

ANÁLISE CONFORMACIONAL DE COMPOSTOS DE BIGINELLI COM ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA

M. V. Marques, D. Russowsky, L. A. M. Fontoura

Curso de Química, Centro de Educação Ciências e Artes, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).

Av. Farroupilha, 8001, CEP 92425-900 Canoas – RS

Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Cp15003, CEP 91501-970 Porto Alegre – RS

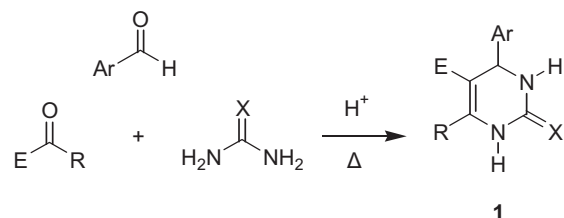
marcelovlp@hotmail.com

Resumo: Diidropirimidinonas são heterociclos com atividade antineoplásica conhecida. O monastrol e alguns análogos são exemplos. A análise conformacional representa uma etapa preliminar importante em estudos que visam correlacionar a estrutura do composto com sua atividade. Neste trabalho, descrevemos a análise conformacional do monastrol e diversos análogos por cálculo semi-empírico AM1 e *ab initio* HF/6-31G*. Quatro geometrias de equilíbrio foram encontradas (*s-cis/ap*, *s-cis/sp*, *s-trans/ap* e *s-trans/sp*), tendo como rotações internas importantes a do sistema carbonilado α,β -insaturado e a do grupo arila ligado ao heterociclo.

Palavras-chave: análise conformacional, diidropirimidinonas, compostos de Biginelli, AM1, HF/6-31G*

Introdução

Em 1893, o químico italiano Pietro Biginelli descobriu uma reação multicomponente que produzia diidropirimidinonas multifuncionalizadas (1), DHPM, em um simples processo de uma única operação (esquema 1) [1].



R = alquila, H
Ar = arila
E = grupo retirador de elétrons
X = O, S

Esquema 1. Síntese de diidropirimidinonas multifuncionalizadas (1) de Biginelli.

Desde os anos 80, o interesse em DHPMs foi aumentado significativamente, devido, em particular, a sua similaridade estrutural com as diidropiridinas (2), DHP, conhecidas como moduladores do canal de cálcio (figura 1) [2].

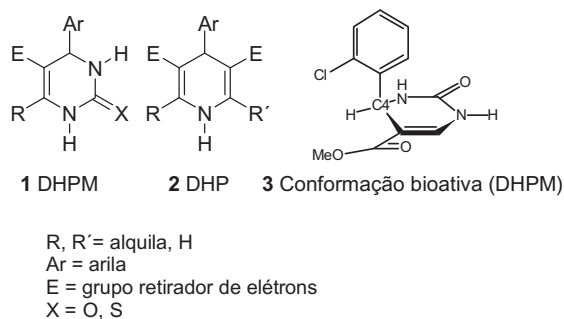


Figura 1. Estruturas de diidropirimidinonas (1), diidropiridinas (2) multifuncionalizadas e da conformação bioativa da DHPM (3).

Foi observado que DHPMs exibiam similaridade farmacológica com a DHP. Mais recentemente, foi constatado que DHPMs não serviam somente como moduladores do canal de cálcio, mas também possuíam atividade biológica como inibidores do câncer de próstata [2].

O monastrol (**4a**) é um exemplo de diidropirimidinona, cuja capacidade de afetar a divisão celular é bastante conhecida, sendo assim um potencial agente anticâncer [3,4]. Russowsky e colaboradores [4] descreveram a síntese do monastrol (**4a**) e de onze análogos e determinaram a atividade anti-proliferativa em sete diferentes linhagens de células humanas. Entre as células testadas estão as de mama, melanoma, rim, ovário e próstata. Os compostos são apresentados na figura 2.

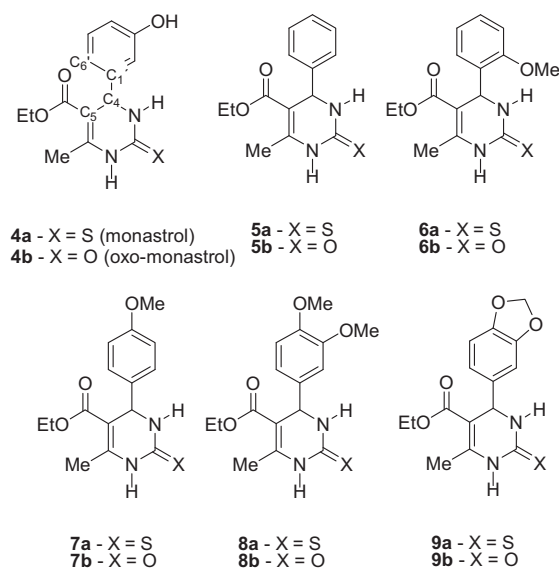


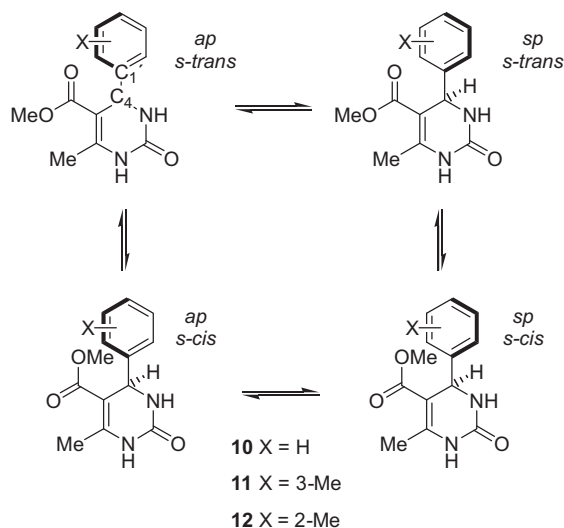
Figura 2. Estruturas do monastrol (**4a**) e de seus análogos com atividade antineoplásica.

A análise conformacional consiste na interpretação ou predição das propriedades físicas ou químicas de uma determinada molécula através das suas variadas conformações [5]. Entre outras informações, a análise conformacional permite o conhecimento e descrições detalhadas das geometrias de equilíbrio. Estas informações são importantes em Química Medicinal, pois estes conformêros indicam de que forma os grupamentos funcionais estão orientados, descobrindo assim aspectos

relevantes de como a molécula pode interagir com um receptor específico, uma vez que a conformação mais estável deve estar em maior número durante o processo de interação com o receptor. Entretanto, existe uma restrição quanto a estas informações porque não há necessariamente relação entre a conformação mais estável e a conformação bioativa, pois a geometria de equilíbrio pode sofrer mudanças na sua conformação de origem no momento da sua aproximação com o sítio receptor [6].

Uma proposta de conformação bioativa para diidropirimidinonas (**3**) que atuam como moduladores do canal de cálcio surgiu em 1995 (Figura 1). A configuração absoluta do carbono quiral é importante porque a atividade agonista/antagonista é dependente da orientação do grupo arila que atua como uma chave molecular entre elas. O heterociclo assume uma conformação próxima a bote orientando o grupo arila na posição axial, o qual bissecciona o ângulo formado entre o C4 e seus vizinhos no anel. O substituinte do grupo arila posiciona-se *synperiplanar* (*sp*) em relação ao hidrogênio ligado a C4. O sistema carbonílico α,β -insaturado do grupo éster assume orientação *s-cis* [7].

Em 1997, Kappe e colaboradores [7] descreveram o primeiro estudo conformacional destes compostos obtido por modelagem molecular. Os métodos utilizados foram o *ab initio* HF/3-21G* e os semi-empíricos AM1 e PM3. Três dos compostos estudados (**10-12**) são apresentados no esquema 2.



Esquema 2. Geometrias de equilíbrio de uma 4-aryl-5-metoxicarbonildiidropirimidinona.

As geometrias de equilíbrio propostas resultam da rotação do grupo arila e do sistema carbonílico α,β -insaturado. Com relação ao substituinte do primeiro grupo, são duas as geometrias de equilíbrio, *antiperiplanar* (*ap*) e *synperiplanar* (*sp*), relacionadas com o hidrogênio do C4. O sistema carbonílico α,β -insaturado por sua vez apresenta duas conformações de mínima energia, *s-trans* e *s-cis*. Um exemplo é mostrado no esquema 2 [7]. As conformações de menor energia foram encontradas com o grupo éster orientado *s-cis* e o substituinte do grupo arila *sp*. Diferenças significativas de energia entre as quatro geometrias de equilíbrio, entretanto, apenas são observadas no caso do grupo arila *orto*-substituído (**12**). Segundo os autores, a conformação bioativa corresponde ao confôrmero de menor energia *s-cis/sp* [7].

As análises conformacionais completas das rotações do sistema carbonílico α,β -insaturado e do grupo arila foram realizadas pelos hamiltonianos AM1 e PM3. Segundo o cálculo AM1, na rotação da fenila são encontrados dois mínimos de energia com ângulos de diedro C5-C4-C1'-C6' iguais a 75° (*ap*) e 240° (*sp*), sendo este último 2,3 kcal mol⁻¹ mais estável que o primeiro. A barreira energética na conversão *sp* → *ap* foi estimada em 5,9 kcal mol⁻¹. Para a rotação do grupo éster, a barreira energética para passar de *s-cis* para *s-trans*, as duas geometrias de equilíbrio, foi de 3,9 kcal mol⁻¹, sendo o primeiro deles 0,4 kcal mol⁻¹ mais estável, apresentando ângulos de diedro apenas um pouco fora do plano, de 15° e 210° respectivamente [7].

Neste trabalho foram realizadas as análises conformacionais do monastrol (**4a**) e de seus análogos (**5a-9a** e **4b-9b**). A otimização de geometria para cada conformação dos compostos estudados foi realizada com o hamiltoniano AM1. As quatro geometrias de equilíbrio de cada composto foram novamente otimizadas por cálculo HF no conjunto de funções de base 6-31G*. A energia total de cada confôrmero foi utilizada para cálculo de sua fração molar no equilíbrio conformacional.

Parte Computacional

Os cálculos foram executados nos seguintes computadores: Toshiba com processador Celeron® em 1.80 GHz com memória RAM de 256 MB e disco rígido de 30 GB e um PC com Processador Intel® Pentium® 4 CPU 2.60 GHz, 512 MB de RAM disco rígido 80GB. O sistema operacional usado em ambos

foi o Microsoft Windows XP Professional Versão 2002. Foram realizados cálculos pelo hamiltoniano AM1 [8] e *ab initio* Hartree-Fock no conjunto de bases 6-31G* contidos no programa Spartan '02 (Versão 1.0.1) [9].

Otimizações de geometria foram realizadas para as conformações de cada composto estudado (**4a-9a** e **4b-9b**) pelo método semi-empírico AM1 para ângulos de diedro θ C5-C4-C1'-C6' com restrições de 0 a 360° com incrementos de 20° (figura 2). A análise conformacional foi realizada para as duas geometrias do sistema carbonílico α,β -insaturado, *s-cis* e *s-trans*. A mesma análise conformacional foi feita para os compostos **4a** e **4b** usando o cálculo *ab initio* HF no conjunto de funções de base 6-31G*. Na etapa seguinte, as quatro geometrias de equilíbrio de cada composto foram completamente otimizadas, agora livres de qualquer restrição de ângulo torcional pelo método HF/6-31G*.

Resultados e Discussão

A liberdade conformacional dos compostos de Biginelli resulta, principalmente, da rotação de três ligações, a saber, a ligação do éster, do sistema carbonílico α,β -insaturado e da arila com o heterociclo. Ácidos carboxílicos e seus derivados apresentam duas geometrias de equilíbrio *Z* e *E* devido à ressonância da carbonila com o heteroátomo vizinho. No caso de ésteres, o equilíbrio desloca-se totalmente no sentido da primeira delas, na qual o grupo R da alcoxila será estabilizado em função da carga parcial do oxigênio ser negativa e a sua positiva [5]. Assim como o grupo éster, o sistema carbonílico α,β -insaturado também faz ressonância, o que determina a sua planaridade e origina duas conformações mais estáveis, *s-cis* e *s-trans* [5]. O problema resume-se, portanto, em avaliar a rotação do grupo arila para cada uma das geometrias de equilíbrio do sistema carbonílico α,β -insaturado, mantendo o éster na conformação *Z*.

Na primeira parte da análise conformacional, o hamiltoniano AM1 foi utilizado em razão do seu baixo custo computacional, embora não seja o melhor método de cálculo para esta tarefa. A dificuldade deste método na determinação de barreiras rotacionais ocorre pela falta de dados experimentais para estados de transição, uma vez que os parâmetros que alimentam esse conjunto de informações são obtidos a partir das geometrias de equilíbrio [8].

Curvas relacionando o calor de formação com o ângulo torcional para o diedro C5-C4-C1'-C6' foram obtidos. Um exemplo típico é mostrado na figura 3 para o composto **4a**. O gráfico apresenta duas curvas que correspondem à rotação do grupo arila nas conformações *s-cis* e *s-trans* do éster conjugado. A análise conformacional indica dois mínimos e dois máximos de energia para a rotação do grupo arila. As geometrias de equilíbrio são aquelas com ângulos torcionais de 100° e 280°, as quais apresentam pequena diferença de energia. A conversão *ap* → *sp* pode ocorrer via dois diferentes estados de transição com diedros de 40° e 220°. As barreiras rotacionais foram estimadas em aproximadamente 2,5 kcal mol⁻¹. Qualquer que seja a inclinação da fenila, o rotâmero *s-cis* é sempre mais estável que o *s-trans*.

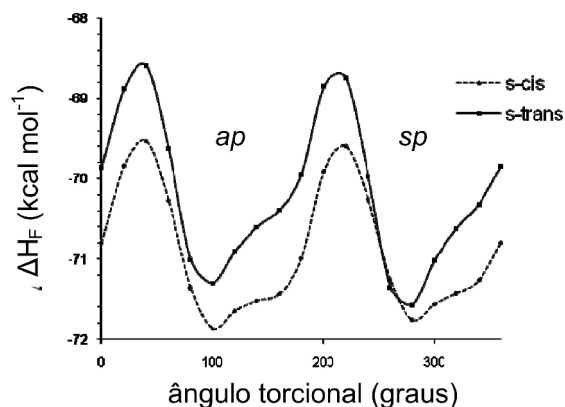


Figura 3. Calor de formação (kcal mol⁻¹) x ângulo torcional (graus) para a rotação do grupo arila (C5-C4-C1'-C6') nas conformações *s-cis* e *s-trans* da carbonila α,β -insaturada do monastrol (**4a**). AM1

O gráfico apresentado na figura 4 mostra as energias relativas dos rotâmeros dos compostos **5a**, com a arila não substituída, e **6a**, **4a** e **7a**, com substituinte em *orto*, *meta* e *para* respectivamente. Diferente do que acontece com os demais, no composto **6a**, o rotâmero *sp* apresenta ângulo de diedro de 340°. Uma maior diferença energética ocorre entre as geometrias de equilíbrio, sendo o rotâmero *sp* 2,2 kcal mol⁻¹ mais estável. As conformações de máxima energia são aquelas com ângulos torcionais de 60° e 220°. As barreiras rotacionais na conversão de *ap* → *sp* foram estimadas em 2,6 e 6,3 kcal mol⁻¹. Resultados semelhantes obtidos no mesmo hamiltoniano foram observados por Kappe [7] para compostos análogos, tendo como substituinte na arila uma metila em posição *orto* ou *meta* (**10-12**).

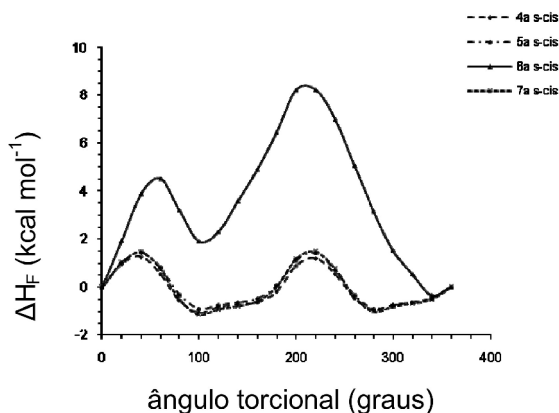


Figura 4. Calor de formação (kcal mol⁻¹) x ângulo torcional (graus) para a rotação do grupo arila (C5-C4-C1'-C6') dos compostos **4a-7a**, na conformação *s-cis* da carbonila α,β -insaturada. AM1

Nas geometrias de equilíbrio, a fenila bisseciona o ângulo C5-C4-N3. Apesar de a fenila estar eclipsada com o hidrogênio de C4, a distância em relação aos demais ligantes deste último será maior, semelhante ao observado no isopropilbenzeno [5]. O máximo de energia será dado quando, ao contrário do caso anterior, a fenila estiver mais próxima de C5 e N3.

Como já foi discutido, o composto **6a**, apresenta uma geometria de equilíbrio *sp* com diedro de 340°, diferente do que ocorre com os demais, nos quais o rotâmero *sp* mais estável é o de 280°. Isto se deve ao fato do grupo substituinte na posição *orto* forçar a carbonila a sair da planaridade com o heterociclo, perdendo assim a ressonância e desestabilizando o confôrmero. Portanto, ao invés da arila bissecionar o heterociclo, ocorre uma torção de diedro de mais 60°.

Outro detalhe que a análise conformacional para o composto *orto* substituído **6a** mostra é a diferença de energia entre seus dois estados de transição, com diedros 60° e 220°. Este último é 3,7 kcal mol⁻¹ mais energético que o primeiro, uma vez que o grupo metóxi força a carbonila para fora do plano do heterociclo da mesma forma como ocorre com o confôrmero de 280°. Resultados semelhantes foram obtidos para a série do oxo-monastrol (X = O).

A análise conformacional do monastrol (**4a**) e do oxo-monastrol (**4b**) foi também realizada através de cálculo *ab initio* Hartree-Fock no conjunto de funções de base 6-31G*. A figura 5 exibe as duas curvas de análise conformacional para o monastrol

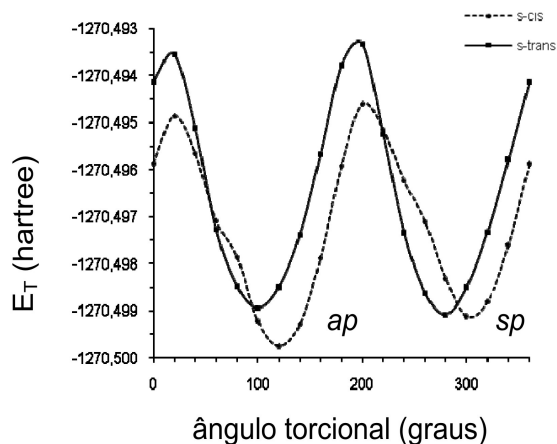


Figura 5. Análise conformacional das geometrias *s-cis* e *s-trans* do monastrol (**4a**) por cálculo HF/6-31G*.

(**4a**). Como esperado, dois mínimos e dois máximos de energia foram encontrados em cada curva. As conformações de máxima energia apresentam ângulos de diedro 20° inferiores àquelas obtidas pelo método AM1. As conformações de equilíbrio para a geometria *s-trans* se assemelham às encontradas pelo cálculo semi-empírico. Na geometria *s-cis*, por sua vez, diedros 20° maiores foram encontrados. As barreiras rotacionais foram encontradas próximas a 3 kcal mol^{-1} , pouco superiores às obtidas pelo método AM1. Apenas para comparação, a barreira encontrada na ligação C2-C3 no butano [10,11] é de $5,5 \text{ kcal mol}^{-1}$.

A análise conformacional realizada pelo cálculo *ab initio* indica as mesmas quatro conformações de equilíbrio obtidas pelo semi-empírico. Estes quatro rotâmeros foram tomados como verdadeiros para todos os compostos das duas séries. Os ângulos

Tabela 1. Ângulo de diedro e fração molar (x_i) para cada uma das quatro geometrias de equilíbrio dos compostos **4a-9a** e **4b-9b** (HF/6-31G*).

Série do monastrol (4a)			Série do oxo-monastrol (4b)		
Composto	Diedro (graus)	x_i (300 K)	Composto	Diedro (graus)	x_i (300 K)
4a <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	122	0,43	4b <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	126	0,45
4a <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	305	0,21	4b <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	307	0,26
4a <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	102	0,17	4b <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	105	0,11
4a <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	280	0,19	4b <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	279	0,18
5a <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	124	0,37	5b <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	125	0,40
5a <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	302	0,37	5b <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	303	0,40
5a <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	108	0,13	5b <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	109	0,10
5a <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	288	0,13	5b <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	288	0,10
6a <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	116	0,12	6b <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	115	0,38
6a <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	349	0,75	6b <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	348	0,26
6a <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	113	0,04	6b <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	112	0,11
6a <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	348	0,09	6b <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	348	0,26
7a <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	126	0,43	7b <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	128	0,42
7a <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	304	0,43	7b <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	305	0,47
7a <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	107	0,06	7b <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	108	0,04
7a <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	290	0,08	7b <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	291	0,07
8a <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	122	0,39	8b <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	125	0,38
8a <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	304	0,09	8b <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	307	0,13
8a <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	111	0,30	8b <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	113	0,26
8a <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	291	0,23	8b <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	292	0,22
9a <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	125	0,51	9b <i>s-cis</i> (<i>ap</i>)	126	0,56
9a <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	302	0,23	9b <i>s-cis</i> (<i>sp</i>)	305	0,25
9a <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	114	0,18	9b <i>s-trans</i> (<i>ap</i>)	114	0,13
9a <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	285	0,09	9b <i>s-trans</i> (<i>sp</i>)	284	0,06

torcionais C5-C4-C1'-C6' obtidos na nova otimização de geometria pelo cálculo *ab initio* não apresentaram diferenças significativas àquelas encontradas pela análise conformacional por AM1. Na etapa seguinte as geometrias foram completamente otimizadas, agora livres de qualquer restrição de ângulo torcional pelo método HF/6-31G*.

A tabela 1 exibe o ângulo de diedro resultante e a fração molar para todos os compostos. As frações molares das quatro geometrias de equilíbrio dos compostos **4a-9a** e **4b-9b** foram determinadas usando a lei de distribuição de Boltzmann. A análise da fração molar (x_i) indica uma maior proporção da estrutura *s-cis* a temperatura ambiente, com exceção do composto **8**. Os rotâmeros *ap* apresentam maior x_i para a maioria dos compostos, menos para o *o*-substituído (**6a,b**). Foram poucas as exceções em que a fração molar ficou abaixo de 0,1, indicando a

importância de todas as quatro geometrias no equilíbrio.

Conclusões

A análise conformacional dos compostos **4a-9a** e **4b-9b** mostrou quatro geometrias de equilíbrio, *s-cis/ap*, *s-cis/sp*, *s-trans/ap* e *s-trans/sp*. A geometria *ap* apresenta ângulo torcional C4-C5-C1'-C6' próximo a 100°. A geometria *sp*, por sua vez, exibe diedro próximo a 280°, exceto para os compostos **6a** e **6b** cuja inclinação do grupo arila é de 340°. O hamiltoniano AM1 forneceu geometrias semelhantes às obtidas pelo cálculo *ab initio*. A barreira envolvida na rotação da fenila é baixa. O valor encontrado no cálculo semi-emérico corresponde a, aproximadamente, 80 % daquele obtido no método *ab initio*.

Abstract: Dihydropyrimidinones, such as monastrol and analogues, are heterocycles with known antineoplastic activity. Conformational analysis represents an important preliminary step in structure-activity correlation studies. Herein we describe the conformational analysis of monastrol and analogues by AM1 semi-empirical and *ab initio* HF/6-31G* calculations. Four equilibrium geometries were found (*s-cis/ap*, *s-cis/sp*, *s-trans/ap* and *s-trans/sp*), and the important internal rotations were those of the $\alpha\beta$ -unsaturated carbonyl system and of the aryl group connected to the heterocycle.

Keywords: conformational analysis, dihydropyrimidinones, Biginelli compound, AM1, HF/6-31G*

Referências

- [1] C. O. Kappe, Eur. J. Med. Chem. 35(12)(2000) 1043.
- [2] B. Desai, D. Dallinger, C. O. Kappe, Tetrahedron 62 (2006) 4651.
- [3] C. O. Kappe, O. V. Shishkin, G. Uray, P. Verdino Tetrahedron 56 (2000) 1859.
- [4] D. Russowsky, R. F. S. Canto, S. A. A. Sanches, M. G. M. D'Oca, A. Fátima, R. A. Pilli, L. K. Kohn, M. A. Antônio, J. E. Carvalho, Bioorg. Chem. 34 (2006) 173.
- [5] E. L. Eliel, S.H. Wilen, Stereochemistry of Organic Compounds, Wiley, New York, 1994.
- [6] C.R. Rodrigues, Cadernos Temáticos Quím. Nova Esc. 3 (2001) 43.
- [7] C. O. Kappe, W. M. F. Fabian, M. A. Semones, Tetrahedron 53 (1997) 2803.
- [8] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, J.J.P. Stewart, J. Am. Chem. Soc. 107(13) (1985) 3902.
- [9] Spartan'02 (1.0.1), Wavefunction: Irvine, 2002.
- [10] G. D. Smith, R. L. Jaffe, J. Phys. Chem. 100 (48) (1996) 18718.
- M. J. Hafezi, F. Sharif, J. Mol. Struct.: THEOCHEM 814(1-3) (2007) 43.