brayne c, brodaty h., fratiglioni l., ganguli m, hall k, hasegawa k, hendrie h, huang y, jorm a, mathers c, menezes pr, rimmer e, sczufca m, for alzheimer’s disease international. *The Lancet*, 366:2112–2117, 17 de dezembro de 2005.
- [5] The global burden of disease - 2004 update. *World Health Organization*, dezembro de 2004. atualização em 2008.
- [6] Banco de dados da OMS, 2008. http://www.who.int/healthinfo/global.burden-disease/estimates_regional/en/index.html, acessado em 17 de julho de 2009.

-
- [7] Ministério da Saúde. www.saude.gov.br, acessado em 15/11/2006.
- [8] Comas-Herrera A, Wittenberg R, Pickard L, Knapp M e MRC-CFAS. Cognitive impairment in older people: its implications for future demand for services and costs. *PSSRU Discussion Paper*, page 1728, 2005.
- [9] Langa K. M., Chernew M. E., Kabeto M. U. e et al. National estimates of the quantity and cost of informal caregiving for the elderly with dementia. *J Gen Intern Med*, 16:770–778, 2001.
- [10] N. A. J. Boyle, V. Talesa e. Giovannini, G. Rosi e S. J. Norton. Synthesis e study of thiocarbonate derivatives of choline as potential inhibitors of acetylcholinesterase. *J. Med. Chem.*, 40:3009–3013, 1997.
- [11] R. E. Tanzi, P. H. GEORGE-HYSLOP, J. L. Haines, R. J. Polinsky, L. Nee, J. F. Foncin, R. L. Neve, A. I. McClatchey, P. M. Conneally e J. F. Gusella. The genetic defect in familial alzheimer’s disease is not tightly linked to the amyloid β -protein gene. *Nature*, 329:156–157, 10 de setembro de 1987.
- [12] C. L. Joachim, H. Mori e D. J. Selkoe. Amyloid -protein deposition in tissues other than brain in alzheimer’s disease. *Nature*, 341:226–229, 1989.
- [13] D. B. Schenk, R. E. Rydel, P. May, S. Little, J. Panetta, I Lieberburg e S. Sinha. Therapeutic approaches related to amyloid-.beta. peptide and alzheimer’s disease. *J. Med. Chem.*, 38:4141–4154, 1995.
- [14] M. Hufani, L. Filocamo, S. Lappa e A. Maggi. New acetylcholinesterase inhibitors. drugs in the future. *Drugs in the future*, 22(4):397–410, 1997.
- [15] J. T. Coyle, D. L. Price e M. R. DeLong. Alzheimer’s disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*, 219:1184–1190, 1983.

-
- [16] R. T. Bartus, R. L. Dean III, B. Beer e A. S. Lippa. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217:408–419, 1982.
- [17] G. Benzi e A. Moretti. Is there a rationale for the use of acetylcholinesterase inhibitors in the therapy of alzheimer' disease? *Eur. J. Pharmacol.*, 346:1–13, 1998.
- [18] E. Giacobine e R. Becker. Cholinesterase inhibitors do more than inhibit cholinesterase. *In: Alzahaimeir's disease: Molecular biology to therapy*, pages 188–204, 1997.
- [19] H. Sugimoto, Y. Iimura, Y. Yamanishi e K. Yamatsu. Synthesis and anti-acetylcholinesterase activity of 1-benzyl-4-[(5,6-dimethoxy-1-indanon-2-yl)methyl] piperidine hydrochloride (e2020) and related compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2:871–876, 1992.
- [20] A. Villalobos, J.F. Blake, C. K. Biggers, T. W. Butler, Chen Y. L. Chapin, D. S., J. L. Ives, Liston D. R. Jones, S. B., A. A. Nagel, D. M. Nason, J. A. Nielsen, I. A. Shalaby e W. F. White. Novel benzisoxazole derivatives as potent and selective inhibitors of acetylcholinesterase. *Journal of Medicinal Chemistry*, 37:2721–2734, 1994.
- [21] Y. Kawakami, A. Inoue, T. Kawai, M. Wakita, H. Sugimoto e A. J. Hopfinger. The rationale for e2020 as a potent acetylcholinesterase inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 4:1429–1446, 1996.
- [22] P. Yuan-Ping, F. Hong, P. Quiram, T. Jelacic e S. Brimijoin. Synthesis of alkylene linked bis-tha and alkylene linked benzyl-tha as highly potent and selective inhibitors and molecular probes of acetylcholinesterase. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2:171–176, 1997.

-
- [23] O. Tabarrini, V. Cecchetti, A. Temperini, E. Filippini, M. G. Lamperti e A. Fravolini. Velnacrine thioanalogues as potencial agents for treating alzheimer's disease. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 9:2921–2928, 2001.
- [24] E. J. Barreiro, C. A. Camara, H. Verli, L. Brazil-más, N. G. Castro, W. M. Cintra, Y. Aracava, C. R. Rodrigues e C. A. M. Fraga. Design, synthesis, and pharmacological profile of novel fused pyrazolo[4,3-d]pyridine and pyrazolo[3,4-b][1,8]naphthyridine isosteres: A new class of potent and selective acetylcholinesterase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 46:1144–1152, 2003.
- [25] M. Colombres, N. C. Inestrosa e J. P. Sagal. An overview of the current and novel drugs for alzheimer's disease with particular reference to anti-cholinesterase compounds. *Current Pharmaceutical Design*, 10:3121–3130, outubro de 2004.
- [26] C. Viegas Jr e V. S. Bolzani. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento de alzheimer. *Química Nova*, 27:655–660, 2004.
- [27] J. J. V Cavalcanti. Anacardium occidentale - caju. *Projeto Revitaliza do Caju: Programa de Reuperação e Desenvolvimento da Cajucultura, Secretaria da Agricultura e Pecuária, Governo do Rio Grande do Norte*, 2000.
- [28] J. S. Aggarwal. Cashewnut shell liquid: Part i - chemistry, chemicals and other useful products from it. *Journal of the Colour Society*, pages 1–9, 1975.
- [29] M. S. Ramaiah. Progress of research in cashew industry. *Fette-Seifen-Anstrichmittel*, 78:472–477, 1976.
- [30] O. Attanasi, F. Serra-zanetti, F. Perdomi e A. Scagliarini. L'olio del guscio della noce di anacardio - una preziosa materia prima alternativa. *La Chimica & L'Industria*, 61:718–725, 1979.

-
- [31] *Pesquisas FUNCAP - Revista de Ciência e Tecnologia*, 2:14–18, 1999.
- [32] J. H. P. Tyman. The chemistry of non-isoprenoid phenolic lipids. *Elsevier: Amsterdam*, 9:313–381, 1991.
- [33] M. L. Dos Santos. Contribuição ao aproveitamento de matérias-primas abundantes no país em síntese orgânica - síntese da lasiodiplodina a partir do lcc. Tese de doutorado, Universidade de Brasília - UnB, 1997.
- [34] L. P. L. Logrado. Utilização de matérias-primas abundantes no país na preparação de compostos de interesse biológico - síntese e avaliação farmacológica de novas lactonas de 5- e 12-membros planejadas a partir de lípideos fenólicos de *anacardium occidentale*. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília - UnB, 2004.
- [35] M. L. dos Santos e G. C. De Magalhães. Utilisation of cashew nut shell liquid from *anacardium occidentale* as starting material for organic synthesis: A novel route to lasiodiplodin from cardols. *J. Braz. Chem. Soc.*, 10:13–20, 1999.
- [36] I. S. Resck, M. L. dos Santos e L. A. S Romeiro. New application of triphosgene in a convenient synthesis of 3-aryl-1,3-benzoxazine-2, 4-diones from anacardic acids. *Heterocycles*, 65(2):311–318, 2005.
- [37] L. P. L. Logrado, M. L. dos Santos, D. Silveira, Romeiro L. A. S., M. O. Moraes, B. C. Cavalcanti, L. V. Lotufo e C. do Ó Pessoa. Synthesis and biological evaluation of new salicylate macrolactones from anacardic acid,. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(6A):1217–1225, 2005.
- [38] M. L. Santos, G. C. de Magalhães e R. Brazfilho. Electrophilic aromatic thallation of phenol ethers. an improved experimental procedure. *Journal of Organometallic Chemistry*, 526:C15–C19, 1996.

-
- [39] M. L. Santos e G. C. de Magalhães. Síntese de lactona macrocíclica a partir do ácido anacárdico: Uma reinvestigação. *Química Nova*, 16(6):534–536, 1993.
- [40] M. G. Carvalho, R. Brazfilho, M. L. Santos e G. C. de Magalhães. 1h and 13c nmr of synthetic macrocyclic lactones and their precursors. *Journal Of The Brazilian Chemical Society*, 4(3):158–164, 1993.
- [41] L. A. S. Romeiro, V. C. Silva, M. M. Murta, G. C. Magalhães, L. P. L. Logrado, M. L. Santos, I. S. Resck, E. M. De Araujo, S. GARCIA e G. M. D. Ortiz. Uso de novos compostos capazes de absorver radiação ultravioleta, composições contendo os mesmos e processos para sua preparação. *Pedido de Patente no INPI - PI 0304630-3, 2003 e PI 0406040-7, 2004*.
- [42] L. A. S. Romeiro, V. C. Silva, M. M. Murta, G. C. Magalhães, L. P. L. Logrado, M. L. Santos, I. S. Resck, E. M. De Araujo, S. Garcia, G. M. D. Ortiz e SILVA C. S. da FREITAS Z. M. F de SANTOS E. P. Leitão, A. A. C. Compounds capable of absorbing ultraviolet radiation, composition containing them and processes for their preparation. *PCT WO 2006/042391 A2*.
- [43] Greenblatt H.M.; Dvir H.; Silman I.; Sussman J.L. Acetylcholinesterase: a multifaceted target for structure-based drug desing of anticholinesterase agents for the treatment of alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, 20(3):369–383, 2003.
- [44] Attila Szabo e Neil S. Ostlund. *A. Modern Quantum Chemistry - Introduction to advanced Eletronic Structure Treory*. Dover Publicações, Mineola, NY, 1996.
- [45] J. J. P. Stewart. Optimization of parameters for semimempirical methods. i. method. *J. Comp. Chem.*, 10(2):209–220, 1989.
- [46] J. A. Pople e D. L. Beveridge. *Approximate Molecular Orbital Theory*. McGraw-Hill, New York, 1970.

-
- [47] Roothan C. C. J. New developments in molecular orbital theory. *Rev. Mod. Phys.*, 23:69, 1951.
- [48] A. D. Becke. Density functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys. Rev. A*, 38:3098, 1988.
- [49] Axel D. Becke. Density-functional thermochemistry. iii. the role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7):5648–5652, 1993.
- [50] Lee C., Yang W. e Parr R. G. Development of the colle-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron-density. *Phys Rev. B*, 37:785, 1988.
- [51] Kohn W., Becke A. D. e Parr C. R. G. *J. Phys. Chem*, 100:12974, 1996.
- [52] A.A.N. De Paula. Classificação de moléculas com atividade antimoral e anti-tibiótica por meio de análise de componentes principais e redes neurais. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, Departamento de Física da Universidade Federal de Juiz de Fora. Orientador Barone, P.M.V.B.
- [53] Zsolt László Kovács. *Redes Neurais Artificiais: Fundamentos e Aplicações*. Editora Livraria da Física, São Paulo, 3 edition, 2002.
- [54] F Sato. Estudo da estrutura-atividade das esterilquinolonas e tetraciclina através de descritores quânticos. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Departamento de Física Aplicada - DFA, Instituto de Física Gleb Wataghin - IFGW. Orientador Galvão D.S.
- [55] J.F.F. Abreu. Redes neurais artificiais e aplicações. Monografia de bacharelado, Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, Departamento de Física - Juiz de Fora - MG, 2000. Orientador Barone, P.M.V.B.

-
- [56] R. Beale e T. Jackson. *Neural Computing: An Introduction*. Institute of Physics Publishing, 1992.
- [57] Pereira L. M. Alferes J. J., Damásio C. V. *Principles and Practice of Semantic Web Reasoning*, pages 16–32. Mumbai, India, dezembro dezembro de 2003.
- [58] C. Chatfield e A. J. Collins. *Introduction to Multivariate Analysis*. Champman & Hall, cambrigde university press edition, 1980.
- [59] L. A. Rezende. Estrutura eletrônica de hidrocarbonetos aromáticos heterocíclicos. Dissertação de mestrado, Departamento de Física - Juiz de Fora - MG, 2002. Orientador Barone P.M.V.B.
- [60] K. Pearson. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 2:559–572, 1901.
- [61] H Hotlling. Analysis of a complex of statistical variable into principal components. *Journal of Psychology*, 24:417–441 e 498–520, 1933.
- [62] Informetrix. Ein*sight 3.0. 1991.
- [63] Zoebisch E. G.; Healy E. F. Dewar, M. J. S. Am1: A new purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.*, 107:3902–3909, 1985.
- [64] Chiba 2618588. *Cache 5.0*. fujitsu Limited, Chiba City, japan.
- [65] M. J. Frisch e et al. *Gaussian98*. Pittsburgh, PA. Technical Report, 1998. Revision A.9.
- [66] De Paula A. A. N., Martins J. B. L., Gargano R., Dos Santos M. L. e Romeiro L. A. S. Electronic structure calculations toward new potentially ache inhibitors. *Chem. Phys. Lett.*, 446:304–308, 2007.

-
- [67] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, J. A. Montgomery T. V. Jr. K. N. Kudin J. C. Burant Barone B. Mennucci M. Cossi M. Hada M. Ehara Kitao Bakken J. Jaramillo R. Gomperts R. E. Stratmann C. Pomelli J. W. Ochterski Dannenberg Farkas A. D. Rabuck K. Raghavachari Baboul S. Clifford L. M. I. Komaromi Challacombe A. RobbJ., Gaussian03. *Gaussian, Inc., Wallingford CT*, 2004. Revision D.01.
- [68] Castro N. G., Costa R. S., Pimentel L. S. B., Danuello A., Romeiro N. C., Jr C. V., Barreiro E. J. Fraga C. A. M., Bolzani V. S. e Rocha M. S. *Eur. J. Pharm.*, 580:339–349, 2008.
- [69] Bar-On P., Millard C. B., Harel M., Dvir H., Enz A., Sussman J. L. e Silman I. inetic and structural studies on the interaction of cholinesterases with the anti-alzheimer drug rivastigmine. *Biochem.*, 41:3555–3564, 2002.
- [70] Bartolucci C., Siotto M., Ghidini E., Amari G., Bolzoni P. T., M. Racchi, Villetti G., Delcanale M. e Lamba D. Structural determinants of torpedo californica acetylcholinesterase inhibition by the novel and orally active carbamate based anti-alzheimer drug ganstigmine (chf-2819). *J. Med. Chem*, 49:5051–5058, 2006.
- [71] Darvesh S., Darvesh K. V., McDonald R. S., Mataija D., Walsh R, Mothana s., Lockridge O. e Martin E. Carbamates with differential mechanism of inhibition toward acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *J. Med. Chem.*, 51:4200–4212, 2008.
- [72] Sterling J., Herzig y., Goren T., Finkelstein N., Lerner D., Goldenberg W., Miskolczi I., Molnar S., Rantal F., Tamas T., Toth G., Zagyva A., Zekany A., Lavian G., Gross A., Friedman R., Razin M., Huang W., Kraib B., Chorev M., Youdim M. B. e Weinstock M. Novel dual inhibitors of ache and mao

-
- derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for alzheimer's disease. *J. Med. Chem.*, 45:5260–5279, 2002.
- [73] Niu C. Y., Xu C. Y., Xu Y., Luo X. M., Duan W. H., Silman I., Sussman J. L., Zhu W. L., Chen K. X., Shen J. H. e Jiang H. L. Dynamic mechanism of e2020 binding to acetylcholinesterase: a steered molecular dynamics simulation. *J. Phys. Chem. B*, 109:23730–23738, 2005.
- [74] World development report 2004: equity and development. 2006. *Washington, DC, World Bank*, 2006.
- [75] WHO. International statistical classification of diseases and related health problems 10th, Versão de Revisão de 2007. acessado no dia 18 de julho de 2009.
- [76] MedicinaNET. Classificação internacional de doenças e problemas relacionados à saúde - cid 10, acessado no dia 18 de julho de 2009. <http://www.medicinanet.com.br/cid10.htm>.
- [77] Murray Christopher J. L. e Lopez A. D. A comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020. *Global Burden of Disease*, pages 1–98, 1996.
- [78] Mathers C.D., Lopez A.D. e Murray C. J. L. The burden of disease and mortality by condition: data, methods and results for 2001. *New York, Oxford University Press*, pages 45–240, 2006.
- [79] Lopez A. D., Mathers C. D., Ezzati M. Murray C. J. L. e Jamison D.T. Global burden of disease and risk factors. *New York, Oxford University Press*, 2006. <http://www.dcp2.org/pubs/GBD>, Acessado em 20 de julho de 2009.

Artigos publicados

Electronic structure calculations toward new potentially AChE inhibitors

A.A.N. de Paula ^a, J.B.L. Martins ^{b,*}, R. Gargano ^a, M.L. dos Santos ^b,
L.A.S. Romeiro ^c

^a Instituto de Física, Universidade Brasília, CP04455, Brasília, DF, CEP 70919-970, Brazil

^b Instituto de Química, Universidade de Brasília, CP4478, 70919-970 Brasília, DF, Brazil

^c Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, Brazil

Received 18 July 2007; in final form 14 August 2007

Available online 22 August 2007

Abstract

The main purpose of this study was the use of natural non-isoprenoid phenolic lipid of cashew nut shell liquid from *Anacardium occidentale* as lead material for generating new potentially candidates of acetylcholinesterase inhibitors. Therefore, we studied the electronic structure of 15 molecules derivatives from the cardanol using the following groups: methyl, acetyl, *N,N*-dimethylcarbamoyl, *N,N*-dimethylamine, *N,N*-diethylamine, piperidine, pyrrolidine, and *N*-benzylamine. The calculations were performed at RHF level using 6-31G, 6-31G(d), 6-31+G(d) and 6-311G(d,p) basis functions. Among the proposed compounds we found that the structures with substitution by acetyl, *N,N*-dimethylcarbamoyl, *N,N*-dimethylamine, and pyrrolidine groups were better correlated to rivastigmine indicating possible activity.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is one of the most common causes of mental deterioration and is increasing with the number of elderly population. AD is a progressive neurodegenerative disorder being the fourth leading cause of death in people over 65 years old [1]. Furthermore, this disease is related to about 50–60% of the overall cases of dementia among persons over 65 years of age. Given the overwhelming damage caused by AD not only to the patients, but also to their relatives, and the increasing cost required for health assistance, it is important to look for new active treatments for this disease [2,3].

The neocortex and hippocampus brains regions are those most affected by the characteristic pathology of AD. This includes the neuritic plaques (consisting mainly

of extra cellular deposits of β -amyloid aggregates covered by dead neurons), intracellular formation of neurofibrillary tangles (paired helical filaments), and loss of neuronal synapses and pyramidal neurons [4]. As a result the typical symptomology of AD is characterized by the gross and progressive impairments of cognitive function [3].

The causes of AD have not been completely elucidated. The most successful approach for the symptomatic treatment of AD is the cholinergic hypothesis [5–7], where the cognitive deficit is a consequence of deficiency in acetylcholine (ACh) and consequently decreasing of cholinergic neurotransmission. The activity of the neurotransmitter ACh is determined by the acetylcholinesterase (AChE) which is involved in the regulation of signal transmission at cholinergic synapses [8,9]. Recent studies have shown that AD could also be associated to the reduction of the quantity of presynaptic nicotinic [10] and muscarinic (M2) receptors of acetylcholine, with retention of postsynaptic muscarinic receptors (M1 and M3) [11]. At the cellular level, there is a marked reduction in the levels of

* Corresponding author. Fax: +55 61 3273 4149.

E-mail address: lopes@unb.br (J.B.L. Martins).

neurotransmitters, e.g. acetylcholine, serotonin, noradrenaline, dopamine, glutamate and substance P [8,9]. Therefore, inhibition of AChE appears to be a natural therapeutic strategy to attenuate the cognitive deficit in AD [6,7,12].

AChE is characterized by a deep and narrow ‘gorge’, which contains the catalytic site formed mainly by fourteen aromatic residues presumably involved in the diffusion of acetylcholine [13]. Among these residues several functional aromatic amino acids were identified including the catalytic triad [Ser203(200), His447(400), Glu334(327)] [13,14], the acyl pocket [Phe295(288) and Phe297(290)] [15] and the ‘hydrophobic subunit’. The latter accommodates the alcoholic portion of the covalent adduct (tetrahedral intermediate) and may include residues Trp86(84), Tyr133(130), Tyr330(337) and Phe331(338). These last residues operate through non-polar and/or π stacking interactions, depending on the substrate [15,16]. Ariel et al. [16] suggested that the aromatic side chains of Trp86, Tyr123 and Tyr337 residues form together a continuous ‘aromatic path’ allowing for the accommodation of the different ligands through multiple modes of interaction.

Tacrine, donepezil and derivative/analogs substances have shown AChEI activity for AD treatment. Recently, rivastigmine was approved by FDA. Rivastigmine is a parasympathomimetic and a reversible cholinesterase inhibitor. It increases the concentration of acetylcholine through reversible inhibition of its hydrolysis by cholinesterase. This carbamate inhibits AChE by carbamoylating the serine residue of the catalytic triad in a pseudoirreversible manner.

In searching for new compounds useful for AD treatment, we have employed non-isoprenoid phenolic lipids from *Anacardium occidentale* as starting material to obtain new candidates of AChE enzyme inhibitor. The cashew nut shell liquid (CNSL) is one of most important source of non-isoprenoid phenolic lipids, e.g. anacardic acids, cardols, cardanols and metilcardols [17–19].

The strategy used in this search was to compare the electronic properties of modified phenolic lipids against the rivastigmine inhibitor. The phenolic lipids of CNSL constitute a natural biophoric system including electronic and hydrophobic characteristics. These are relevant structural properties for the molecular recognition of AChE enzyme. The target compounds were modeled by molecular hybridization methodology of known AChE inhibitors in order to generate new potentially active compounds. The molecular pattern used in this work involves the hybridization between the primary pharmacoforic subunit of rivastigmine and the secondary subunit of an alkyl side chain of spectraline.

We have performed a conformational study of these compounds and the aromatic amines, e.g. *N*-methylbenzylamine which represents the aromatic group that could interact with the Trp84 or Phe330 residues trough T or Π stacking interaction. The Letter is organized as follows: In Section 2, we present the methodology and the optimization procedure from the phenolic lipids derivatives of

CNSL and the principal components analysis (PCA) in order to correlate to the rivastigmine structure. The discussion of obtained results is given in Section 3. In Section 4 we present the main conclusions.

2. Methodologies

The target compounds species were modeled using a substitution of hydrogen from the phenolic group of cardanol (R1 in Fig. 1) by groups such as (a) methyl, (b) acetyl, and (c) *N,N*-dimethylcarbamoyl, as well as the substitutions at the benzylic carbon from the side chain (R2 in the Fig. 1) by secondary amines, e.g. (1) *N,N*-dimethylamine, (2) *N,N*-diethylamine (3) pyrrolidine, (4) piperidine, and (5) *N*-benzylamine. These variations yielded a total of 15 structures.

We have optimized the geometries of rivastigmine (Fig. 2) and cardanol derivatives using the semi-empirical AM1 and PM3 methods. The calculations were performed using the MOPAC computational program [20]. The procedure used to optimize the set of molecules obtained through substitutions of cardanol in the positions of R1 and R2 (Fig. 1) are as follows: first, it was performed a pre-optimization and conformational analysis of 15 modeled structures. Fig. 3 depicts the potential energy surface map for the substitution of R1 group by *N,N*-dimethylcarbamoyl and the R2 group by the piperidine group. This map was done varying two dihedral angles using a step of 15° up to complete the cycle. The first dihedral angle (dihedral-1) refers to the plane formed by the group R1 and the plane of oxygen and carbon 2 and 3 of aromatic ring (Fig. 1). The second dihedral angle (dihedral-2) is formed by one of the two carbons of R2 bonded to nitrogen and the plane formed by the nitrogen of R2 and the carbons 7 and 6 of aromatic ring (Fig. 1). Potential energy

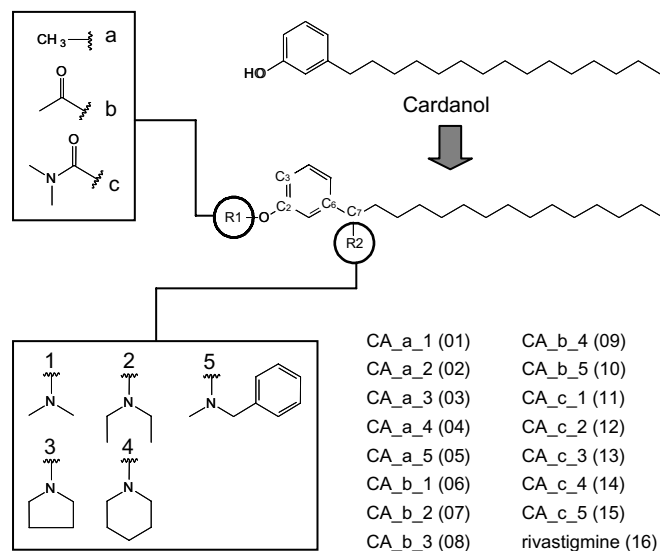


Fig. 1. Schematic representation and notation used for the compound series obtained from the cardanol pattern with substitution of R1 and R2 groups.

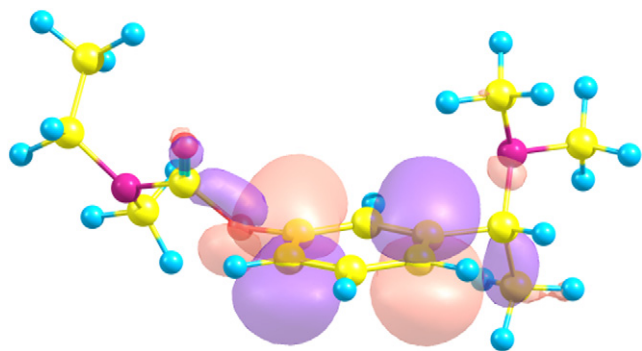


Fig. 2. Optimized geometry of rivastigmine. The HOMO orbital of rivastigmine at RHF/6-311G(d,p) level is also shown.

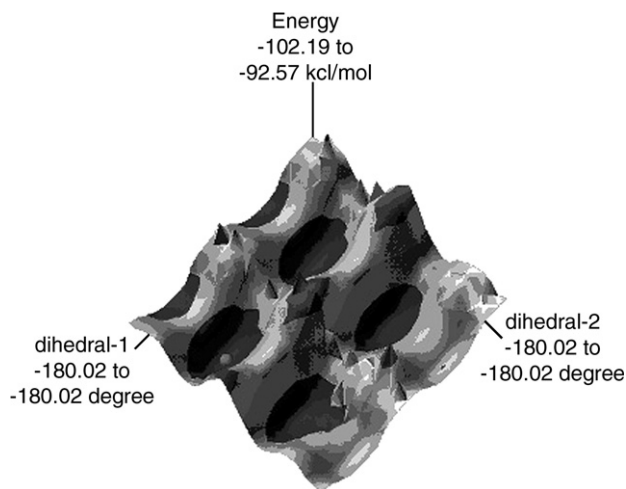


Fig. 3. AM1 surface map formed using the substitution of R1 by *N*-dimethylcarbamoyl and R2 by piperidine.

surface map was used in order to select the conformation of minimum energy and then this minimum structure was fully optimized. Additionally, this structure was used for calculation of single point electronic properties, e.g. highest occupied molecular orbital (HOMO), HOMO – 1, lowest unoccupied molecular orbital (LUMO), and LUMO + 1. The RHF method at 6-31G, 6-31G(d), 6-31+G(d) and 6-311G(d,p) basis sets were used. The same procedure was performed for the remaining structures. From these electronic data we have derived the GAP (LUMO – HOMO), GAP + 1 (LUMO + 1 – HOMO – 1), $\Delta H - 1$ (HOMO – HOMO – 1) and $\Delta L + 1$ (LUMO + 1 – LUMO) properties. These calculations were carried out using the GAUSSIAN 98 computational program [21].

In order to compare the electronic properties obtained from the 15 cardanol derivatives compounds with rivastigmine, we have used the Principal Components Analysis (PCA), as a multivariate statistical method [22]. This method reduces the initial parameter number (electronic properties) for the most relevant structure in this analysis, i.e. closer to rivastigmine. The PCA data were auto scaled using the average values of each electronic property as zero

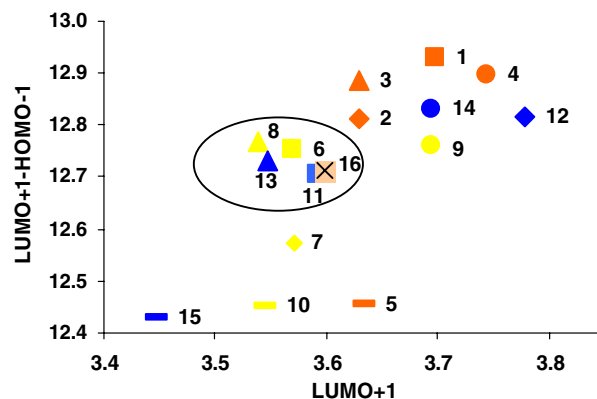


Fig. 4. Contribution for GAP + 1 difference against LUMO + 1 for the cardanol derivatives and rivastigmine.

and the related standard deviation as unit. This procedure was used for eliminating artificial effects where some electronic properties with a large value could dominate the analysis. In the next step, each property of 15 molecules was analyzed in relation to the corresponding rivastigmine value in order to achieve variables with the best separation. We have also analyzed the electronic properties relationships. Fig. 4 shows the contribution for the difference of GAP + 1 versus LUMO + 1 for the cardanol derivatives and rivastigmine. Therefore, this analysis is important to yield the most relevant pair of variables. From these preliminary data the electronic variables used for the PCA calculation were modified and then classified in the principal components (PCs) in order of significance. The first component is a linear combination of electronic properties with larger variance from the original set.

3. Results and discussion

The HOMO orbital of rivastigmine at RHF/6-311G(d,p) level at the AM1 optimized geometry is depicted in Fig. 2. The HOMO orbital of rivastigmine shows a contribution of aromatic ring π orbital. The same contribution is found for all calculated compounds, i.e. it is mainly centered in the rivastigmine fragment for all compounds.

The results of the C7-R2 and O-R1 interatomic distances and C6-C7-R2 and C2-O-R1 angles for the 15 compounds at the AM1 optimized geometries are shown in Table 1. The interatomic distances showed no significant variation among the optimized compounds. The same trend is found for the above angles. The calculated root mean square deviations (RMSD) for the optimized structures compared to the rivastigmine have large values for the CA_a_5, CA_c_1, CA_c_2, CA_c_3, and CA_c_5 compounds. Therefore, the *N*-benzylamine R2 and the R1 *N,N*-dimethylcarbamoyl groups have the largest influence on the optimized geometry.

The results for the 15 studied structures show that for all basis sets considered the values are significantly similar. Therefore, the electronic properties used to select the struc-

Table 1
Optimized geometrical parameters at the AM1 level

	C7-R2	O-R1	C6-C7-R2	C2-O-R1
01	1.5012	1.4058	114.99	117.50
02	1.4969	1.4057	115.52	117.46
03	1.4931	1.4064	114.97	117.47
04	1.5116	1.4085	109.16	116.26
05	1.5009	1.4010	112.59	117.48
06	1.4986	1.3757	116.03	118.51
07	1.5010	1.3703	112.78	122.58
08	1.4961	1.3744	114.65	118.67
09	1.5099	1.3741	108.45	118.77
10	1.4992	1.3748	114.39	118.61
11	1.5019	1.3736	113.54	117.79
12	1.5059	1.3724	108.15	117.76
13	1.4929	1.3725	114.77	117.69
14	1.5013	1.3724	110.11	117.81
15	1.5016	1.3729	113.65	118.33
16	1.5086	1.3716	34.77	119.02

Distance in Å and angles in degrees.

tures that most resemble rivastigmine were the same for all studied basis sets. However, the extended 6-311G(d,p) basis set was chosen in order to better represent the final properties.

The systematic study was performed considering the variance and weight of the four calculated electronic properties (Table 2) and four derived values for both binary analysis and PCs (Fig. 5). Moreover, it was possible to identify the following set as the most significant for the selection of structures: HOMO – 1, LUMO + 1, GAP and $\Delta H - 1$. Using these properties to the PCA it was build the PCs (Table 3), which present the reasonable variance with the following contribution: first principal component (PC1)(78.93%), second principal component (PC2)(16.36%) and third principal component (PC3)(4.71%). The structures 6(CA_b_1), 8(CA_b_3), 11(CA_c_1) and 13(CA_c_3) were identified from the PCs as the best correlated to rivastigmine (16, Fig. 5). These results indicate that these substituents are

Table 2
Electronic structure values for HOMO – 1, HOMO, LUMO and LUMO + 1 of 15 compounds derived from cardanol and rivastigmine

	HOMO – 1	HOMO	LUMO	LUMO + 1
01	–9.06	–8.33	3.65	3.88
02	–8.88	–8.34	3.58	3.93
03	–8.91	–8.40	3.58	3.97
04	–8.94	–8.27	3.69	3.95
05	–8.80	–8.29	3.57	3.66
06	–9.10	–8.84	3.52	3.65
07	–8.86	–8.54	3.52	3.71
08	–9.19	–8.76	3.49	3.58
09	–9.06	–8.64	3.64	3.70
10	–8.96	–8.69	3.48	3.50
11	–9.12	–8.87	3.54	3.58
12	–8.99	–8.55	3.73	3.82
13	–9.11	–8.79	3.50	3.61
14	–8.99	–8.66	3.64	3.83
15	–8.95	–8.59	3.39	3.48
16	–9.02	–8.80	3.55	3.69

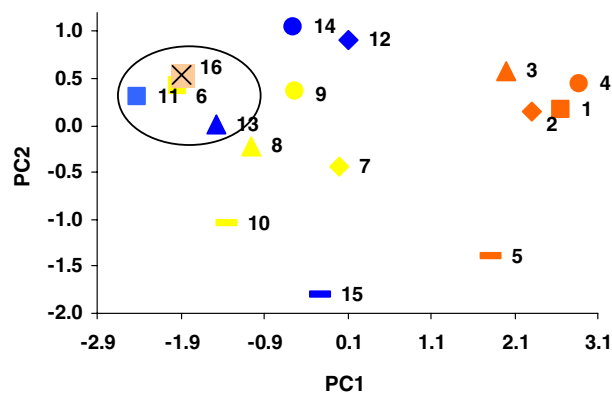


Fig. 5. Score plot of PC2 versus PC1 obtained from the PCA. The separation of cardanol derivatives and rivastigmine are shown.

Table 3
Weight of electronic properties HOMO – 1, LUMO + 1, GAP and $\Delta H - 1$ of PC1, PC2 and PC3 obtained with PCA

	PC1	PC2	PC3
HOMO – 1	0.553	–0.165	–0.182
LUMO + 1	0.427	0.783	–0.392
GAP	–0.486	0.593	0.348
$\Delta H - 1$	0.525	0.856	0.832

promising candidates in order to produce a potential active inhibitor for the treatment of AD from cardanol.

4. Conclusions

In this work we presented electronic structure calculations regarding 15 cardanol derivatives. The main objective of this work was the use of non-isoprenoid phenolic lipids of cashew nut shell liquid as the start material for generating new candidates of AChE enzyme inhibitors. Therefore, we have used RHF method as the 6-31G, 6-31G(d), 6-31+G(d) and 6-311G(d,p) basis functions. In order to calculate the final results we have used the extended 6-311G(d,p) basis set. From the proposed structures we have performed a binary analysis of electronic properties. The large correlation with rivastigmine was found for the structures (6), (8), (11) and (13). This correlation occurs for the properties when analyzed by pairs. Furthermore, the PCs were calculated to select the structures that are better correlated to rivastigmine. From both performed analysis it was possible to devise that structures (6), (8), (11) and (13) are better correlated to rivastigmine indicating a possible activity for them.

Acknowledgements

This work is supported by CNPq and Finatec.

References

- [1] World Health Organization, World health report – shaping the future, WHO, Geneva, 2003.
- [2] C.P. Ferri et al., Lancet 366 (2005) 2112.

- [3] P.T. Francis, A.M. Palmer, M. Snape, G.K. Wilcock, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 66 (1999) 137.
- [4] D.J. Selkoe, *Physiol. Rev.* 81 (2001) 741.
- [5] R.T. Bartus, R.L. Dean III, B. Beer, A.S. Lipka, *Science* 217 (1982) 408.
- [6] G. Benzi, A. Moretti, *Eur. J. Pharmacol.* 346 (1998) 1.
- [7] E. Giacobine, R. Becker, Cholinesterase inhibitors do more than inhibit cholinesterase, in: *Alzheimer's Disease: Molecular Biology to Therapy*, Birrkhayser, Boston, 1997, p. 188.
- [8] M. Hufani, L. Filocamo, S. Lappa, A. Maggi, *Drug Future* 22 (1997) 397.
- [9] J.T. Coyle, D.L. Price, M.R. DeLong, *Science* 219 (1983) 1184.
- [10] P.J. Whitehouse, A.M. Martion, K.A. Marcus, *Arch. Neurol.* 45 (1998) 722.
- [11] A. Nordberg, I. Alafuzoff, B. Winblad, *F. Neurosci. Res.* 31 (1992) 103.
- [12] H. Sugimoto, Y. Yamanishi, Y. Imura, Y. Kawakami, *Curr. Med. Chem.* 7 (2000) 303.
- [13] J.L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman, *Science* 253 (1991) 872.
- [14] A. Shafferman et al., *EMBO J.* 11 (1992) 3561.
- [15] A. Ordentlich et al., *J. Biol. Chem.* 268 (1993) 17083.
- [16] N. Ariel, A. Ordentlich, D. Barak, T. Bino, B. Velan, A. Shafferman, *Biochem. J.* 335 (1998) 95.
- [17] L.M. Dos Santos, Gouvan C. De Magalhaes, *J. Braz. Chem. Soc.* 10 (1999) 13.
- [18] I.S. Resck, L.M. Dos Santos, L.A.S. Romeiro, *Heterocycles* 65 (2005) 311.
- [19] L.P.L. Logrado et al., *J. Braz. Chem. Soc.* 16 (2005) 1217.
- [20] MOPAC2007, James J.P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Version 7.101W.
- [21] M.J. Frisch et al., GAUSSIAN 98, Revision A.11, Technical Report, Gaussian, Pittsburgh, PA, 1998.
- [22] C. Chatfield, J. Collins, *Introduction to Multivariate Analysis*, Cambridge University Press, Cambridge, 1980.



Original article

New potential AChE inhibitor candidates

A.A.N. de Paula^{a,*}, J.B.L. Martins^b, M.L. dos Santos^b, L. de C. Nascente^{b,c}, L.A.S. Romeiro^{b,c}, T.F.M.A. Areas^d, K.S.T. Vieira^d, N.F. Gambôa^d, N.G. Castro^d, R. Gargano^a

^a Instituto de Física, Universidade Brasília, CP04455, Brasília, DF, CEP 70919-970, Brazil

^b Instituto de Química, Universidade de Brasília, CP4478, 70904-970 Brasília, DF, Brazil

^c Pós-Graduação em Gerontologia, Universidade Católica de Brasília, QS 07 Lote 01, CEP 71966-700 Taguatinga Sul, Brasília, DF, Brazil

^d Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 March 2008

Received in revised form

19 January 2009

Accepted 24 March 2009

Available online 16 April 2009

Keywords:

Acetylcholinesterase

Principal component analysis

ABSTRACT

We have theoretically studied new potential candidates of acetylcholinesterase (AChE) inhibitors designed from cardanol, a non-isoprenoid phenolic lipid of cashew *Anacardium occidentale* nut-shell liquid. The electronic structure calculations of fifteen molecule derivatives from cardanol were performed using B3LYP level with 6-31G, 6-31G(d), and 6-311 + G(2d,p) basis functions. For this study we used the following groups: methyl, acetyl, *N,N*-dimethylcarbamoyl, *N,N*-dimethylamine, *N,N*-diethylamine, piperidine, pyrrolidine, and *N,N*-methylbenzylamine. Among the proposed compounds we identified that the structures with substitution by *N,N*-dimethylcarbamoyl, *N,N*-dimethylamine, and pyrrolidine groups were better correlated to rivastigmine, and represent possible AChE inhibitors against Alzheimer disease.

© 2009 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is characterized by the progressive impairment of cognitive functions, often accompanied by behavioral disturbances [1]. Unfortunately, the causes of AD have not been completely elucidated and no disease-modifying treatment is available yet. However, the most successful approach for the symptomatic treatment of AD is based on the cholinergic hypothesis, that the cognitive deficit is a consequence of deficiency in acetylcholine (ACh) and decreased cholinergic neurotransmission [2–4].

Whitehouse et al. [5] showed that AD could also be associated with the reduction of the quantity of presynaptic nicotinic and muscarinic (M2) receptors of ACh, with retention of postsynaptic muscarinic receptors (M1 and M3) [6]. Besides ACh, Storga et al. [7] and Coyle et al. [8] verified that the levels of other neurotransmitters, such as serotonin, noradrenaline, dopamine, glutamate and substance P, are significantly reduced. The effects of ACh are terminated by acetylcholinesterase (AChE), which hydrolyzes ACh via an acylenzyme mechanism that involves nucleophilic (serine) and general acid base (histidine) elements [9–11]. Thus an AChE inhibitor (AChEI) may improve cholinergic neurotransmission and

could be used as a natural therapeutic strategy in order to attenuate the cognitive deficit in AD [3,4,12,13]. Therefore, several experimental and theoretical methods have been applied to study acetylcholinesterase, as well as novel candidate AChEIs [14–19].

Anticholinesterasic compounds such as tacrine and donepezil, as well as the alkaloids galantamine, physostigmine, huperzine and acetyl-spectraline showed promising activity for AD treatment [20]. Another centrally acting and slowly reversible cholinesterase inhibitor, called rivastigmine, was approved for AD by the FDA [20]. Rivastigmine increases the concentration of ACh through a long-lasting carbamoylation of acetylcholinesterase, enhancing cholinergic function.

In searching for new compounds useful for AD treatment, we designed new candidate AChEIs from non-isoprenoid phenolic lipids (NIPLs) of *Anacardium occidentale* [21]. Anacardic acids, cardols, cardanols and methylcardols are the main NIPL components of the cashew nut-shell liquid (CNSL) and have been used for potential bioactive compounds generation [22–24]. The phenolic lipid derivatives have electronic, structural and hydrophobic characteristics relevant for the molecular recognition of AChE. In a recent work [21] we have compared the electronic properties (HOMO, LUMO, HOMO – 1, LUMO – 1, energies and derived values) of modified phenolic lipids against rivastigmine, using semi-empirical and RHF methods. The molecular pattern used involves the hybridization between the primary pharmacophoric subunit of rivastigmine and the secondary subunit of an alkyl side chain of acetyl-spectraline.

* Corresponding author. Tel.: +55 61 3307 2900; fax: +55 61 3307 2363.

E-mail address: anevesfisica@yahoo.com.br (A.A.N. de Paula).

Table 1

Notation used for the substitution of hydrogen from the phenolic group of cardanol (R1 in the Fig. 1) and benzylic carbon from the side chain (R2 in the Fig. 1). CA stands for cardanol.

Compound number	Structure
01	CA_a_1
02	CA_a_2
03	CA_a_3
04	CA_a_4
05	CA_a_5
06	CA_b_1
07	CA_b_2
08	CA_b_3
09	CA_b_4
10	CA_b_5
11	CA_c_1
12	CA_c_2
13	CA_c_3
14	CA_c_4
15	CA_c_5
16	Rivastigmine

(4) piperidine, and (5) *N,N*-methylbenzylamine. The variations obtained from the substitutions yielded fifteen structures of cardanol derivatives. Table 1 shows the notation used for the cardanol derivative compounds used in this work.

Geometries of these fifteen structures as well as rivastigmine were taken from the optimized results [21] using the semi-empirical AM1 and PM3 methods. Conformational analysis of minimum energy was performed using the potential energy surface maps (Fig. 3 of Ref. [21]). These minimum structures were fully optimized and the procedures for this study used the following steps:

- The single point electronic property calculations, i.e., energies of the two highest occupied molecular orbitals $E(\text{HOMO})$ and $E(\text{HOMO} - 1)$, energies of the two lowest unoccupied molecular orbitals $E(\text{LUMO})$ and $E(\text{LUMO} + 1)$, charge of aromatic ring (see Fig. 1 for the notation), charge of C_{11} ($C-C_{11}$), charge of O_{56} ($C-O_{56}$) and charge of nitrogen belonging to R2 group ($C-N_{R2}$) were performed using B3LYP method with the following basis sets: 6-31G, 6-31G(d) and 6-311 + G(2d,p).
- From these electronic data we next derived the GAP [$E(\text{LUMO}) - E(\text{HOMO})$], $\text{GAP} + 1$ [$E(\text{LUMO} + 1) - E(\text{HOMO} - 1)$], $\Delta H - 1$ [$E(\text{HOMO}) - E(\text{HOMO} - 1)$] and $\Delta L + 1$ [$E(\text{LUMO} + 1) - E(\text{LUMO})$] properties.

The calculations were carried out using Gaussian03 computational program [26].

In order to compare the electronic properties obtained from the fifteen cardanol derivatives with rivastigmine, we have used PCA. This method reduces the initial parameter set (electronic properties) to the most relevant ones regarding the ability to select compounds that are more similar to rivastigmine. The PCA data were auto scaled using the average values of each electronic property as zero and the related standard deviation as unit. This procedure was used in order to eliminate artificial effects, where some electronic properties with large values could dominate the analysis. The next step was to analyze each property of fifteen derivatives with the aim of selecting compounds that most resemble rivastigmine. We have also analyzed pairs of electronic property relationships among the fifteen compounds. This last analysis was important to yield the most relevant variables in relation to rivastigmine. For example, Fig. 2 shows the contribution of $E(\text{LUMO} + 1)$ versus $C-N_{R2}$ for the cardanol derivatives and rivastigmine. From these preliminary data, the electronic variables used for the PCA calculation were modified and then classified into

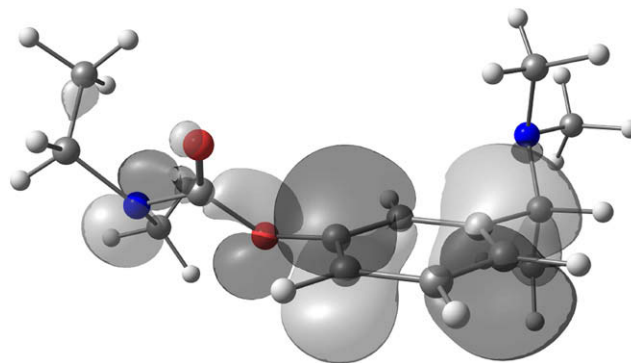


Fig. 3. Optimized geometry of rivastigmine. The HOMO – 1 orbital of rivastigmine at B3LYP/6-311 + G(2d,p) level is also shown.

the principal components (PCs) in order of significance. The first component is a linear combination of electronic properties with the highest variance of data in relation to the others.

3. Results and discussion

The values for the studied properties taken from the fifteen structures were very close for all basis sets considered. Consequently, throughout the text we have reported only the most extended basis set 6-311 + G(2d,p) in order to better represent the final results.

The HOMO – 1 orbital of rivastigmine at B3LYP/6-311 + G(2d,p) level using AM1 optimized geometry (Fig. 3) shows a main contribution from the π orbital of the aromatic ring. The same contribution of HOMO – 1 orbital is found for all calculated structures, i.e., the contributions are centered mainly in the fragment analogous to rivastigmine for all compounds.

Table 2 presents the results of HOMO – 1, HOMO, LUMO and LUMO + 1 energies, and also the charge of benzyl ring, C_{11} , O_{56} , and N_{R2} of cardanol derivatives and rivastigmine.

A systematic study was performed considering binary analysis of all properties, PC variance and weight of the calculated electronic data. Fig. 2 shows the $E(\text{LUMO} + 1)$ versus $C-N_{R2}$ for the CA_c_1 and

Table 2

Electronic structure values for $E(\text{HOMO} - 1)$, $E(\text{HOMO})$, $E(\text{LUMO})$, $E(\text{LUMO} + 1)$, charge for ring, $C-C_{11}$, $C-O_{56}$ and $C-N_{R2}$ of fifteen compounds derived from cardanol and rivastigmine (16).

	Orbital energies (eV)				Charge			
	HOMO – 1	HOMO	LUMO	LUMO + 1	Ring	C_{11}	O_{56}	N_{R2}
01	-6.13	-5.74	-0.37	-0.15	0.20	0.35	-0.38	-0.46
02	-6.16	-5.45	-0.38	-0.11	0.22	0.15	-0.36	-0.64
03	-6.18	-5.43	-0.40	-0.09	0.29	-0.08	-0.35	-0.43
04	-6.11	-5.50	-0.35	-0.12	0.21	0.31	-0.38	-0.62
05	-6.11	-5.77	-0.49	-0.35	0.04	0.40	-0.35	-0.45
06	-6.77	-5.81	-0.55	-0.50	0.28	0.41	-0.54	-0.47
07	-6.50	-5.81	-0.78	-0.36	0.27	0.33	-0.52	-0.70
08	-6.83	-5.53	-0.56	-0.51	0.35	0.15	-0.54	-0.47
09	-6.67	-5.54	-0.50	-0.42	0.29	0.35	-0.54	-0.59
10	-6.80	-5.87	-0.59	-0.58	0.34	0.31	-0.54	-0.41
11	-6.76	-5.80	-0.49	-0.48	0.21	0.48	-0.43	-0.46
12	-6.62	-5.56	-0.34	-0.28	0.19	0.46	-0.45	-0.73
13	-6.78	-5.45	-0.51	-0.45	0.34	-0.10	-0.44	-0.42
14	-6.59	-5.50	-0.39	-0.26	0.21	0.26	-0.44	-0.65
15	-6.67	-5.69	-0.61	-0.57	0.33	0.05	-0.43	-0.35
16	-6.64	-5.99	-0.49	-0.44	0.19	0.33	-0.39	-0.42

CA_c_3 cardanol derivatives (Table 1) that most resemble rivastigmine.

Initially, we have used the properties of all structures in the PC analysis. Then we have excluded some of the properties from this analysis trying to find their relevance. This allowed us to find the three most significant properties divided into three cases, named cases I, II and III (Fig. 4). We identified that the descriptors E(HOMO - 1), E(LUMO + 1) and C-O₅₆ are common to the three cases. They appeared to be the main properties for a good clustering among the structures best correlated to rivastigmine. Besides these

properties we also identified C-N_{R2}, used in cases I and III, LUMO, used in cases II and III, and $\Delta L + 1$, used in case II, as suitable descriptors. Table 3 presents the variance of each component (PC1, PC2, and PC3), with its respective percentage. In case II we had the highest percent value for PC1 and we had the best percent of cumulative variance, nearly 97.5%, for the first three PCs in cases I and II. Table 4 shows the weights of the most significant properties for the first three PCs. We found from the PCA analysis (Fig. 4) that the structures that are best correlated to rivastigmine are the dimethylcarbamates **11** (CA_c_1) and **13** (CA_c_3) for all three cases

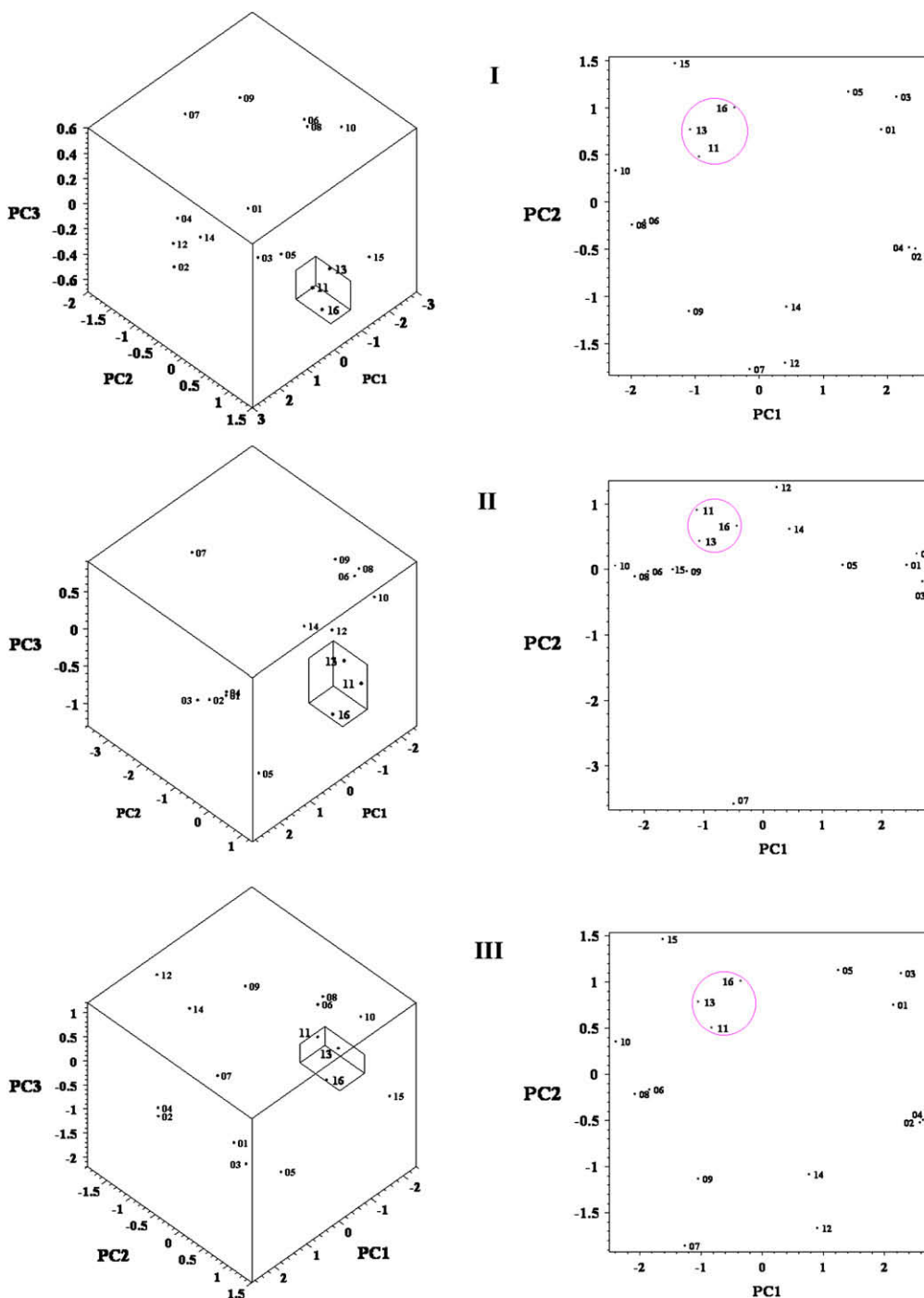


Fig. 4. Score plots of sets I, II, and III obtained from the PCA, showing the separation of cardanol derivatives and rivastigmine.

Table 3

Variance, percent and cumulative in cases I, II and III of PC1, PC2 and PC3 obtained with PCA.

	Case I			Case II			Case III		
	Variance	Percent	Cumulative	Variance	Percent	Cumulative	Variance	Percent	Cumulative
PC1	39.35	65.59	65.59	51.00	68.00	68.00	47.01	62.68	62.68
PC2	16.48	27.47	93.06	16.46	21.95	89.95	16.50	22.00	84.68
PC3	2.65	4.41	97.47	5.87	7.82	97.77	8.13	10.84	95.52

studied. These results indicated the substituents most likely to yield promising candidates to the development of AChE inhibitors for the treatment of AD from cardanol.

The predictions of the analysis were then evaluated experimentally for the series of dimethylcarbamates **11–15**. The compounds were synthesized from cardanol as hydrochlorides, using standard methods. Enzyme inhibition was assayed as previously described [31], except that purified AChE from *Electrophorus electricus* was used instead of tissue homogenates. Compounds **11–13** inhibited AChE in a concentration-dependent manner (Fig. 5), while **14** and **15** showed little activity, inhibiting the enzyme by less than 25% at 100 μM . The dimethylamino **11** was the most potent, with an IC_{50} of 50.0 μM , followed closely by the pyrrolidinyl **13** (84.3 μM) and the diethylamino **12** (251.1 μM). Thus, the PCA procedure correctly selected the two most potent compounds in the series.

According to the literature [27–29] rivastigmine reaches the bottom of the active-site gorge where it interacts with the Ser200 residue of the catalytic triad Ser200-His440-Glu327 through its carbamoyl moiety while the aromatic and the ammonium groups are addressed to interact with the conserved residue Trp84 (adjacent to the catalytic triad) and a second aromatic residue, Phe330, which seems to be involved in cation- π aromatic or hydrophobic interactions. By a common mechanism of inhibition, the carbamoyl group is covalently linked to the active-site serine, while the leaving group, (-)-*S*-3-[1-(dimethylamino)-ethyl]phenol (NAP), itself a competitive AChE inhibitor, remains in the active-site gorge. Bar-On and co-workers demonstrated that phenol group of NAP is within hydrogen bonding distance to interact with the backbone of the Gly118 residue, while aromatic and methyl groups make hydrophobic-aromatic and π - π interactions with Trp84 and Phe330 [27].

Considering the possibility that the cardanol derivatives are able to penetrate deeply until reaching the bottom of the active-site gorge in the same way of rivastigmine and taking into account the results previously described by Sterling and co-workers [30] that showed a 30-fold higher AChEI activity of the *N,N*-dimethylcarbamoyl analogue of rivastigmine in comparison with the *N,N*-ethyl-methylcarbamoyl moiety, we expect a better access of the Ser200 residue to the *N,N*-dimethylcarbamoyl moiety of CA_c_1 (**11**) and CA_c_3 (**13**) resulting in the carbamoylation of this residue. In order to evaluate the influence of the hydrophobic contribution as well as conformational freedom of the ammonium

Table 4Weight of electronic properties E(HOMO - 1), E(LUMO + 1), C-O₅₆, C-N_{R2}, E(LUMO) and $\Delta\text{L} + 1$ of PC1, PC2 and PC3 in cases I, II and III, obtained with PCA.

	Case I			Case II			Case III		
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3
E(HOMO - 1)	0.58	0.12	0.61	0.51	-0.15	-0.22	0.50	0.10	-0.52
E(LUMO + 1)	0.59	-0.17	0.13	0.52	-0.04	0.44	0.54	-0.18	-0.10
C-O ₅₆	0.51	0.44	-0.72	0.46	0.23	-0.74	0.47	0.43	-0.09
C-N _{R2}	-0.23	0.87	0.30				-0.20	0.88	0.05
E(LUMO)				0.36	0.66	0.43	0.44	0.03	0.84
$\Delta\text{L} + 1$				0.36	-0.69	0.18			

moiety, the dimethylamine (**11**) and its conformationally constrained bis-homologue pyrrolidine (**13**) groups were selected. In this case, the increase of a hydrophobic region in the pyrrolidine is expected to interact with the Trp84 and Phe330 residues better than dimethylamine, unless there is a steric restriction in the adjacent catalytic triad region delimiting the volume accessible to the pyrrolidinium group. Concerning the long aliphatic side chain, we expected it to accommodate along the gorge, where there are possible interactions with complementary hydrophobic/aromatic aminoacid residues.

On the other hand, Castro and co-workers [31] using flexible docking experiments pointed out that derivatives of the natural piperidine alkaloid (-)-spectaline were not likely to interact with the active-site triad, possibly due to the volume of long aliphatic side chains. In a similar manner, if the volumes of the long aliphatic side chain of CA_c_1 (**11**) and CA_c_3 (**13**) do not allow the derivatives to reach the bottom of the active site, they might be able to interact similarly to spectaline or even donepezil [15] by cation- π and π - π aromatic interactions of the ammonium groups and the aromatic moiety with the aromatic residue Phe330, Trp84 halfway up the active-site gorge or Trp279 at the peripheral anionic site (PAS), while hydrogen bonds are expected to occur with ammonium and carbamate groups from the backbone of the aromatic and hydrophobic and hydrogen bond donors at the PAS residues, e.g., Tyr70, Tyr121 and Trp279, and Phe288, Phe290, Phe331, Arg289 and Ser286 above the PAS at the top of the gorge as well as water molecules [15]. Since the walls of the gorge are lined predominantly by aromatic residue side chains, hydrophobic interactions from the long aliphatic chain of these cardanol derivatives are expected to be a significant contribution in the recognition by AChE and modulation of their activities.

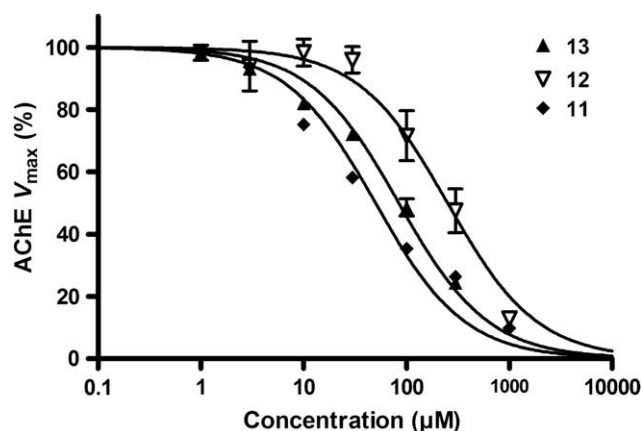


Fig. 5. Acetylcholinesterase inhibition curves for selected cardanol derivatives. Symbols are means \pm SD ($n = 3$) of *E. electricus* AChE maximum reaction velocity (V_{max}) relative to control (without inhibitor). The solvent had negligible effects at the concentrations tested. The lines depict the regression function for the standard single-site complete inhibition model.

4. Conclusions

The aim of this work was to investigate newly designed candidates AChE inhibitors based on cardanol derivatives using a multivariate analysis.

For the achievement of our purpose we have used the B3LYP method with the 6-31G, 6-31G(d) and 6-311 + G(2d,p) basis functions. Final results were reported using the extended 6-311 + G(2d,p) basis set. The analyses of the proposed structures were performed by pairs in order to find the main descriptors, based on the correlation with rivastigmine. The most relevant electronic properties emerging from the PCA were E(HOMO – 1), E(LUMO + 1), C–O₅₆, C–N_{R2}, E(LUMO) and $\Delta L + 1$.

The PCA also showed that compounds **11** and **13** are better correlated to rivastigmine. The analyses predicted a possible activity of these compounds as inhibitors of AChE and this was confirmed by synthesis and pharmacological testing. Efforts to further clarify the mechanism of enzyme inhibition of these compounds are currently under way.

Acknowledgments

This work was supported by CNPq and Finatec.

References

- [1] P.T. Francis, A.M. Palmer, M. Snape, G.K. Wilcock, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 66 (1999) 137–147.
- [2] R.T. Bartus, R.L. Dean III, B. Beer, A.S. Lippa, *Science* 217 (1982) 408–414.
- [3] G. Benzi, A. Moretti, *Eur. J. Pharmacol.* 346 (1998) 1–13.
- [4] E. Giacobine, R. Becker, *Cholinesterase Inhibitors do More Than Inhibit Cholinesterase*, in: *Alzheimer's Disease: Molecular Biology to Therapy*, Birrkhauser, Boston, 1997.
- [5] P.J. Whitehouse, A.M. Martion, K.A. Marcus, *Arch. Neurol.* 45 (1998) 722–724.
- [6] A. Nordberg, I. Alafuzoff, B. Winblad, *J. Neurosci. Res.* 31 (1992) 103–111.
- [7] D. Storga, K. Vrecko, J.G. Birkmayer, G. Reinnegger, *Neurosci. Lett.* 203 (1996) 29–32.
- [8] J.T. Coyle, D.L. Price, M.R. DeLong, *Science* 219 (1983) 1184–1190.
- [9] D.M. Quinn, *Chem. Rev.* 87 (1987) 955–979.
- [10] J.L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman, *Science* 253 (1991) 872–879.
- [11] T.K. Manojkumar, C.Z. Cui, K.S. Kim, *J. Comput. Chem.* 26 (2005) 606–611.
- [12] H. Sugimoto, Y. Yamanishi, Y. Iimura, Y. Kawakami, *Curr. Med. Chem.* 7 (2000) 303–339.
- [13] N.C. Inestrosa, M.C. Dinamarca, A. Alvarez, *FEBS J.* 275 (2008) 625–632.
- [14] Y. Paukku, A. Michalkova, D. Majumdar, J. Leszczynski, *Chem. Phys. Lett.* 422 (2006) 317–322.
- [15] C.Y. Niu, Y.C. Xu, Y. Xu, X.M. Luo, W.H. Duan, I. Silman, J.L. Sussman, W.L. Zhu, K.X. Chen, J.H. Shen, H.L. Jiang, *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 23730–23738.
- [16] S. Kone, N. Galland, J. Graton, B. Illien, C. Laurence, C. Guillou, J.Y. Le Questel, *Chem. Phys.* 328 (2006) 307–317.
- [17] H.F. Ji, H.Y. Zhang, *Theochem-J. Mol. Struct.* 767 (2006) 3–9.
- [18] C. da Silva, V.L. Campo, I. Carvalho, C.A. Taft, *J. Mol. Graphics* 25 (2006) 169–175.
- [19] I. Correia, N. Ronzani, N. Platzter, B.T. Doan, J.C. Beloeil, *J. Phys. Org. Chem.* 19 (2006) 148–156.
- [20] G. Orhan, I. Orhan, B. Sener, *Lett. Drug Des. Discov.* 3 (2006) 268–274.
- [21] A.A.N. de Paula, J.B.L. Martins, R. Gargano, M.L. dos Santos, L.A.S. Romeiro, *Chem. Phys. Lett.* 446 (2007) 304–308.
- [22] M.L. Dos Santos, G.C. De Magalhaes, *J. Braz. Chem. Soc.* 10 (1999) 13–20.
- [23] I.S. Resck, M.L. Dos Santos, L.A.S. Romeiro, *Heterocycles* 65 (2005) 311–318.
- [24] L.P.L. Logrado, M.L. Dos Santos, D. Silveira, L.A.S. Romeiro, M.O. Moraes, B.C. Cavalcanti, L.V. Lotufo, C.O. Pessoa, *J. Braz. Chem. Soc.* 16 (2005) 1217–1225.
- [25] C. Chatfield, J. Collins, *Introduction to Multivariate Analysis*, Cambridge University Press, Cambridge, 1980.
- [26] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, R.J. Cheeseman, J.A. Montgomery, T.V. Jr, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, T.N.M. Ishida, Y. Honda, O. Kitao, M.K.H. Nakai, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, C.A.V. Bakken, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, A.J.A.O. Yazyev, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, K.M.P.Y. Ayala, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S.D.V.G. Zakrzewski, A.D. Daniels, M.C. Strain, D.K.M.O. Farkas, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.V.O.J.B. Foresman, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, B.B.S.J. Cioslowski, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, R.L.M.I. Komaromi, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, A.N.C.Y. Peng, M. Challacombe, P.M.W. Gill, W.C.B. Johnson, M.W. Wong, C. Gonzalez, J.A. Pople, *Gaussian03, Revision D.01*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
- [27] P. Bar-On, C.B. Millard, M. Harel, H. Dvir, A. Enz, J.L. Sussman, I. Silman, *Biochemistry* 41 (2002) 3555–3564.
- [28] C. Bartolucci, M. Siotto, E. Ghidini, G. Amari, P.T. Bolzoni, M. Racchi, G. Villetti, M. Delcanale, D. Lamba, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 5051–5058.
- [29] S. Darvesh, K.V. Darvesh, R.S. McDonald, D. Mataija, R. Walsh, S. Mothana, O. Lockridge, E. Martin, *J. Med. Chem.* 51 (2008) 4200–4212.
- [30] J. Sterling, Y. Herzig, T. Goren, N. Finkelstein, D. Lerner, W. Goldenberg, I. Miskolczy, S. Molnar, F. Rantal, T. Tamas, G. Toth, A. Zagyva, A. Zekany, G. Lavian, A. Gross, R. Friedman, M. Razin, W. Huang, B. Kraiss, M. Chorev, M.B. Youdim, M. Weinstock, *J. Med. Chem.* 45 (2002) 5260–5279.
- [31] N.G. Castro, R.S. Costa, L.S.B. Pimentel, A. Danuello, N.C. Romeiro, C. Viegas Jr., E.J. Barreiro, C.A.M. Fraga, V.S. Bolzani, M.S. Rocha, *Eur. J. Pharm.* 580 (2008) 339–349.

“O leitor que mais admiro é aquele que não chegou até a presente linha. Neste momento já interrompeu a leitura e está continuando a viagem por conta própria.”

Mário Quintana