

André João de Lemos Miguéis Salvador

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.



Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2012



André João de Lemos Miguéis Salvador

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.



Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2012

André João de Lemos Miguéis Salvador

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.



Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

---

Porto, 2012

## Sumário

O estudo da interacção fármaco-receptor baseia-se no conceito supramolecular “guest-host”, em que a tipologia dos receptores (host) assim como o fármaco (guest) devem ser analisadas. Recorrendo-se a técnicas de caracterização química computacional é possível caracterizar electrónica e estruturalmente (3D) os intervenientes na acção farmacológica, em complemento aos métodos semi-empíricos inicialmente utilizados. As técnicas citadas, consistem na análise supra-molecular e de distribuição de densidade de cargas, os quais são factores cruciais na pesquisa de novas substâncias.

No campo farmacológico, a especificidade para a estrutura alvo é um aspecto essencial em ter em conta no desenvolvimento e compreensão na acção de um fármaco. Na última década, tem vindo a ser desenvolvida a química de compostos orgânicos fluorados, bem como, as características particulares que este elemento promove na ligação ao átomo de carbono.

O aumento da existência de fármacos com substituintes fluorados deve-se ao crescente interesse e exploração por parte da indústria farmacêutica. Exemplos recentes são as fluoroquinolonas, compostos antimicrobianos sintéticos com grande potencial terapêutico. Estes são facilmente manipuláveis no sentido de melhorar a sua relação estrutura/actividade, resultando num aumento da potência nesta classe de antibióticos.

As fluoroquinolonas apresentam um espectro de acção mais amplo e uma maior potência bacteriana do que os compostos que lhes deram origem (quinolonas), devido à introdução de um átomo de flúor na sua estrutura molecular. Como principais vantagens, estes compostos possuem uma melhor eficácia na penetração em células bacterianas, devido à posição do átomo de flúor em C<sub>6</sub>, assim como, são o único grupo que actua ao nível das topoisomerasas sem apresentar grandes limitações na actividade antibacteriana ou na toxicidade.

Neste trabalho, desenvolveu-se um estudo da influência do ião flúor nas propriedades electrónicas e estruturais em fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações. Para tal, substituiu-se o

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

ção flúor pelo átomo de hidrogénio em cinco moléculas, de forma a compreender e avaliar a importância deste íão, com recurso a programas informáticos de mecânica quântica e molecular.

**Palavras-Chave:** fluoroquinolonas, antimicrobianos, quinolonas, flúor, química computacional, mecânica quântica, mecânica molecular, gatifloxacina, sarafloxacina, sparfloxacina, sitafloxacina.

## Abstract

The study of drug-receptor interaction is based on the supramolecular concept "guest-host", where the receptor type (host) and the drug (guest) must be analyzed. Resorting to characterization techniques of computational chemistry, it is possible to characterize structurally and electronically (3D) the intervenients in the pharmacological action.

In the pharmacological field, specification for the target structure is an essential aspect to take into account in developing and understanding the action of a drug. In the last decade, it has been developed the chemistry of fluorinated organic compounds, as well as the particular characteristics, that this element promotes in the C-F bond.

The uprising existence of drugs with fluorinated substituents is due to the increasing interest and use by the pharmaceutical industry. Recent examples are the fluoroquinolones, synthetic antimicrobial compounds with high therapeutic potential. These are easily manipulated in order to improve its structure / activity relation, resulting in increased potency in this class of antibiotics.

The fluoroquinolones exhibit a broader spectrum of activity and a greater bacterial potency than the compounds from which they originated (quinolones), due to the introduction of a fluorine atom in its molecular structure. The main advantages of these compounds are a superior effectiveness in penetration of bacterial cells, due to the position of the fluorine atom at C<sub>6</sub>, as they are the only group that acts at the level of topoisomerases without severe limitations on the toxicity.

In this work, it was made a study of the influence of fluoride ion in the electronic and structural properties of fluoroquinolones in 3rd and 4th generations. A comparative study was made between the fluorinated substituent and the hydrogen substituent in five molecules, in order to understand and evaluate the importance of the fluorine on the electronic properties of the quinolones, using computer programs of molecular and quantum mechanics.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

**Keywords:** fluoroquinolones, antibiotics, quinolones, fluorine, computational chemistry, quantum mechanics, molecular mechanics, gatifloxacin, sarafloxacin, sparfloxacin, sitafloxacin.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

## **Agradecimentos**

À Universidade Fernando Pessoa e docentes pela oportunidade e ensinamentos.

À minha família e amigos por todo o apoio e amizade prestados.

À Ana Isabel por toda a paciência, ajuda e apoio incondicional.

À Professora Doutora Lígia Rebelo Gomes pela atenção, preocupação, apoio, ensinamentos, paciência e ajuda disponibilizada.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

## **Glossário**

### **Siglas**

**AINE's** - Anti-inflamatórios não esteróides

**ESP** - Potencial electrostático

**FDA** - Food and Drug Administration

**FQ's** - Fluoroquinolonas

**SCF** - Self Consisting Field – Superfície de densidade electrónica

**SNC** - Sistema Nervoso Central

## Índice

Índice de figuras	ix
Índice de Tabelas	xi
<b>I. Introdução</b>	<b>1</b>
<b>II. Características farmacológicas das fluoroquinolonas</b>	<b>11</b>
2.1. Relação estrutura actividade das fluoroquinolonas	12
2.2. Farmacocinética: aspectos gerais	14
2.2.1. Absorção	15
2.2.2. Distribuição	15
2.2.3. Metabolização e Eliminação	16
2.3. Acção Farmacológica	16
2.4. Mecanismo de acção	17
2.5. Efeitos Secundários	19
<b>III. Objectivos e métodos</b>	<b>22</b>
3.1. Considerações gerais	23
3.2. Métodos computacionais	25
3.2.1. Calculo da energia molecular por <i>ab-initio</i>	25
3.2.2. O método SCF	26
3.2.3. As energias obtidas	27
3.2.4. As bases para as funcionais	28
3.2.5. Teoria de DFT (Density Functional Theory)	28
3.2.6. Superfícies de energia	29
3.2.7. Metodologia adoptada	30
<b>IV. Resultados e discussão</b>	<b>31</b>
4.1. Considerações gerais	32
4.2. Optimizações geométricas	32
4.3. Aspectos conformacionais	38
4.4. Polaridades e distribuição de cargas	42
4.5. Superfícies de isopotencial electrónico	43

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

4.6. Considerações Finais	47
<b>Bibliografia</b>	<b>48</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - Farmacóforo da Fluoroquinolona	2
<b>Figura 2</b> - Ácido Nalidíxico	2
<b>Figura 3</b> - A molécula da norfloxacinina apresenta substituintes -F e piperazilo nas posições 6 e 7 respectivamente.	3
<b>Figura 4</b> - Levofloxacinina e Sparfloxacinina	6
<b>Figura 5</b> - Fluoroquinolonas com grupo ciclopropil substituído na posição 1	9
<b>Figura 6</b> – Trovafloxacinina	10
<b>Figura 7</b> Relação estrutura-actividade dos diferentes substituintes no farmacóforo da quinolona.	12
<b>Figura 8</b> - Mecanismo de acção das fluorquinolonas.	19
<b>Figura 9.1</b> – Representação esquemática das fluorquinolonas usadas no estudo. No início da tabela encontra-se esquematizado o farmacóforo.	33
<b>Figura 9.2</b> – Representação esquemática das fluorquinolonas usadas no estudo. No início da tabela encontra-se esquematizado o farmacóforo.	34
<b>Figura 10.1</b> – Geometria molecular da sparfloxacinina neutra (em cima à esquerda) e para a Cicloheptanogemifloxacinina (em baixo, à esquerda) obtidas por optimização para uma energia mínima com o nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p). A sparfloxacinina é uma fluorquinolona de 3 <sup>a</sup> geração com actividade contra Gram <sup>-</sup> igual à 2 <sup>a</sup> geração, exceptuando contra <i>P. Aeruginosa</i> . Boa actividade contra Gram <sup>+</sup> . A cicloheptilgemifloxacinina (em baixo, à esquerda) é derivada da gemifloxacinina que também é uma fluorquinolona de 3 <sup>a</sup> geração. As estruturas à direita referem-se às estruturas onde o átomo de fluor na posição 6 foi substituído por um átomo de hidrogénio.	35
<b>Figura 10.2</b> - Geometrias optimizadas para os compostos estudados obtidas por cálculos <i>ab initio</i> no nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p), para a gatifloxacinina (em cima à esquerda) para a sarafloxacinina (no meio, à esquerda) e para a sitafloxacinina (em baixo, à esquerda). À direita encontram-se as conformações moleculares substituídas em C <sub>6</sub> por hidrogénio. Estas quinolonas pertencem à 4 <sup>a</sup>	

geração e apresentam o mesmo espectro de acção das anteriores gerações com alargamento para bactérias anaeróbias, melhor e maior actividade contra Gram<sup>+</sup> e espécies resistentes. 36

**Figura 11** - Estrutura molecular da sparfloxacina, da gatifloxacina e da sarafloxacina mostrando a conformação quando as moléculas se encontram com a anel da quinolona perpendicular ao plano da folha, de modo a evidenciar a posição relativa dos substituintes em N<sub>1</sub> e C<sub>8</sub>. 41

**Figura 12** - Potencial electrostático representado em superfícies de densidade electrónica para as moléculas em estudo. As regiões c azul e verde são carregadas positivamente e as regiões com maior densidade electrónica são de cor vermelha e amarela. As superfícies foram todas mapeadas com ESP e a densidade electrónica tirada da densidade SCF, com um isovalor de 0.04. 46

## Índice de tabelas

<b>Tabela I</b> – Comparação e espectro de actividade das diferentes gerações das fluoroquinolonas.	5
<b>Tabela II</b> - Energias mínimas e momentos dipolares para os compostos em estudo, obtidos pela teoria B3LYP/6-311G++(d,p).	37
<b>Tabela III</b> – Valores para alguns ângulos de torção das quinolonas estudadas. O ângulo $\Psi_1^\circ$ refere-se à distorção na ligação C <sub>8</sub> '-N <sub>1</sub> do anel da quinolona; $\Psi_2^\circ$ refere-se à distorção do substituinte em N <sub>1</sub> ; $\Psi_3^\circ$ refere-se à distorção do grupo carboxílico em C <sub>3</sub> ; $\Psi_4^\circ$ refere-se à distorção em torno da ligação C <sub>6</sub> -C <sub>7</sub> do anel da quinolona devido aos substituintes presentes nesses átomos e $\Psi_5^\circ$ refere-se à distorção do substituinte em C <sub>7</sub> relativamente ao anel da quinolona, como mostra a figura abaixo.	40
<b>Tabela IV</b> - Distribuição de cargas para os fluoroquinolonas utilizadas, calculadas pela teoria B3LYP/6-311++G(d,p).	44

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

## **I. INTRODUÇÃO**

## 1. Introdução

As fluoroquinolonas, FQ's, são quinolonas sintéticas que possuem um átomo de fluor na posição 6 do anel quinolona tal como mostra o esquema da Figura 1. Farmacologicamente estes compostos são considerados como pertencentes à classe dos antimicrobianos e têm vindo a ser amplamente usados no combate de infecções bacterianas (Walker, 1999). O seu sucesso deve-se essencialmente ao facto de serem o único antibacteriano sintético, capaz de rivalizar com os  $\beta$ -lactâmicos no que toca ao impacto do uso clínico na terapêutica antibacteriana.

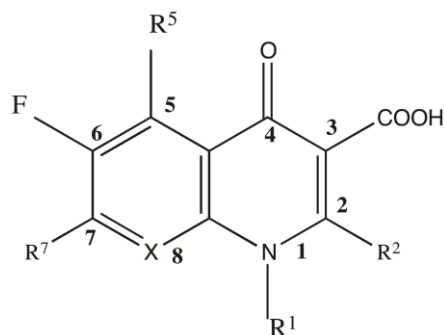


Figura 1: Farmacóforo da Fluoroquinolona

As quinolonas são uma descoberta relativamente recente. O seu desenvolvimento começou com a descoberta de ácido nalidíxico (Figura 2), no início dos anos 60, durante a síntese de um agente antimalárico, a cloroquina. O ácido nalidíxico mostrou possuir um espectro de actividade bastante restrito sendo apenas utilizado para infecções causadas por *Enterobacteriaceae*. Além disso, e devido a limitações na absorção e distribuição, o composto destinava-se exclusivamente ao uso no tratamento de infecções no sistema urinário.

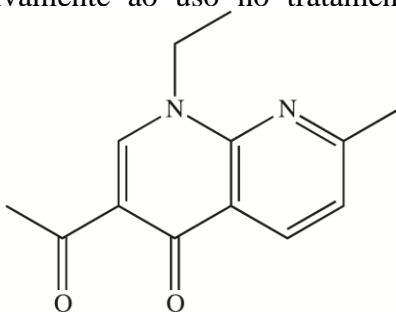


Figura 2: Ácido Nalidíxico

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

Investigações posteriores, feitas nos anos 70 e 80, provaram que a substituição de um átomo de hidrogénio por um de flúor na posição 6 e a introdução de um grupo piperazilo na posição 7 (figura 3) provocava um melhoramento na actividade antibacteriana deste tipo de compostos, nomeadamente no respeitante ao aumento da sua eficácia contra organismos como a *Pseudomonas aeruginosa* e *Coccus Gram*<sup>+</sup>. O referido aumento de eficácia foi acompanhado com uma melhoria da absorção por via oral e distribuição pelos tecidos (Martinez *et al.*, 2006). Estas quinolonas passaram a ter a designação de fluoroquinolonas por possuírem o átomo de flúor substituído na posição 6 (Cross, 2001). Concretamente, constatou-se que a introdução do grupo piperazilo na posição 7 melhorava a capacidade de penetração da molécula nas células, aumentando assim a sua actividade, e que a introdução do substituinte flúor na posição 6 aumentava o espectro de acção, o que representou um importante avanço nesta área. A combinação destas duas mudanças na molécula básica da quinolona originou a norfloxacin, a primeira fluoroquinolona de 2ª geração, Tabela 1 e Figura 3, patenteada em 1978, que apresentava uma notória melhoria na sua actividade e espectro de acção, não sendo ainda no entanto, recomendável para uso sistémico.

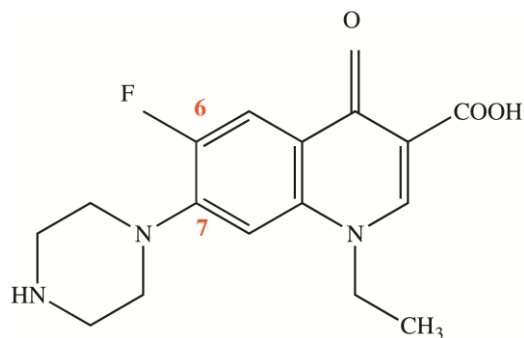


Figura 3: A molécula da norfloxacin apresenta substituintes -F e piperazilo nas posições 6 e 7 respectivamente.

Rapidamente a pesquisa e desenvolvimento da investigação farmacêutica permitiram a execução de sérias melhorias a partir da molécula da norfloxacin, com descobertas de novos compostos resultantes de modificações na fluoroquinolona, aumentando o número das fluoroquinolonas de 2ª geração. As descobertas levaram à criação de moléculas que ainda hoje se encontram em uso, tais como a pefloxacin (1979), enoxacin (1980),

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

ciprofloxacina (1981) e ofloxacina (1982), Tabela 1. Estes compostos apresentavam características que permitiam o seu uso contra Gram<sup>+</sup> e Gram<sup>-</sup>, bem como uma maior absorção pelo sistema gastro-intestinal, levando a níveis seguros de concentrações plasmáticas e permitindo o seu uso sistémico no combate a infecções. No entanto, alguns microorganismos, como por exemplo *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, desenvolveram resistências a estes compostos (Applebaum e Hunter, 2000).

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

Tabela I – Comparação e espectro de actividade das diferentes gerações das fluoroquinolonas (Walker, 1999), (Van Bambeke *et al.*, 2005), (Lee e Kanatani, 1999), (Oliphant e Green, 2002).

Geração	Fluoroquinolonas	Espectro de actividade
1ª	Ácido Nalixídico Cinoxacina Ácido Oxolínico Ácido Pipemídico	Alguma actividade contra Gram <sup>-</sup> . Sistema urinário como alvo predominante.
2ª	Norfloxacin Enoxacina Ciprofloxacina Ofloxacina Lomefloxacina	Boa actividade contra Gram <sup>-</sup> com actividade moderada contra <i>Staphylococcus</i> . Actividade limitada contra Gram <sup>+</sup> . Ciprofloxacina e Ofloxacina apresentam boa penetração em tecidos e células. Sistema urinário, respiratório, gastrointestinal e reprodutor, e infecções de pele e ossos como alvos predominantes.
3ª	Levofloxacina Sparfloxacina Grepafloxacina Gemifloxacina	Actividade contra Gram <sup>-</sup> igual à 2ª geração, exceptuando contra <i>P. aeruginosa</i> , que é inferior. Boa actividade contra Gram <sup>+</sup> . Geração de eleição quando há suspeita de resistência à penicilina na infecção por <i>S. pneumoniae</i> . Sistemas alvo iguais aos da 2ª geração com especial destaque para o aparelho respiratório.
4ª	Trovafloxacina Sitafloxacina Sarafloxacina Gatifloxacina Moxifloxacina Clinafloxacina	Mesmo espectro de acção das anteriores gerações com alargamento para bacterias anaeróbias. Melhor e maior actividade contra Gram <sup>+</sup> e espécies resistentes. Excelentes resultados no tratamento de infecções do sistema respiratório.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

Desde então, novas gerações de quinolonas e fluoroquinolonas foram surgindo. Sucessivamente, foram conseguidos diversos melhoramentos estruturais, feitos não só, com o intuito de aumentar a eficácia das quinolonas a nível farmacocinético, como também a adesão terapêutica por parte do doente permitindo, por exemplo, uma posologia de toma única diária *versus* várias tomas diárias (nas gerações inaugurais (Applebaum e Hunter, 2000)).

As quinolonas de 3ª geração apresentam actividade significativamente maior contra microorganismos Gram<sup>+</sup>, microorganismos anaeróbios e ainda estirpes resistentes às fluoroquinolonas relativamente às quinolonas da geração anterior. Estes compostos apresentam excelente absorção oral e tempos de semi-vida, que permitem uma administração menos frequente por parte dos doentes. Como exemplos de principais quinolonas desta geração podem-se destacar a sparfloxacina e a levofloxacina (Applebaum e Hunter, 2000), (Martinez *et al.*, 2006), (Van Bambeke *et al.*, 2005), representadas esquematicamente na Figura 4.

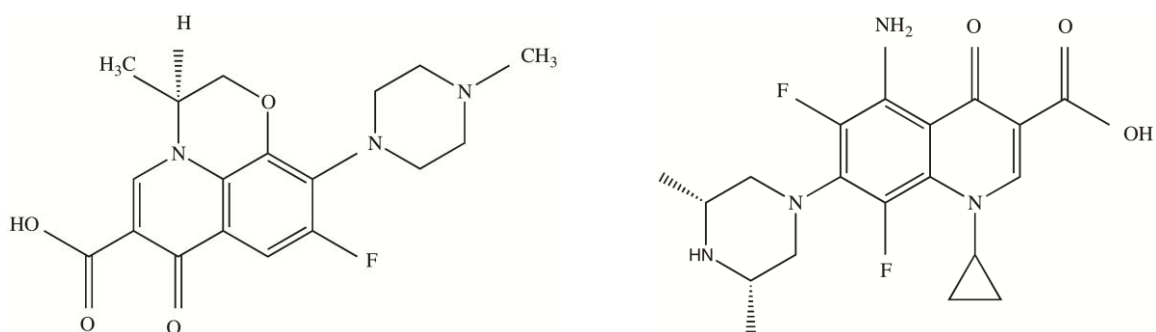


Figura 4: Levofloxacina e Sparfloxacina, respectivamente

Contrariamente ao sucedido na geração anterior, onde a maioria das quinolonas não apresentavam substituinte -F na posição 6, na 4ª geração retomou-se o desenvolvimento de novas fluoroquinolonas. As modificações estruturais operadas permitiram obter agentes antimicrobianos com maior espectro de acção alargando-se este a microorganismos anaeróbios. A título de exemplo destaca-se a trovafloxacina (figura 6), que chegou a estar aprovada pela FDA (Food and Drug Administration), tendo sido retirada devido a altas

taxas de hepatotoxicidade associadas (Bertino e Fish, 2000), (Van Bambeke *et al.*, 2005), (Lee e Kanatani, 1999), (FDA, 2012 a). Não obstante, outras fluoroquinolonas de 4<sup>a</sup> geração foram sintetizadas, cujas eficácias contra microorganismos Gram<sup>+</sup> e anaeróbios e contra Gram<sup>-</sup>, comparativamente à ciprofloxacina, foram comprovadas. Neste conjunto surgem a clinafloxacina (a), gatifloxacina (b), gemifloxacina (c), moxifloxacina (d) e a sitafloxacina (e), Tabela 1, Figura 5 (Applebaum e Hunter, 2000). Estes compostos possuem o maior espectro de acção de todas as gerações, com tempos de semi-vida elevados, apresentando reais vantagens e melhoramentos comparativamente às gerações anteriores. De facto, as FQ's mais recentes têm um espectro de actividade bastante alargado, sendo eficazes contra bactérias Gram<sup>-</sup> e Gram<sup>+</sup> (*enterococcus*, *streptococcus* e *staphilococcus*), têm um tempo de semi-vida bastante elevado, possuem baixa incidência no aparecimento de resistências, apresentam boa penetração na maioria dos tecidos e uma grande biodisponibilidade oral (Bertino e Fish, 2000). De momento apenas a gemifloxacina está aprovada para uso, na Coreia, USA, Canadá e Nova Zelândia (Van Bambeke *et al.*, 2005).

A permanência de um átomo de flúor na posição 6 do anel da quinolona é essencial para uma marcada actividade anti-bacteriana. Esta parte da molécula intervém na inibição da enzima girase após a ligação fármaco-receptor e também na penetração bacteriana. Assim sendo, este trabalho propõe-se avaliar o efeito electrónico e estrutural do substituinte -F no anel da quinolona. Esta avaliação será executada de forma comparativa com compostos homólogos cuja posição 6 estará ocupada por um átomo de hidrogénio.

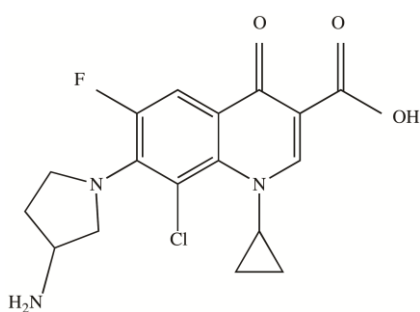
Este estudo incidirá sobre 4 fluoroquinolonas de 4<sup>a</sup> geração e uma de 3<sup>a</sup> geração, nomeadamente a sarafloxacina, a sitafloxacina, um derivado da gemifloxacina, a gatifloxacina e a sparfloxacina.

Neste trabalho procedeu-se à utilização de ferramentas baseadas em mecânica quântica a nível molecular para efectuar a análise diferencial entre as estruturas fluoro-substituídas e hidrogeno-substituídas, em estado gasoso, de modo a avaliar o efeito do substituinte “-F” na posição 6 do anel quinolínico, tanto a nível electrónico (distribuição da densidade de carga, momentos dipolares) como estrutural (mudança de conformação da quinolona).

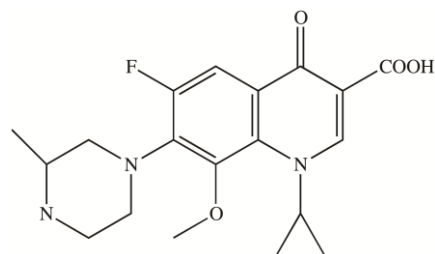
Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

Pretende-se, fundamentalmente, analisar os efeitos do ião flúor nas propriedades electrónicas das fluoroquinolonas, pois a alteração de polaridade que este confere à molécula, conjuntamente com a mudança de lipofilia, contribuem para melhorar as propriedades farmacocinéticas desta classe de antimicrobianos. Assim efecturam-se optimização geométricas das estruturas em fase gasosa, procedeu-se à análise e identificação de diferenças conformacionais entre as as quinolonas e fluoroquinolonas. Executou-se ainda uma comparação das superfícies de potencial isoelectrónicas com base nas estruturas optimizadas.

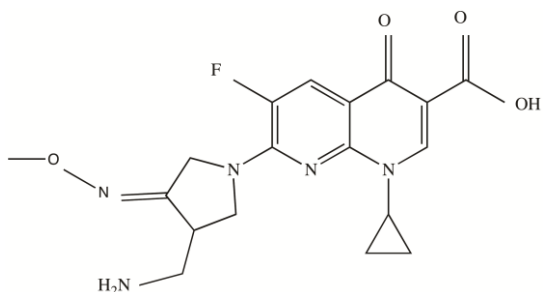
Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.



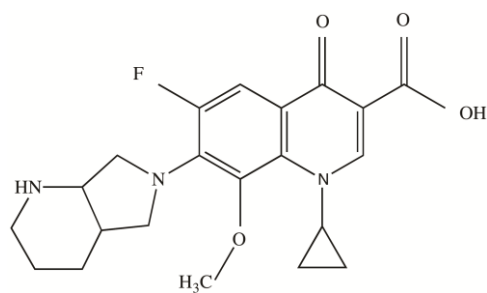
a) Clinafloxacin



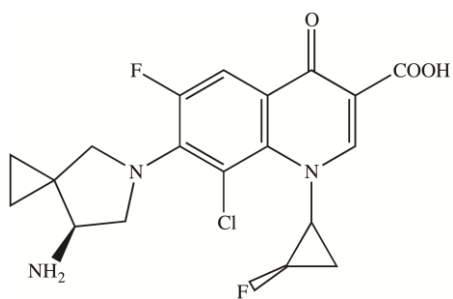
b) Gatifloxacin



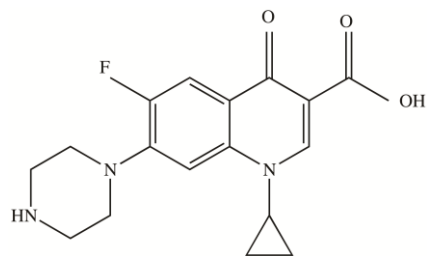
c) Gemifloxacin



d) Moxifloxacin



e) Sitafloxacin



f) Ciprofloxacin

Figura 5 – Fluoroquinolonas com grupo ciclopil substituído na posição 1.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

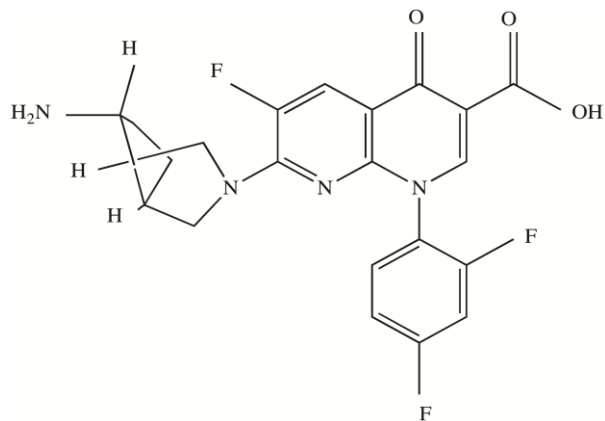


Figura 6: Trovafloxacin

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

## II. CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS DAS FLUOROQUINOLONAS

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

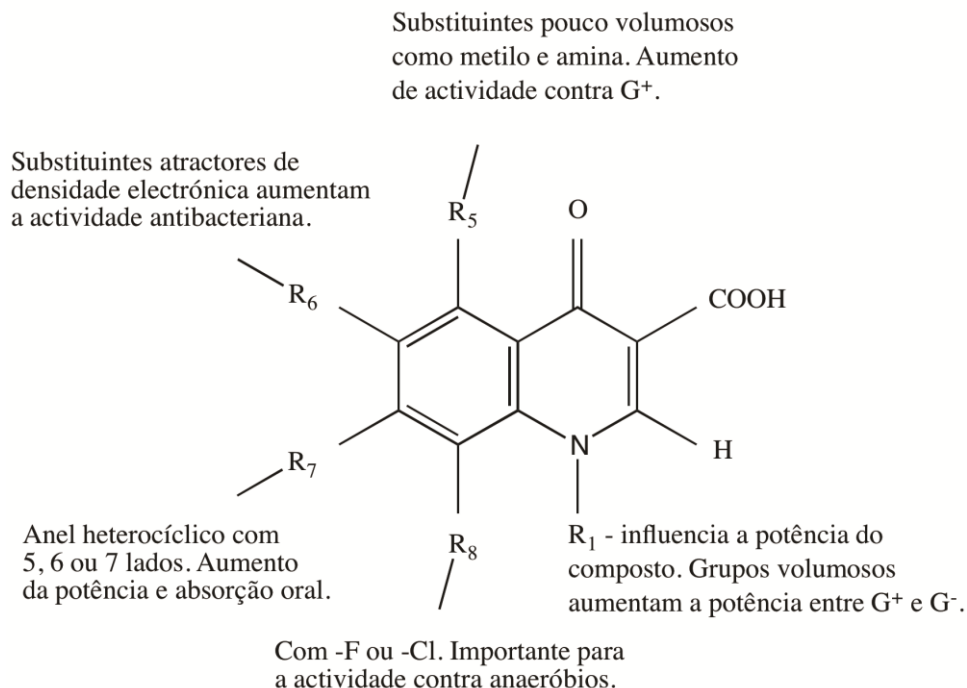


Figura 7 – Relação estrutura-actividade dos diferentes substituintes no farmacóforo da quinolona.

## 2. Características farmacológicas das quinolonas

Com mais de 800 milhões de pacientes tratados em todo o mundo, as quinolonas são hoje em dia um dos mais importantes agentes antimicrobianos. Têm vindo a evoluir, desde das décadas 60 e 70, de simples agentes usados no tratamento de infecções do tracto urinário até agentes utilizados no tratamento de infecções em praticamente todos os compartimentos do corpo humano. Esta evolução permitiu também compreender com algum rigor a relação estrutura-actividade para esta classe de moléculas (Van Bambeke *et al.*, 2005).

### 2.1. Relação estrutura actividade das fluoroquinolonas

Tendo como estrutura genérica das fluoroquinolonas a Figura 1, que aqui se reproduz complementada com a informação relativa à estrutura-actividade (Figura 7), pode-se

relacionar o tipo de substituinte e a posição que cada um destes ocupa na estrutura com o efeito na actividade das mesmas.

O substituinte R<sub>1</sub> que liga ao átomo de azoto influencia marcadamente a potência do composto. Os primeiros compostos (ácido nalidíxico, pipemídico, norfloxacin, enofloxacin...) tinham nesta posição um grupo etílico, mas mais tarde verificou-se que um grupo mais volumoso em R<sub>1</sub> potenciava a actividade contra bactérias Gram<sup>+</sup> e Gram<sup>-</sup>. Um grupo ciclopropilo implica uma boa actividade contra Gram<sup>-</sup> e tem vindo a ser usado nesta posição em compostos comercializados, como por exemplo na ciprofloxacina (fig. 5, f) e em moléculas que ainda se encontram em desenvolvimento, como a sparfloxacina (fig. 4), a moxifloxacina (fig. 5, d) e a gemifloxacina (fig. 5, c). Um substituinte 2,4-difluorofenilo na posição 1 mostrou ter um efeito de aumento de actividade contra Gram<sup>+</sup> como na molécula da trovafloxacina (fig. 6) (Applebaum e Hunter, 2000).

Verificou-se que, na posição 5, grupos volumosos baixam a actividade do fármaco e assim, normalmente, este grupo é constituído por grupos pequenos como um átomo de hidrogénio, um grupo metilo, ou um grupo amina. Estes grupos substituintes estão essencialmente relacionados com a actividade contra Gram<sup>+</sup> (Domagala, 1994).

A substituição de uma átomo de fluor na posição 6 origina o grupo das fluoriquinolonas, mas esta posição poderá também ser ocupada por outros substituintes, nomeadamente com um grupo -NO<sub>2</sub> (sendo nestes casos os fármacos designados por nitroquinolonas). O grupo -NO<sub>2</sub> aumenta a potência das quinolonas em relação às fluoroquinolonas (Artico *et al.*, 1999).

Outros grupos substituintes nesta posição mostraram ser menos activos que os fluorinados e nitrados em C<sub>6</sub>. A influência do átomo de flúor nesta posição é essencial para uma marcada actividade na inibição da enzima girase e ligação fármaco-receptor e também na penetração celular da bactéria nociva, que é o mecanismo básico de acção de qualquer fluoroquinolona, (*vide* 2.3) (Emami *et al.*, 2005). Esta ligação fármaco-receptor e penetração celular são igualmente influenciadas pela natureza do substituinte em C<sub>7</sub>, havendo um sinergismo óptimo quando este é composto por um grupo piperazinilo (Domagala *et al.*, 1996).

Na posição 7, o substituinte R<sub>7</sub> tem, como referido anteriormente, um relevante efeito na potência, na farmacocinética e no espectro de actividade. Um anel heterocíclico de azoto, de cinco ou seis lados, contribuem para um aumento de actividade farmacológica e efeitos desejáveis na farmacocinética. Os anéis substituintes mais usados são os derivados das piperazinas, que conferem actividade contra Gram<sup>-</sup>, como é o caso da ciprofloxacina (fig. 6), da norfloxacina (fig. 3) e da gatifloxacina. Por sua vez, os grupos amino-pirrolícos apresentam uma maior eficácia contra Gram<sup>+</sup>. O azoto presente nestes anéis é a imprescindível para que estes fármacos apresentem uma boa absorção oral (Applebaum e Hunter, 2000) (Domagala, 1994).

Na posição 8, os substituintes afectam as propriedades *in vivo* e a actividade antibacteriana, mais propriamente nas espécies anaeróbias (Applebaum e Hunter, 2000) (Domagala, 1994).

Vários estudos demonstraram que os substituintes mais favoráveis à actividade antibacteriana são os halogénios (Cl ou F), apesar do aumento da fototoxicidade e instabilidade à luz UV. A sparfloxacina tem um uso limitado precisamente por ter um átomo de F como substituinte em C<sub>8</sub>, o que está ligado a ocorrências de fototoxicidade. A substituição deste átomo por um grupo metoxilo confere, no entanto, uma boa actividade contra anaeróbios sem o risco elevado de fototoxicidade, como é o exemplo da moxifloxacina e da gatifloxacina (fig. 6 (b) e (d)) (Applebaum e Hunter, 2000).

## 2.2. Farmacocinética: aspectos gerais

As quinolonas apresentam óptimas propriedades farmacocinéticas, que fazem com que estes compostos sejam amplamente utilizados na prática médica. De uma forma geral, encontram-se biodisponíveis quase imediatamente após a toma oral e possuem eficácia no tratamento de infecções em diversos compartimentos do corpo humano. Têm uma razoável distribuição, com excepção para o SNC. Geralmente são metabolizados a nível hepático, sendo esta via, conjuntamente com a renal, a via de eliminação (Van Bambeke *et al.*, 2005), (Bakken, 2004).

### 2.2.1. Absorção

As fluoroquinolonas são bem absorvidas por administração oral (Almeida e Machado, 1994). As concentrações plasmáticas assim obtidas são comparáveis às obtidas por via intra-venosa, o que permite uma opção de escolha entre as duas vias no tratamento, possibilitando uma potencial redução nos custos do mesmo (Oliphant e Green, 2002). A sua absorção é rápida e, geralmente, a administração pós-pandrial não resulta numa diminuição significativa da biodisponibilidade nem das concentrações plasmáticas, a não ser um ligeiro atraso do pico das concentrações plasmáticas, resultantes do maior tempo de esvaziamento gástrico necessário (Martinez, McDermott e Walker, 2006). Há, contudo a referir que alimentos ricos em catiões divalentes, por exemplo com alto teor em magnésio, alumínio, cálcio, ferro e zinco, devem ser evitados aquando da administração de fluoroquinolonas pois existe a possibilidade destas quelatarem com esses iões, diminuindo a sua biodisponibilidade e concentrações plasmáticas (Oliphant e Green, 2002). A estrutura molecular da quinolona, especialmente a presença de um grupo piperazinilo na posição 7, influencia a sua absorção, aumentando-a. O mesmo efeito é observado para a taxa de metabolização e excreção (FDA, 2012 a).

### 2.2.2. Distribuição

As fluoroquinolonas têm uma boa penetração tecidular em quase todos os tipos de tecido, sendo o seu alcance a nível do SNC mais difícil (Aradottir e Yogev, 1999). Quando as meninges estão inflamadas a penetração tecidular é maior, no entanto as concentrações tecidulares são sempre inferiores às concentrações séricas correspondentes (Almeida e Machado, 1994). O mesmo se verifica com as concentrações tecidulares no tecido prostático e ósseo e fluidos salivares e biliares. Por estas razões, estes agentes antibacterianos são inadequados como fármacos de primeira linha no tratamento de infecções nestes tecidos alvo (Oliphant e Green, 2002).

### 2.2.3. Metabolização e Eliminação

As fluoroquinolonas sofrem, como principal mecanismo metabólico, glucuronidação (caso da moxifloxacina, sparfloxacina e grepafloxacina), N-oxidação e desmetilação (caso da levofloxacina e sparfloxacina). O citocromo P<sub>450</sub> está geralmente envolvido e é o responsável por todos estes processos.

As fluoroquinolonas podem ser metabolizadas e eliminadas tanto por via hepática como por via renal. Como exemplo, a ciprofloxacina e a norfloxacina são eliminadas pelas duas vias, o ácido nalidíxico, a difloxacina e a perfloxacina são metabolizadas pelo fígado e a ofloxacina, lomefloxacina e a temafloxacina são eliminadas exclusivamente por via renal. A eliminação da sparfloxacina, moxifloxacina e trovafloxacina é efectuada pelo fígado (Martinez *et al.*, 2006), (Oliphant e Green, 2002), (Aradottir e Yogev, 1999).

Os tempos de semi-vida de eliminação variam entre as 1,5 e as 16 horas, o que permite uma administração para alguns deles entre 12 a 24 horas entre doses. Para evitar quaisquer tipos de problemas e efeitos secundários indesejáveis, estas dosagens devem ser cuidadosamente ajustadas e analisadas em doentes cujas funções hepáticas e renais estejam comprometidas (Oliphant e Green, 2002).

### 2.3. Acção Farmacológica

As fluoroquinolonas são amplamente usadas em infecções do aparelho genitourinário, infecções do aparelho respiratório, no tratamento de DST's e infecções gastro-intestinais.

Nas infecções do aparelho urinário, as quinolonas são o antibacteriano de eleição quando estas são de natureza complicada, como infecções nosocomiais por patogénicos resistentes a outros antibióticos. Como a ciprofloxacina, levofloxacina, gatifloxacina, ofloxacina, lomefloxacina e enofloxacina têm taxas de *clearance* renal e concentrações ao nível renal elevadas, são as escolhas ideais para o tratamento deste tipo de infecção.

No que se refere a tratamento de infecções respiratórias, as fluoroquinolonas mostraram ter uma boa eficácia quando comparadas com o fármaco de associação de amoxicilina com ácido clavulânico, com claritromicina e com cefuroxima. No entanto, o seu uso como fármaco de primeira linha deve ser limitado e até mesmo evitado, devido à elevada taxa de aparecimento de resistências ao longo destes últimos anos. O seu uso deve ser pois só considerado nos casos onde outros tratamentos prévios com antibióticos falharam, nos casos de alergias a  $\beta$ -lactâmicos ou quando os pacientes estão infectados por bactérias altamente resistentes, como por exemplo *S. Aureus*, *S. Pneumoniae* ou *H. Influenzae* (Oliphant e Green, 2002), (Bakken, 2004).

Nas doenças sexualmente transmissíveis, este tipo de fármacos é usado essencialmente no tratamento da gonorreia provocada pela *Neisseria gonorrhoeae*. Caso o paciente seja alérgico à penicilina, uma única administração de ciprofloxacina, gatifloxacina ou ofloxacina é suficiente para a eliminação da bactéria. No caso de infecções por *C. Trachomatis* deve ser aplicado um plano de tratamento de 7 dias com sparfloxacina ou ofloxacina. O cancro de tecidos moles, ou cancroíde, provocado pela *Haemophilus ducreyi* é tratado com ciprofloxacina.

Nas infecções gastrointestinais, como por exemplo febre tifóide entérica, diarreias ou cólera, pode ser usada a ciprofloxacina/ofloxacina, norfloxacina/ciprofloxacina e norfloxacina, respectivamente.

O seu uso em infecções de pele e de tecidos moles ainda não está vulgarizado pois existem poucos estudos e certezas quanto à sua eficácia em relação ao custo/benefício respeitante a este local de acção terapêutica (Oliphant e Green, 2002).

#### 2.4. Mecanismo de acção

A replicação de DNA bacteriano é um processo altamente regulado que está intimamente relacionado com a taxa de crescimento da célula bacteriana. Esta replicação é regulada por um grupo de enzimas designadas por topoisomerases, que asseguram que o DNA bacteriano se mantém no seu estado condensado. O comprimento da molécula de DNA

desenrolada excede em larga escala o espaço ao qual tem de estar confinado, sendo o papel das topoisomerases crucial na manutenção do super-enrolamento do DNA nas regiões replicativas e não replicativas do cromossoma (Bakken, 2004).

As fluoroquinolonas inibem a síntese de DNA bacteriano por se ligarem às enzimas topoisomerases II e IV. De um modo geral, as fluoroquinolonas ligam-se à topoisomerase II nas espécies Gram<sup>-</sup> e à topoisomerase IV nas espécies Gram<sup>+</sup> (Van Bambeke *et al.*, 2005), (Bakken, 2004). A topoisomerase II (ou DNA girase) foi a enzima alvo das primeiras quinolonas, como é o caso do ácido nalidíxico. A topoisomerase IV foi descoberta como alvo destes fármacos quando as primeiras resistências às quinolonas de primeira geração começaram a aparecer em *Staphylococcus aureus* (Hooper, 2001). As fluoroquinolonas formam um complexo ternário [fármaco-enzima-DNA] com as topoisomerases IV, inibindo a replicação do DNA (Van Bambeke *et al.*, 2005), (Bakken, 2004).

As fluoroquinolonas têm um importante papel de “fármaco bi-valente” desde que tenham uma boa eficácia para a inibição da topoisomerase II ou IV, no que toca ao combate de aparecimento de resistências. Quando a bactéria desenvolve determinado mecanismo de resistência através de mutações numa das enzimas alvo, o fármaco pode ser direccionado como inibidor enzimático da outra enzima, mais sensível ou mais exposta das bactérias, já que estas dependem das duas enzimas para garantir a sua viabilidade. Isto implica que para uma bactéria ser totalmente resistente a qualquer quinolona, terá que sofrer mutações em simultâneo em ambas as enzimas (Hooper, 2001).

Assim, e de uma forma sintética, pode-se afirmar que as quinolonas expressam a sua actividade bactericida interferindo com o enrolamento do DNA, impedindo a sua replicação e transcrição. Este processo acontece devido à sua actuação contra as topoisomerases (figura 7): as topoisomerases afectadas pelas quinolonas não conseguem promover o desdobraimento do DNA pelo que o superenrolamento do DNA passa a ser definitivo (Sousa, 2006).

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

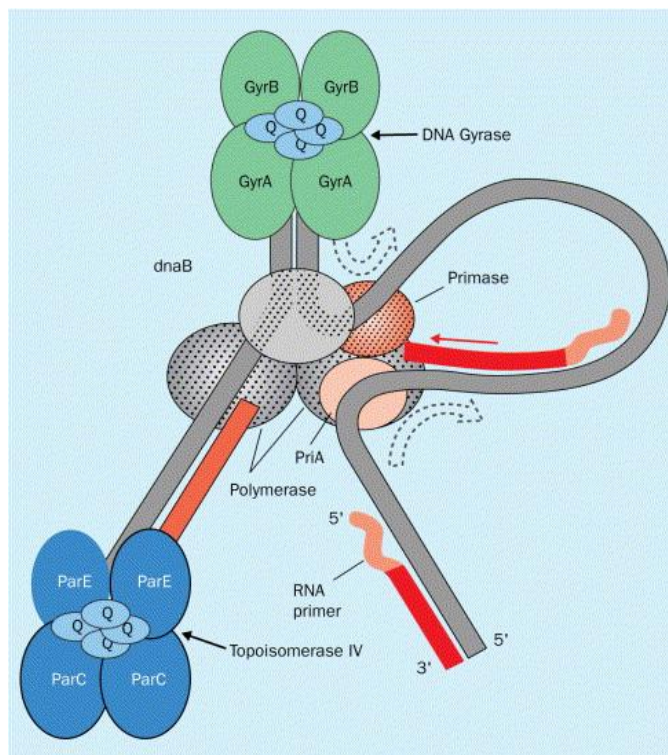


Figura 8 - Mecanismo de acção das fluoroquinolonas (Hooper, 2002)

## 2.5. Efeitos secundários

As fluoroquinolonas são, como classe, consideradas seguras e bem toleradas. A incidência dos efeitos secundários varia significativamente consoante a estrutura química de cada molécula, sendo normalmente pouco frequentes e suaves ou então raros. Os compostos que provocam efeitos mais graves, têm a recomendação de limitação do uso e algumas moléculas já foram retiradas do mercado.

No que concerne ao tipo de efeitos secundários, verificou-se que não estão associados particularmente a determinada estrutura química das moléculas, mas são comuns a todas elas. Os de maior relevância são o desconforto gastrointestinal, diarreia, náuseas, vómitos e perturbações do sistema nervoso central. A fototoxicidade é igualmente uma preocupação

com as quinolonas em geral (Bertino e Fish, 2000), (Van Bambeke *et al.*, 2005), (Lee e Kanatani, 1999), (Oliphant e Green, 2002), (Aradottir e Yogev, 1999), (Stahlmann, 2002).

A ciprofloxacina e a ofloxacina têm como efeito secundário mais frequente os distúrbios gastrointestinais, mais concretamente a diarreia e a náusea. Reacções da pele e do sistema nervoso central são também frequentemente reportados, como tremores, tonturas e dores de cabeça.

A sparfloxacina também tem sido associada a problemas GI e a problemas no SNC, no entanto, a sua fototoxicidade e capacidade de alterar o intervalo QTc do batimento cardíaco são os efeitos secundários mais graves associados a esta molécula. A fotosensibilidade também foi constatada em diversos estudos, sendo os pacientes aconselhados a não contactar com a luz solar, mesmo usando um protector solar com SPF elevado. O prolongamento do intervalo QTc faz com este tipo de antibacteriano seja severamente desaconselhado a pessoas com problemas cardíacos.

A levofloxacina tem efeitos secundários equivalentes aos da ciprofloxacina, mas com uma significativa diminuição de gravidade dos mesmos.

A grepafloxacina foi retirada do mercado mundial em 1999 devido a problemas relacionados com o aparelho cardiovascular, à semelhança do que ocorreu para a sparfloxacina, devido a alterações no intervalo QTc. Embora estes casos tenham sido raros, a Glaxo<sup>®</sup> optou por retirar definitivamente a molécula de circulação por achar que os benefícios não eram suficientes em relação aos efeitos secundários potencialmente perigosos para os doentes, tendo em conta a disponibilidade de outros antibióticos no mercado.

A lomefloxacina apresenta efeitos indesejáveis fortes ao nível do SNC, com relatos de tonturas, tremores e ataques epilépticos. Os ataques epilépticos estão fortemente associados com interacções medicamentosas, principalmente com AINE's. A fototoxicidade é também ou efeito secundário presente na lomefloxacina que requer alguns cuidados.

A trovafloxacina, até à pouco tempo, era considerada uma fluoroquinolona relativamente segura, com efeitos secundários pouco frequentes e leves, ao nível do aparelho GI, SNC e com um baixo potencial de provocar fototoxicidade. Também não havia registo de alterações a nível cardiovascular nem de interacções medicamentosas. No entanto, em

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

1998, vários casos foram registados de doentes com problemas hepáticos associados à terapêutica com trovafloxacin, tendo havido inclusivamente a necessidade de execução de transplante hepático em 4 pacientes. Outros 5 pacientes faleceram com doença relacionada com falha hepática. Este número foi considerado significativamente mais altos do que seria expectável (Bertino e Fish, 2000). O uso de trovafloxacin por períodos superiores a 14 dias aumenta, aparentemente, o risco de falha hepática aguda, sendo no entanto a ocorrência desta condição imprevisível. Perante isto, a FDA em Junho de 1999 lançou um aviso de saúde pública para os médicos a informar do risco hepático associado à trovafloxacin e a aconselhar o uso da trovafloxacin apenas em casos em que os doentes cumprissem determinados critérios específicos. O tratamento deve ser descontinuado caso apareçam sintomas de disfunção hepática, como por exemplo fadiga, anorexia, icterícia, dores abdominais fortes com náuseas e vômitos e urina escura (FDA, 2012 b).

A moxifloxacin tem como efeitos secundários, distúrbios gastrointestinais. Apresenta poucas alterações do SNC e baixa taxa de fototoxicidade. No entanto, em Outubro de 1999, a FDA alertou para os riscos da utilização da moxifloxacin, pois havia registos de que esta diminuiria o intervalo QTc nos electrocardiogramas em cerca de 60 milisegundos. Assim, a partir dessa data a moxifloxacin ficou desaconselhada a doentes com hipercalémia não tratada ou sob terapêutica antiarrítmica.

A gatifloxacin apresenta efeitos secundários pouco relevantes e de gravidade moderada, como náuseas, dores de cabeça, tonturas e diarreia. Não apresenta sintomas de fototoxicidade nem de alteração do intervalo QTc do batimento cardíaco. É recomendado no entanto, algum cuidado na administração de gatifloxacin a pacientes que estejam medicados com antiarrítmicos ou com antidepressivos.

Concluindo, as fluoroquinolonas são antibacterianos com largo espectro de acção e muito similar entre elas, logo é necessário uma avaliação cuidada na decisão da sua dispensa, pois é fundamental avaliar a relação benefício/segurança e analisar bem os seus perfis de segurança e tolerabilidade. Os efeitos secundários, na sua maioria, são reversíveis parando de imediato o tratamento (Bertino e Fish, 2000).

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

### III. OBJECTIVOS E MÉTODOS

### 3.1 Considerações gerais

Na realização deste trabalho avalia-se os efeitos electrónicos e estruturais da substituição de um ião de hidrogénio por um ião de flúor na posição 6 em cinco moléculas de fluoroquinolonas: a gatifloxacina, a sitafloxacina, a sarafloxacina, a sparfloxacina e um derivado da gemifloxacina.

O flúor é um átomo muito electronegativo, que ocupa um volume menor que um grupo metilo, hidroxilo ou amina, mas maior do que um átomo de hidrogénio (Almeida e Machado, 1994). Um dos primeiros fármacos organofluorados a ser sintetizado foi o 5-fluoruracilo um agente anti-neoplásico, em 1957. A partir daí, o flúor começou a ser alvo de atenção na química medicinal, por melhorar a estabilidade metabólica, a biodisponibilidade e as ligações fármaco-proteína alvo. Um dos fármacos sobejamente conhecido hoje em dia que assenta no uso de flúor é a fluoxetina (Prozac<sup>®</sup>), um antidepressivo aprovado pela FDA em Dezembro de 1987. Outro fármaco, análogo da eritromicina é a fluritromicina, usada para o tratamento de infecções provocadas pela bactéria *Helicobacter pylori*, fármaco lançado no mercado em 1997.

O átomo de flúor pode apresentar um rol de vantagens ao ser incluído nas moléculas farmacologicamente activas, como por exemplo a modelação do  $pK_a$ , que pode ter um impacto significativo na alteração da biodisponibilidade do fármaco. Por ser extremamente electronegativo pode condicionar a distribuição de cargas na molécula e portanto o equilíbrio de ácido-base da molécula. Todavia a correspondente alteração do  $pK_a$  deve ser olhada com algum cuidado pois poderá ter um efeito significativo tanto nas propriedades farmacocinéticas (por variação do valor do equilíbrio hidrófilo-lipófilo) como na sua capacidade de ligação ao receptor. Sendo o átomo de fluor muito electronegativo vai, obviamente, retirar densidade electrónica aos átomos adjacentes, colocando-os com maior acidez. A acidez acrescida poderá, eventualmente, aumentar a acção *in vitro* por facilitar a ligação a um receptor. Todavia, a sua acção farmacológica *in vivo* poderá diminuir devido à diminuição, por exemplo, da sua biodisponibilidade. De facto, uma molécula mais ácida pode apresentar mais dificuldade em atravessar as membranas e, portanto, atingir o local de

acção. Assim é crucial que se tenha em conta a existência de um equilíbrio óptimo entre estes parâmetros ( $pK_a$ , polaridade, natureza e conformação da molécula, interacções fármaco-receptor, entre outros) (Böhm *et al.*, 2004). Outra característica inerente à existência de flúor na molécula é a capacidade de alteração da lipofilia da molécula, definida pelo coeficiente de partição de uma substância entre a fase aquosa e a fase orgânica. Esta característica associada à alta polaridade que o átomo de flúor confere, promovem um equilíbrio entre a lipofilia pretendida e a polaridade da molécula, de modo a que a afinidade para com os receptores não seja comprometida por excesso de lipofilia e a biodisponibilidade também não por baixa de solubilidade (Böhm *et al.*, 2004). Existe, no entanto, a ideia errada que a fluorinação aumenta sempre a lipofilia das moléculas. O que faz com que haja um aumento da lipofilia nas moléculas aromáticas é a excelente sobposição entre as orbitais 2s ou 2p do flúor com as orbitais correspondentes do carbono, fazendo com que a ligação C-F não seja facilmente polarizável (Purser *et al.*, 2008).

Este estudo foi efectuado seleccionando cinco compostos que foram estudados de acordo com os seguintes processos:

- i) Optimização geométrica das moléculas (em estado gasoso) utilizando o programa Gaussian 03 que executa a optimização da geometria da molécula por métodos da teoria DFT (Density Functional Theory). A geometria optimizada tem como critério a minimização da energia da molécula, calculada por métodos *ab-initio*. A optimização geométrica permite inferir sobre aspectos estruturais, nomeadamente os conformacionais.
- ii) Cálculos das cargas atómicas das moléculas optimizadas por análise NPA (Natural Population Analysis). A análise das variações das cargas atómicas permite discutir a polaridade relativa dos locais identificados como os responsáveis pelas relações estrutura-actividade.
- iii) Cálculos das superfícies de potencial isoelectrónicas que permitem estabelecer quais as diferenças de polaridade na superfície das moléculas, para o mesmo afastamento do núcleo atómico. Assim pode-se avaliar, para a mesma distância dos

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

núcleos atómicos (mesmo volume), as diferenças entre as polaridades.

### 3.2. Métodos computacionais: breve descrição

#### 3.2.1. Cálculo da energia molecular por *ab-initio*

Num sistema multi-partícula utiliza-se a equação de Schroedinger independente do tempo para executar o cálculo da energia,  $E$ , do sistema em determinado instante:

$$\hat{H}\Psi(x_1, y_1, z_1, \dots, x_n, y_n, z_n) = E\Psi(x_1, y_1, z_1, \dots, x_n, y_n, z_n) \quad 3.1$$

onde a função de onda molecular  $\Psi$  é dada pelo produto das funções de onda atómicas e o hamiltoniano molecular  $\hat{H}$  é tomado como a soma dos hamiltonianos atómicos dos átomos constituintes da molécula. Na aproximação de Born-Oppenheimer consideram-se os movimentos electrónicos separados dos nucleares de modo a simplificar o hamiltoniano, que passa a ser composto pelo hamiltoniano electrónico e nuclear:

$$\hat{H}_{Total} = \hat{H}_{electrónico} + \hat{H}_{nuclear} \quad 3.2$$

procedendo-se, com base nestes e nas funções de onda electrónicas, ao cálculo das energias electrónicas, energias nucleares e funções de onda que descrevem a translacção, rotação e vibração das moléculas:

$$E_{Total} = E_{electrónico} + E_{nuclear} \quad 3.3$$

onde

$$\hat{H}_{electrónico} \Psi_{electrónico} = E_{electrónico} \Psi_{electrónico} \quad 3.4$$

e

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

$$\left[ E_{\text{electronia}}(r_1, r_2 \dots r_n) + \hat{K}n \right] \Psi_{\text{nuclear}} = E_{\text{nuclear}} \Psi_{\text{nuclear}} = E_{\text{nuclear}} (\Psi_{\text{rotação}} \times \Psi_{\text{translação}} \times \Psi_{\text{vibração}}) \quad 3.5$$

### 3.2.2. O método SCF

O método SCF (Self-Consistent-Field) é um método que utiliza fundamentalmente 3 etapas para realizar o cálculo das energias moleculares:

- A definição do hamiltoniano molecular pelo método de Born-Oppenheimer;
- A definição das funções de onda do sistema com base numa selecção prévia de funções ou funcionais com o objectivo de ser aplicada numa solução de triagem. Estas funções de onda que permitem descrever o estado fundamental das moléculas são representadas por determinantes (por exemplo os determinantes de Slater).
- O estabelecimento de uma equação de onda de triagem semelhante à equação de Schroedinger, denominada equação de Hartree-Fock, HF:

$$\hat{F}\phi_i = E_i \phi_i \quad 3.6$$

que é resolvida iterativamente para se efectuar o cálculo dos valores próprios.

Na equação 3.6,  $\hat{F}_i$  refere-se ao operador de Fock e  $\phi_i$  às funcionais de onda moleculares. O operador de Fock integra o operador para cálculo da energia cinética, o operador para cálculo de energia potencial de repulsão intranuclear, o operador para a energia potencial de atracção nuclear-electrónica e de repulsão electrónica e o operador da energia de intercâmbio inter-electrónica. Para escrever o operador de Fock é necessário fazer um processo iterativo denominado “self-consistent-field” acrónimo de SCF, pois  $\hat{F}_i$  é também função das funcionais  $\phi_i$  que definem as orbitais moleculares, ou seja, para definir  $\hat{F}_i$  deve-se conhecer  $\phi_i$  e para se definir  $\phi_i$  deve-se conhecer  $\hat{F}_i$  de acordo com 3.6.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

Assim sendo, faz-se uma triagem com umas funcionais de onda moleculares obtidas por um método semi-empírico que serão utilizadas para a construção do operador. Este, posteriormente, será utilizado para efectuar o cálculo de novas funcionais, e assim sucessivamente até que não se encontrem diferenças significativas entre os resultados actuais e os prévios.

### 3.2.3. As energias obtidas

Os valores das energias obtidas após a resolução da equação de HF,  $E_i$  correspondem à energia de orbital ou energia uni-electrónica que se poderá interpretar como sendo a energia que um electrão possuirá na orbital molecular  $\phi_i$  e que resulta da sua energia cinética e potencial (de atracção nuclear, de repulsão electrónica e de intercâmbio) devida a todos os outros electrões presentes nas orbitas  $|\phi_j|^2$ .

A energia total HF é dada pela soma da energia dos electrões  $E_i$  que, após alguns factores correctivos dá a energia electrónica,  $E_{ele}$ , e a energia potencial de repulsão intra-nuclear  $V_{nn}$ .

$$E(HF) = E_{ele} + V_{nn} \quad 3.7$$

A conformação nuclear que fornecer a  $E(HF)$  mínima é tomada como sendo a geometria molecular de equilíbrio e portanto as energias electrónicas e as funções de ondas descriptoras das orbitais aí obtidas são as tomadas como as correspondentes ao estado estacionário de energia mínima.

Para que haja garantia de que a conformação obtida corresponde a um mínimo pelo menos local, executa-se um cálculo posterior das frequências de vibração nucleares (definidoras da função de onda de vibração nuclear) de modo a verificar a ausência de valores negativos correspondentes a frequências imaginárias.

### 3.2.4. As bases para as funcionais.

Como foi referido em 3.2.2. para executar os cálculos HF há que definir as funções de onda do sistema com base numa selecção prévia de funções ou funcionais com o objectivo de ser aplicada numa solução de triagem. No programa de cálculo que foi utilizado para executar este trabalho essas funções são do tipo gaussianas onde, a densidade electrónica em função da distância nuclear ( $r$ ) é dada por uma exponencial:

$$R(r) = Ae^{-ar^2} \quad 3.8$$

Estas funções definem funcionais que descrevem orbitais atómicas. A base de funcionais definidas para executar o cálculo das geometrias de equilíbrio e das respectivas energias foi a 6-311G(d,p) que refere que cada orbital interna foi descrita pela soma de 6 gaussianas sendo cada orbital de valência dividida em parte externa e interna e descrita por 3 e 1 gaussianas, respectivamente.

### 3.2.5. Teoria de DFT (Density Functional Theory)

Na teoria de Hartree-Fock a energia,  $E(HF)$ , é calculada pela seguinte expressão:

$$E(HF) = E_{ele} + V_{nn} \quad 3.9$$

$$E(HF) = \sum_{i=1}^n \left[ 2E_i - \sum_{j=1}^n (J_{ij} - K_{ij}) \right] + V_{nn} \quad 3.10$$

Onde  $V$  se refere à energia de repulsão nuclear,  $E_i$  à energia uni-electrónica que engloba a componente cinética e a potencial,  $J_{ij}$  à energia de repulsão de Coulomb clássica entre

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

electrões e o termo  $K_{ij}$  refere-se à energia de permuta resultante da natureza quântica dos electrões.

Na teoria de densidade funcional o determinante correspondente à permuta energética  $K_{ij}$ , é substituído por uma funcional de permuta correlacional que inclui os termos para a energia de permuta EX (funcional de permuta) e para a correlação electrónica EC (funcional de correlação electrónica) originando  $E(KS)$ ,

$$E(KS) = \sum_{i=1}^n \left[ 2E_i - \sum_{j=1}^n (J_{ij} - (EX + EC)) \right] + V_{nn} \quad 3.11$$

As funcionais utilizadas na teoria DFT são integrais de funções de densidade ou de gradientes de densidade.

### 3.2.6. Superfícies de energia

Para as estruturas optimizadas pode-se executar o cálculo de superfícies de energia potencial que é a representação multidimensional da densidade electrónica retirada da densidade do SCF onde o potencial electrónico (ESP) é mapeado nessa superfície.

As superfícies mapeadas são as superfícies onde uma propriedade é mapeada para uma superfície criada por outra propriedade. Neste exemplo é mapeado o potencial eletrostático (ESP) sobre uma superfície de densidade electrónica dada pelo cálculo de SCF (Self Consistent Field). Numa superfície de densidade ESP-mapeada, a superfície de densidade electrónica dá a forma da superfície, enquanto o valor do potencial electrostático nesse ponto superficial (ESP) é dado por cores.

O potencial eletrostático (ESP) corresponde à energia potencial teoricamente “sentida” por uma “carga teste positiva” num determinado ponto no espaço. Se o ESP é negativo então a região é estável ou favorável à aproximação de uma carga teste positiva. Inversamente, se o

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

ESP é positivo em determinada região é porque existe relativa instabilidade da região ao teste “positivo”. Assim, uma superfície de densidade mapeada por ESP pode ser usada para mostrar as regiões de uma molécula que podem ser mais favoráveis ao ataque nucleofílico ou eletrofílico, fazendo com que tais superfícies sejam úteis para interpretações qualitativas da ligação fármaco-receptor. Outra maneira de interpretar as superfícies de densidade ESP mapeadas é inferir que elas mostram, “onde” é que a densidade electrónica para a “molécula fronteira” (construída pelo valor de distância radial aos seus núcleos) é maior (ou menor) em relação ao núcleo.

### 3.2.7 Metodologia adoptada

Os cálculos *ab initio* foram executados com o programa Gaussian 03 (2007) utilizando o nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p). B3LYP refere-se à combinação das funcionais híbridas de permuta de Becke (Becke, 1997) com as funcionais de correlação de gradiente de Lee & Yang (1998), 6-311G++(d,p) refere-se a um conjunto de bases de cisão de valência polarizadas.

Foram também calculadas as orbitais moleculares, assim como, as cargas atribuídas a cada átomo por uma análise de NPA (Natural Population Analysis Phase) das NBO (Natural Bond Orbital Analysis) de acordo com Carpenter & Weinhold (1998). Para o mesmo nível de teoria foram feitos os cálculos das frequências de vibração dos compostos de modo a se poder verificar que a estrutura convergiu para um mínimo, pelo critério de obtenção de zero frequências imaginárias.

O programa GaussView 3.0 (2007), foi utilizado para a visualização gráfica dos resultados e para executar as imagens apresentadas para a optimização geométrica, as superfícies de potencial e a distribuição de cargas.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

#### IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Considerações gerais

Neste capítulo é feita uma apresentação e interpretação dos resultados obtidos. Na Figura 8 encontra-se um resumo condensado das estruturas químicas das moléculas que foram estudadas. Iniciam-se estas considerações por uma análise comparativa dos aspectos conformacionais das moléculas e apresentam-se os valores das energias mínimas obtidas para cada uma delas, bem como os seus momentos dipolares, em resultado das optimizações geométricas feitas fazendo uma comparação visual entre as principais diferenças entre elas. Finalmente faz-se uma análise das superfícies de densidade electrónicas que foram mapeadas tendo em conta o seu potencial electrostático para determinada distância nuclear.

#### 4.2. Optimizações geométricas

Para cada uma das moléculas em estudo, foram efectuadas várias optimizações geométricas e o cálculo das respectivas frequências de vibração, para garantir que a energia obtida correspondia a um mínimo devido à inexistência de frequências imaginárias. Na figura 9 encontram-se as estruturas optimizadas para a sparfloxaxina e para a cicloheptagemifloxacina que são quinolonas de 3<sup>a</sup> geração. Estas quinolonas apresentam actividade contra agentes Gram- e Gram + sendo os medicamentos de eleição no tratamento de doenças respiratórias quando há resistência aos beta-lactâmicos. A conformação obtida quando um átomo de fluor é substituído por um átomo de hidrogénio está no lado direito. A figura 9.2 mostra as estruturas optimizadas para as restantes fluorquinolonas utilizadas neste estudo, a gatifloxacina, a sarafloxacina e a sitafloxacina que são fluorquinolonas de 4<sup>a</sup> geração. Estas ainda não se encontram no mercado mas os dados até agora existentes sugerem que apresentam o mesmo espectro de acção das anteriores gerações com alargamento para bactérias anaeróbias, melhor e maior actividade contra Gram<sup>+</sup> e espécies resistentes e com excelentes resultados no tratamento de infecções do sistema respiratório.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

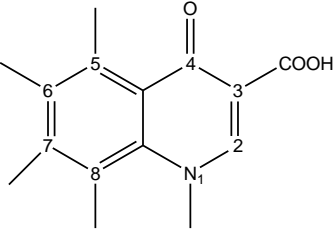

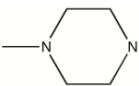

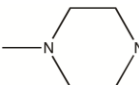

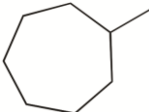

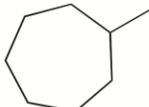
					
	N <sub>1</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>
Sparfloxacina (F)		-NH <sub>2</sub>	-F		-F
Sparfloxacina (H)		-NH <sub>2</sub>	-H		-F
Cicloheptilgemifloxacina (F)		-H	-F		-Cl
Cicloheptilgemifloxacina (H)		-H	-H		-Cl

Figura 9.1 – Representação esquemática das fluoroquinolonas usadas no estudo. No início da tabela encontra-se esquematizado o farmacóforo.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluoroquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

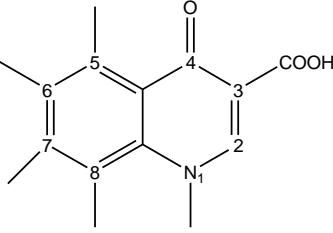

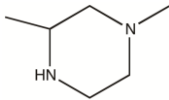

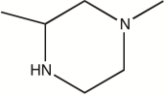
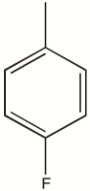
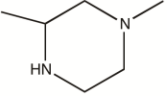
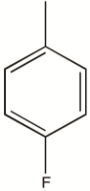
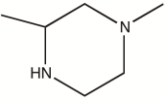
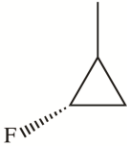
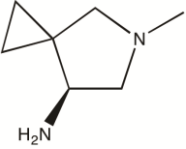
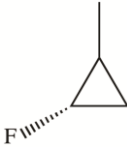
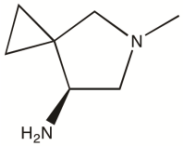
					
	N <sub>1</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>
Gatifloxacina (F)		-H	-F		-OH
Gatifloxacina (H)		-H	-H		-OH
Sarafloxacina (F)		-H	-F		-H
Sarafloxacina (H)		-H	-H		-H
Sitafloxacina (F)		-H	-F		-Cl
Sitafloxacina (H)		-H	-H		-Cl

Figura 9.2 (continuação) - Representação esquemática das fluoroquinolonas usadas no estudo. No início da tabela encontra-se esquematizado o farmacóforo.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

Os valores obtidos para as energias electrónicas de cada molécula e para os momentos dipolares encontram-se na Tabela II. Os valores das energias representam a estabilidade de cada molécula, embora não se possa fazer uma comparação directa entre diferentes moléculas devido à composição atómica diferente entre cada uma.

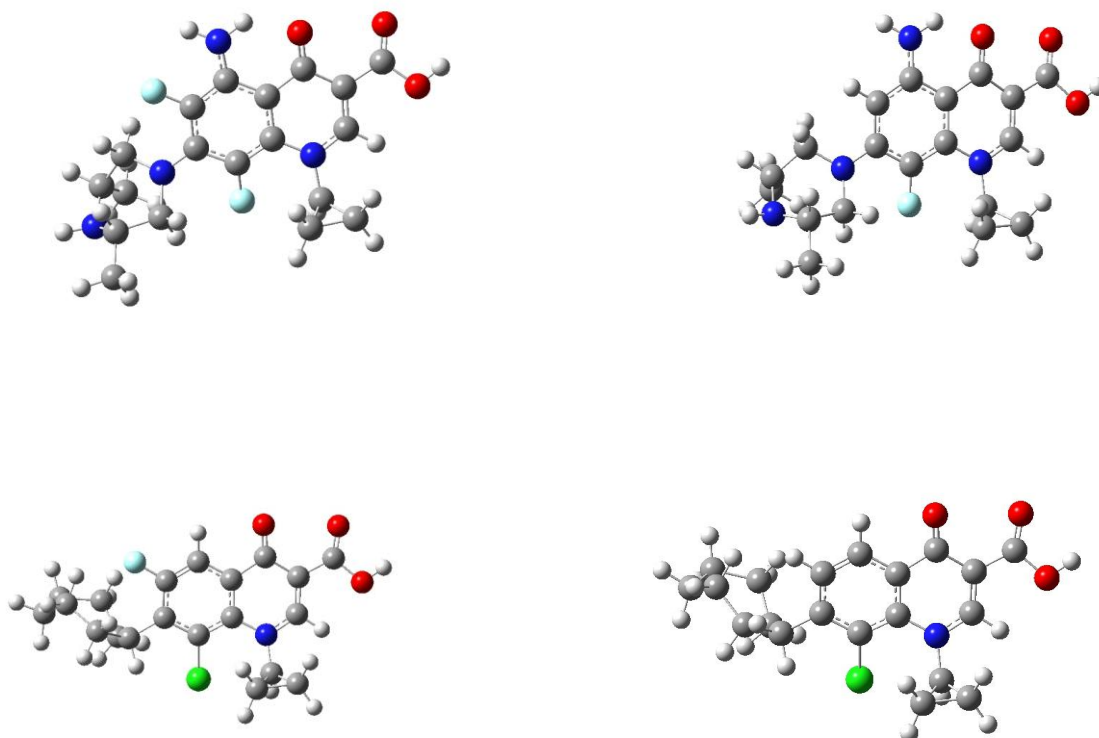


Figura 10.1 – Geometria molecular da sparfloxaxina neutra (em cima à esquerda) e para a Cicloheptanogemifloxaxina (em baixo, à esquerda) obtidas por optimização para uma energia mínima com o nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p). A sparfloxaxina é uma fluorquinolona de 3<sup>a</sup> geração com actividade contra Gram<sup>-</sup> igual à 2<sup>a</sup> geração, exceptuando contra *P. Aeruginosa*. Boa actividade contra Gram<sup>+</sup>. A cicloheptilgemifloxaxina (em baixo, à esquerda) é derivada da genifloxaxina que também é uma fluorquinilona de 3<sup>a</sup> geração. As estruturas à direita referem-se às estruturas onde o átomo de fluor na posição 6 foi substituído por um átomo de hidrogénio.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

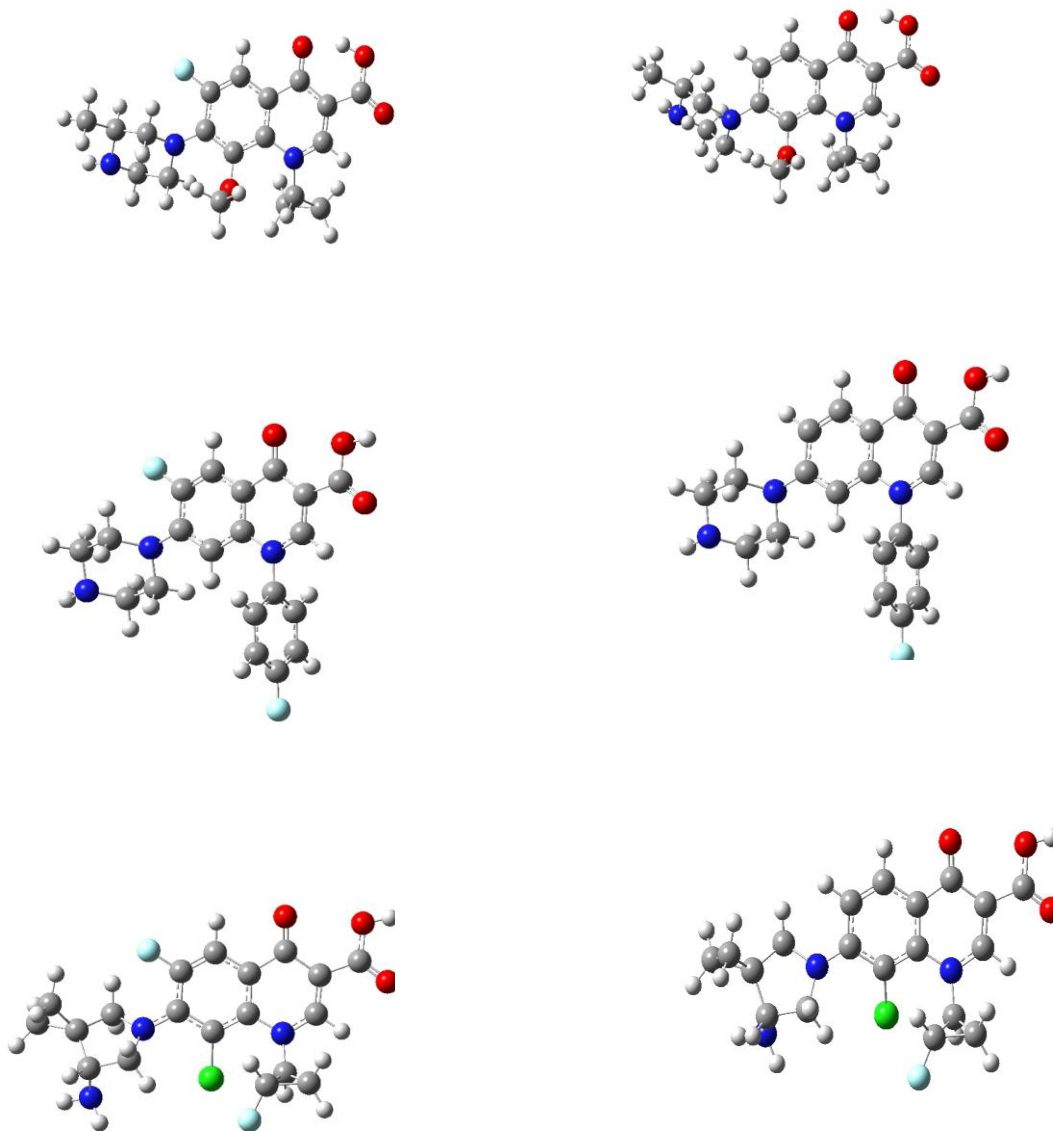


Figura 10.2 - Geometrias optimizadas para os compostos estudados obtidas por cálculos *ab initio* no nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p), para a gatifloxaxina (em cima à esquerda) para a sarafloxaxina (no meio, à esquerda) e para a sitafloxacina (em baixo, à esquerda). À direita encontram-se as conformações moleculares substituídas em C<sub>6</sub> por hidrogénio. Estas quinolonas pertencem à 4<sup>a</sup> geração e apresentam o mesmo espectro de acção das anteriores gerações com alargamento para bactérias anaeróbias, melhor e maior actividade contra Gram<sup>+</sup> e espécies resistentes.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

Tabela II - Energias mínimas e momentos dipolares para os compostos em estudo, obtidos pela teoria B3LYP/6-311G++(d,p).

Composto	Nome Sistemático (internacional)	E <sup>1</sup> /Hartres	Momento Dipolar /D
Sparfloxacina (F)	Ácido 5-amino-1-ciclopropil-7-[(3R,5S)3,5-dimetilpiperazina-	-1381,98609196	7,1082
Sparfloxacina (H)	1-il]-6,8-difluoro-4-oxo-quinolona-3-carboxílico	-1282,72525357	7,3794
Cicloheptilgemifloxaxina			
(F)	Ácido 7-cicloheptil-8-cloro-1-ciclopropil- 6-fluoro- 4-oxo- 1,4- dihidroquinolona-3-carboxílico	-1615,54976287	7,7722
Cicloheptilgemifloxacina (H)		-1516,28762502	7,3088
Gatifloxacina (F)			
Gatifloxacina (F)	Ácido 1-ciclopropyl-6-fluoro-8-metoxi-7-(3-metilpiperazina-1-il)- 4-oxo-quinolona-3-carboxílico	-1302,58758929	11,3760
Gatifloxacina (H)		-1203,32386852	11,6417
Sarafloxacina (F)			
Sarafloxacina (F)	Ácido 6-fluoro-1-(4-fluorofenil)-4-oxo-7-piperazina-1-ilquinolona-3-carboxílico	-1362,35705102	7,3520
Sarafloxacina (H)		-1263,09092475	7,5587
Sitafloxacina (F)			
Sitafloxacina (F)	Ácido 7- [(4S)- 4-amino- 6-azaspiro [2.4] heptan- 6-il]- 8-cloro- 6-fluoro- 1- [(2S)- 2-fluorociclopropil]- 4-oxoquinolona- 3-carboxílico	-1784,97685654	5,9785
Sitafloxacina (H)		-1685,71299472	6,9219

<sup>1</sup>(RB+HF+LYP)

### 4.3. Aspectos conformacionais

As conformações apresentadas por cada molécula são importantes pois estas são decisivas na ligação ao receptor. Para avaliar de forma sistematizada as principais diferenças conformacionais existentes entre as fluorquinolonas optou-se por fazer uma análise com base em cinco ângulos de torção, os especificados na figura da tabela III. O ângulo  $\Psi_1^\circ$  refere-se à distorção na ligação C<sub>8</sub>'-N<sub>1</sub> do anel da quinolona;  $\Psi_2^\circ$  refere-se à distorção do substituinte em N<sub>1</sub>;  $\Psi_3^\circ$  refere-se à distorção do grupo carboxílico em C<sub>3</sub>;  $\Psi_4^\circ$  refere-se à distorção em torno da ligação C<sub>6</sub>-C<sub>7</sub> do anel da quinolona devido aos substituintes presentes nesses átomos e  $\Psi_5^\circ$  refere-se à distorção do substituinte em C<sub>7</sub> relativamente ao anel da quinolona.

Pela análise dos valores obtidos para  $\Psi_1$  verifica-se que a presença do substituinte ciclopropilo impõe um ligeira distorção do anel da quinolona em relação à planariedade quando comparada com a presença de um substituinte fenilo em N<sub>1</sub>. Esta torção é superior para os compostos com um átomo de cloro substituído em C<sub>8</sub>, provavelmente devido à tensão estérica que o átomo de cloro, volumoso, promove em relação ao ciclopropilo. No entanto para a mesma molécula a substituição de -F por -H em C<sub>7</sub> não altera a conformação nesta parte da molécula.

Relativamente ao ângulo que define a torção do substituinte em N<sub>1</sub> em relação ao anel da quinolona, verifica-se que na sarafloxacina, a única que possui um substituinte parafluorfenilo (quando nas restantes este é um ciclopropilo ou derivado), o anel fenílico encontra-se praticamente perpendicular ao da quinolona. Relativamente às restantes quinolonas há a salientar o caso da gatifloxacina, cujo o anel cíclico alifático se encontra posicionada para baixo do plano da quinolona, provavelmente devido a efeitos estereoquímicos proporcionados pela proximidade de grupo hidroxilo. Estas diferenças encontram-se ilustradas na figura 10 para melhor visualização. A substituição do átomo de fluor por um de hidrogénio na posição 6 parece ter mais efeito no ângulo de torção  $\Psi_2$  no caso da cicloheptogemifloxacina e da sitafloxacina sugerindo que o efeito de retirada de densidade electrónica por parte do fluor se faz sentir, devido à aromaticidade do anel, até ao átomo de cloro. Esta redução da densidade electrónica em torno do átomo de cloro diminui

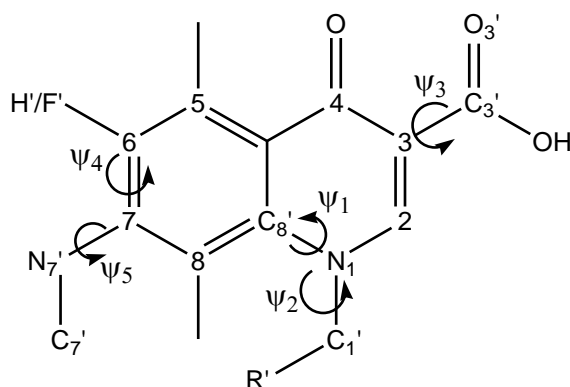
Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

o impedimento estereoquímico do cloro relativamente ao anel ciclo-alifático, diminuindo a torção em torno da ligação N<sub>1</sub>-C<sub>1</sub>'.

Relativamente à torção a nível do grupo carboxílico verifica-se que esta é menor na gatifloxaxina e na sarafloxaxina. A substituição do átomo de flúor por um átomo de hidrogénio não induz grande distorção a nível da ligação adjacente à posição 7 com excepção para a gatifloxaxina.

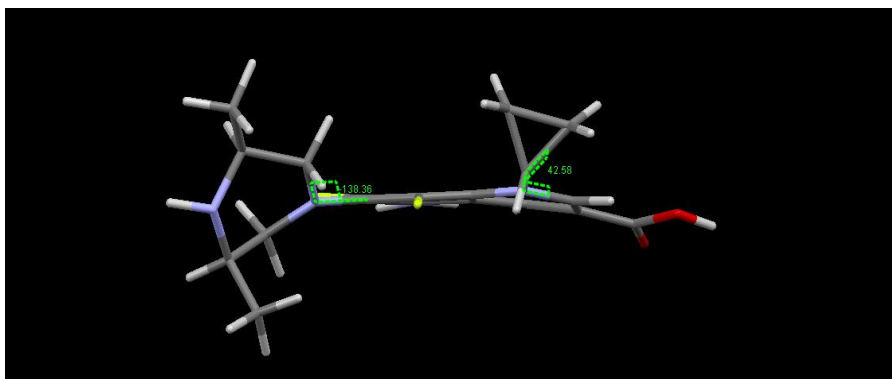
Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

Tabela III – Valores para alguns ângulos de torção das quinolonas estudadas. O ângulo  $\Psi_1^\circ$  refere-se à distorção na ligação C<sub>8</sub>'-N<sub>1</sub> do anel da quinolona;  $\Psi_2^\circ$  refere-se à distorção do substituinte em N<sub>1</sub>;  $\Psi_3^\circ$  refere-se à distorção do grupo carboxílico em C<sub>3</sub>;  $\Psi_4^\circ$  refere-se à distorção em torno da ligação C<sub>6</sub>-C<sub>7</sub> do anel da quinolona devido aos substituintes presentes nesses átomos e  $\Psi_5^\circ$  refere-se à distorção do substituinte em C<sub>7</sub> relativamente ao anel da quinolona, como mostra a figura abaixo.

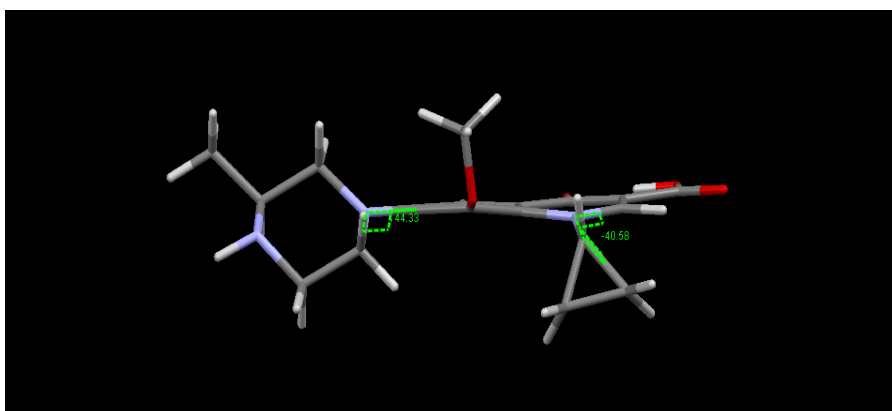


	$\Psi_1^\circ$	$\Psi_2^\circ$	$\Psi_3^\circ$	$\Psi_4^\circ$	$\Psi_5^\circ$
Sparfloxacina (F)	-16,3	42,6	-15,0	5,7	-138,4
Sparfloxacina (H)	-16,3	42,6	-15,0	5,3	-138,4
Cicloheptilgemifloxacina (F)	-28,3	-45,7	-12,1	2,5	-92,3
Cicloheptilgemifloxacina (H)	-26,2	-53,3	-14,0	2,4	-92,3
Gatifloxacina (F)	18,6	-40,6	0,1	-0,9	144,3
Gatifloxacina (H)	18,8	-40,1	-0,2	-3,6	144,1
Sarafloxacina (F)	0,3	90,5	-0,2	-0,4	-163,8
Sarafloxacina (H)	0,2	90,1	-0,2	-0,4	-163,7
Sitafloracina (F)	-25,9	45,2	-9,4	3,6	-121,9
Sitafloracina (H)	-25,9	58,1	-9,4	3,6	-121,6

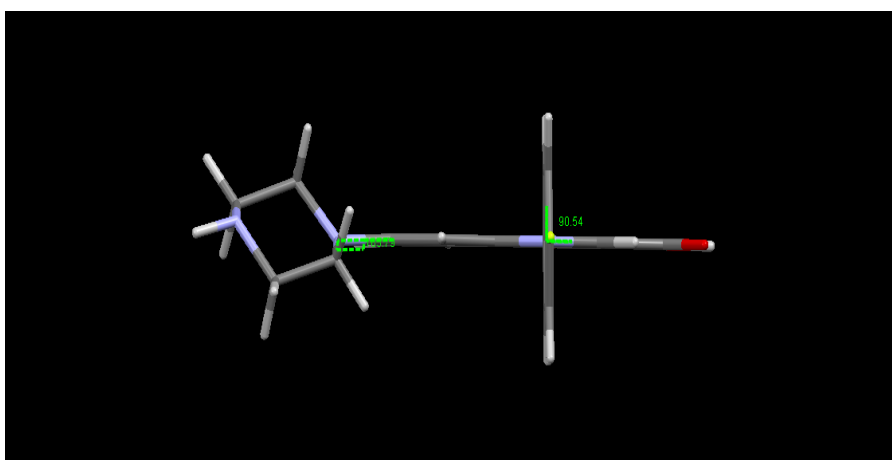
Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.



Valores para os ângulos  $\Psi_5$  e  $\Psi_2$  da sparfloxacina.



Valores para os ângulos  $\Psi_5$  e  $\Psi_2$  da gatifloxacina.



Conformação da sarafloxacina com os valores para os ângulos  $\Psi_5$  e  $\Psi_2$ .

Figura 11 – Estrutura molecular da sparfloxacina, da gatifloxacina e da sarafloxacina mostrando a conformação quando as moléculas se encontram com a anel da quinolona perpendicular ao plano da folha, de modo a evidenciar a posição relativa dos substituintes em N<sub>1</sub> e C<sub>8</sub>.

Finalmente há a referir que as quinolonas estudadas apresentam também uma elevada torção do anel substituído em C7 em relação ao núcleo da quinolona. Esta torção é mais elevada para a sarafloxaxina, provavelmente devido às características desse substituinte. A gatifloxaxina também tem um anel derivado da piperazina nessa posição mas devido à proximidade do grupo hidroxilo, este anel poderá ser forçado a afastar-se e não torcer livremente.

#### 4.4. Polaridades e distribuição de cargas

As cargas dos átomos constituintes de cada molécula e a polaridade a estas associada têm grande importância na ligação fármaco-receptor, o que torna importante a comparação dos momentos dipolares de cada molécula (Tabela II). O momento dipolar de uma molécula representa uma medida quantitativa da polaridade de cada molécula, consequência da desigual distribuição de cargas em torno das mesmas.

Verifica-se que, regra geral, a substituição do átomo de flúor por um átomo de hidrogénio diminui o momento dipolar da molécula, com excepção feita para a cicloheptilgemifloxacina que teve um resultado oposto.

Esta molécula é a única que não possui um anel heterocíclico na posição 7, pelo que as observações sugerem que o efeito de diminuição do momento dipolar, por acção do átomo de flúor, se prende com a capacidade que este poderá exhibir de retirar a densidade electrónica do anel cíclico em C<sub>7</sub>. Quando o anel é heterocíclico, a retirada de densidade electrónica pelo átomo de flúor contribui para uma distribuição mais equitativa de carga, por equilíbrio com os efeitos indutivos dos átomos de azoto.

Para além do momento dipolar, interessa igualmente saber quais as cargas associadas a cada átomo, pois desta forma poder-se-ão apontar locais de ligação preferencial a regiões hidrófilas ou lipófilas do receptor ou verificar quais os locais que poderão mais facilmente induzir polaridade nessas regiões receptoras. Estes valores foram obtidos tendo em conta o facto de as optimizações moleculares terem sido feitas com base num modelo teórico de distribuição no estado gasoso, logo há que ter este factor em conta na análise dos valores

em termos absolutos. No entanto, como os erros que possam estar associados são sistemáticos e horizontais, é perfeitamente legítimo proceder a uma análise relativa dos resultados.

Na Tabela IV encontram-se os valores das cargas para os diferentes átomos de cada uma das moléculas, tanto na sua constituição original como com a substituição por hidrogénio em C<sub>6</sub>.

Através dos dados da Tabela IV é possível verificar que, a influência da troca do átomo de flúor por um de hidrogénio em C<sub>6</sub> tem repercursões nos valores das cargas maioritariamente dos átomos vizinhos (de C<sub>4</sub> a C<sub>8</sub>), sendo as alterações provocadas nos restantes átomos pouco relevantes ou praticamente inexistentes.

Na gatifloxacina verifica-se um menor alcance da imposição de distribuição de carga por parte do flúor.

#### 4.5. Superfícies de isotencial electrónico

No que toca à ligação fármaco-receptor não só as cargas dos átomos e a polaridade da molécula interessam. A forma como a molécula se aproxima do seu receptor implica que haja um processo dinâmico de re-distribuição de carga à sua superfície, o que faz com que haja uma interacção das diferentes distribuições de carga electrónica molecular, para a mesma distância (raio) ao núcleo dos átomos. Isto acontece pois aquando da aproximação do fármaco ao respectivo receptor, um grupo de moléculas formam um “espaço” para permitir a ligação, o que vai então obrigar a haver um re-arranjo desse mesmo local para dar lugar ao estabelecimento de ligações intramoleculares electrostáticas, hidrofóbicas ou hidrofílicas (consoante a natureza da molécula).

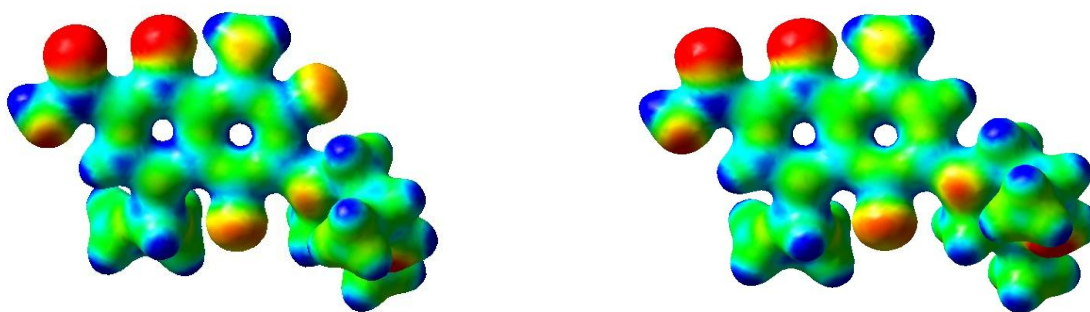
Tabela IV - Distribuição de cargas para as fluorquinolonas em estudo, calculadas pela teoria B3LYP/6-311++G(d,p).

Composto	N <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>4</sub> '	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>8</sub> '
Sparfloxacina (F)	-0,420	0,140	-0,290	0,497	-0,219	0,198	0,311	0,077	0,453	0,134
Sparfloxacina (H)	-0,422	0,146	-0,289	0,497	-0,234	0,265	-0,326	0,138	0,438	0,145
Cicloheptilgemifloxacina (F)	-0,425	0,147	-0,295	0,503	-0,131	-0,186	0,403	-0,130	0,134	0,096
Cicloheptilgemifloxacina (H)	-0,426	0,145	-0,293	0,504	-0,147	-0,120	-0,216	-0,074	0,124	0,109
Sarafloxacina (F)	-0,421	0,146	-0,305	0,511	-0,143	-0,188	0,379	0,155	-0,256	0,173
Sarafloxacina (H)	-0,422	0,146	-0,305	0,512	-0,155	-0,120	-0,234	0,210	-0,268	0,173
Sitaifloxacina (F)	-0,423	0,149	-0,292	0,496	-0,146	-0,192	0,390	0,075	0,082	0,103
Sitaifloxacina (H)	-0,426	0,148	-0,290	0,497	-0,174	-0,113	-0,241	0,139	0,056	0,121
Gatifloxacina (F)	-0,411	0,150	-0,297	0,486	-0,169	-0,195	0,386	0,075	0,409	0,150
Gatifloxacina (H)	-0,407	0,151	-0,308	0,512	-0,181	-0,115	-0,253	0,174	0,267	0,172

Assim, deve ser feita uma análise da distribuição de carga superficial da molécula para a mesma distância ao núcleo dos átomos que a constituem, ou seja, o seu potencial electrostático (ESP) sobre a superfície de densidade electrónica (SCF). Através das superfícies de densidade ESP, é possível visualizar a forma da superfície de densidade electrónica, enquanto que o valor do potencial electrostático num determinado ponto superficial (ESP) é-nos dado por cores. Se o ESP nesse ponto for negativo então essa mesma região é estável e favorável à aproximação de uma carga positiva, enquanto que se nesse ponto a carga for positiva é relativamente instável. Assim, a partir da análise da superfície de densidade de cada molécula é possível interpretar qualitativamente as ligações fármaco-receptor. Também é possível visualizar as distâncias (raio) de cada molécula ao seu núcleo.

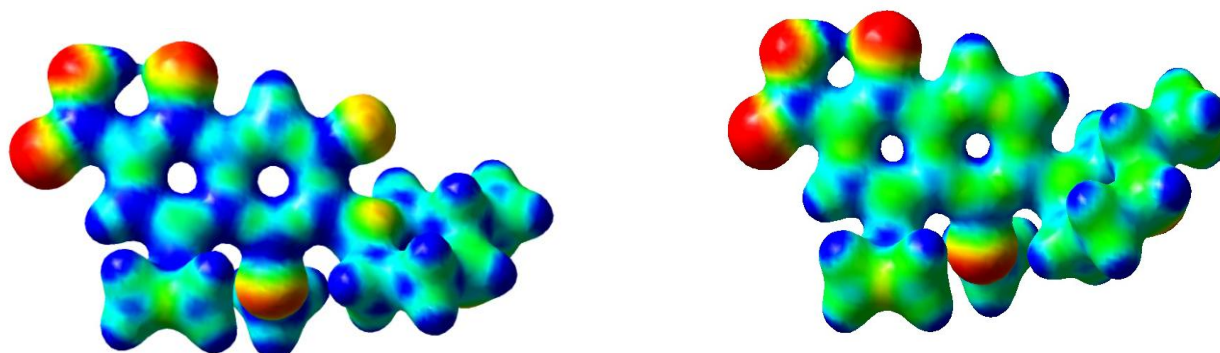
As cores de cada “nuvem” correspondem aos valores da ESP na superfície da densidade electrónica. Assim, as regiões vermelhas com uma “base” amarelada correspondem às regiões mais electronegativas, ou seja, como supracitado, de interacção favorável perante a aproximação de cargas positivas. As regiões azuis e verdes são carregadas positivamente, logo menos estáveis à aproximação de cargas positivas.

#### Sparfloxaxina

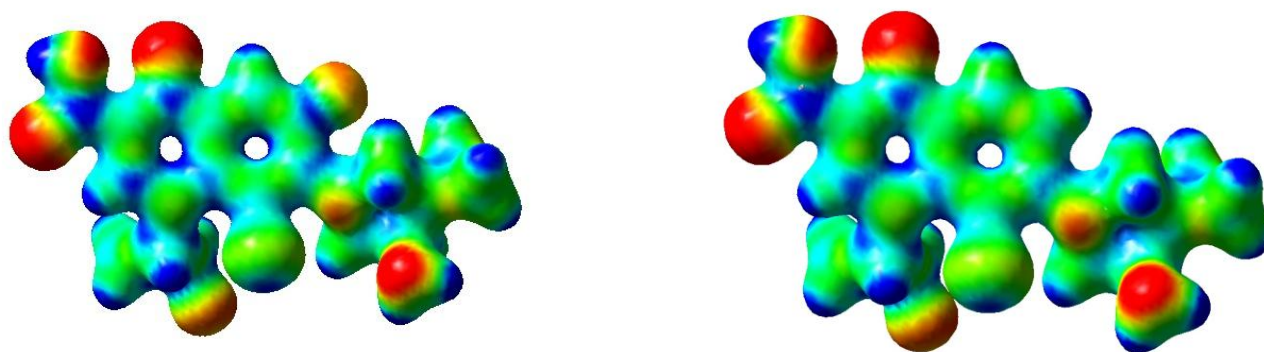


Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

Gatifloxacina



Sitafloxacina



Cicloheptilgemifloxacina

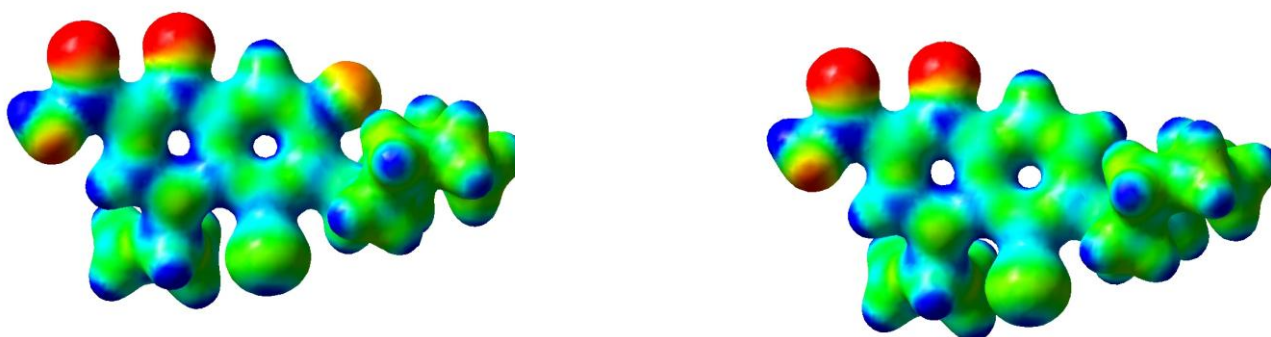


Figura 12 - Potencial electrostático representado em superfícies de densidade electrónica para as moléculas em estudo. As regiões c azul e verde são carregadas positivamente e as regiões com maior densidade electrónica são de cor vermelha e amarela. As superfícies foram todas mapeadas com ESP e a densidade electrónica tirada da densidade SCF, com um isovalor de 0.04.

#### 4.6. Considerações finais

Através deste estudo foi possível estudar o efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de algumas fluoroquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

É possível concluir que, de um modo geral, a presença de um átomo de flúor ou de hidrogénio em C<sub>6</sub> não tem grande influência na conformação espacial da molécula mas sim na sua distribuição de cargas, nos valores dos momentos dipolares e das respectivas cargas associadas a cada átomo.

A presença de um átomo de flúor em C<sub>6</sub> aumenta a potência de acção das quinolonas. Esta variação pode estar ligada ao facto do flúor aumentar a estabilidade de ligação ao receptor por tornar a quinolona mais electronegativa nesta zona. Conclui-se também que o efeito de re-distribuição de densidade electrónica promovido pelo flúor se fez sentir preferencialmente ao nível do anel da quinolona tendo sido a gatifloxacina o exemplo mais notório.

## Bibliografia

Almeida, M.G. and Machado, M.J. (1994). *Fluoroquinolonas*. Medicina Interna Hospital São José. 1(3), pp. 189-192.

Appelbaum, P.C. and Hunter, P.A. (2000). *The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives*. International Journal of Antimicrobial Agents. 16(1), pp. 5-15.

Aradottir, E. and Yogev, R. (1999). *The Use of Fluoroquinolones in Pediatrics – A Reassessment*. Seminars in Pediatric Infectious Diseases. 10(1), pp. 31-37.

Artico M., Mai A., Spardella G., Massa S., Musiu C., Lostia S., Demontis F. and La Colla F. (1999). *Nitroquinolones with broad-spectrum antimycobacterial activity in-vitro*. Bioorganic Medicine Chemistry Lett, 9, pp. 1651-1656.

Bakken, J.S. (2004). *The fluoroquinolones: How long will their utility last?* Scandinavian Journal of Infectious Diseases. 36(2), pp. 85-92.

Ball, P. (2000). *Quinolone generations: natural history or natural selection?* Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 46, pp. 17-24.

Barron, D., Jimenez-Lozano, E., Bailac, S., and Barbosa, J. (2002). *Determination of difloxacin and sarafloxacin in chicken muscle using solid-phase extraction and capillary electrophoresis*. Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences. 767(2), pp. 313-319.

Becke A.D. (1997). Density-functional thermochemistry. V. Systematic optimization of exchange-correlation functional. *The Journal of Chemical Physics*, 107, pp. 8554–8560.

Bertino, J. and Fish, D. (2000). *The Safety Profile of the Fluoroquinolones*. Clinical Therapeutics; 22, pp. 798-817.

Böhm, H., Banner, David, B., Bendels, S., Kansy, M., Kuhn, B., Müller, K., Obst-Sander, U. and Stahl, M. (2004). *Fluorine in Medicinal Chemistry*. ChemBioChem. 5, pp. 637-643.

Carpenter, J.E.; F. Weinhold, (1998). Analysis of the geometry of the hydroxymethyl radical by the “different hybrids for different spins” natural bond orbital procedure, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 169, pp. 41.

Cross, J.T. (2001). *Fluoroquinolones*. Seminars in Pediatric Infectious Diseases. 12(3), pp. 211-223.

Dennington II, R., Keith, T., Millam, J. GaussView, Semichem, Inc., Shawnee Mission, KS. Available from: <<http://www.gaussian.com>>. GaussView 3.0, version 4.1.2, (2007).

Domagala, J.M. (1994). *Structure-Activity and Structure-Side-Effect Relationships for the Quinolone Antibacterials*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 33(4), pp. 685-706.

Domagala, J.M., Hanna, L.D., Heifetz, C.L., Hutt, M.P., Mich, T.F., Sanchez, J.P., and Solomon, M. (1996). *New Structure-Activity-Relationships of the Quinolone Antibacterials Using the Target Enzyme - the Development and Application of a DNA Gyrase Assay*. Journal of Medicinal Chemistry. 29(3), pp. 394-404.

Emami S., Shafiee A. and Foroumadi M. (2005). *Quinolones: Recent Structural and Clinical Developments*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 3, pp. 123-136.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3ª e 4ª gerações.

FDA – Food and Drug Administration [Em linha]. Disponível em <<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/DrugSafetyInformationforHealthcareProfessionals/PublicHealthAdvisories/ucm053103.htm>>. [Consultado em 28/11/2012 a].

FDA - Food and Drug Administration [Em linha]. Disponível em <<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/DrugSafetyInformationforHealthcareProfessionals/PublicHealthAdvisories/ucm052276.htm>>. [Consultado em 30/11/2012 b].

Frisch, M.J., Trucks G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Montgomery, J.A., Vreven, T., Kudin, K. N., Burant, J.C., Millam, J.M., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Barone, V., Mennucci, B., Cossi, M., Scalmani, G., Rega, N., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Klene, M., Li, X., Knox, J.E., Hratchian, H.P., Cross, J.B., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R. E., Yazyev, O., Austin, R. Cammi, C. Pomelli, Ochterski, J.W., Ayala, P.Y., Morokuma, K., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Zakrzewski, V.G., Dapprich, S., Daniels, A.D., Strain, M.C., Farkas, O., Malick, D.K., Rabuck, A.D., Raghavachari, K., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cui, Q., Baboul, A.G., Clifford, S., Cioslowski, J., Stefanov, B.B., Liu, G., Liashenko, A., Piskorz, P., Komaromi, I., Martin, R.L., Fox, D.J., Keith, T., Al-Laham, M.A., Peng, C.Y., Nanayakkara, A., Challacombe, M., Gill, P.M.W., Johnson, B., Chen, W., Wong, M.W., Gonzalez, C., and Pople, J.A., Gaussian, Inc., Pittsburgh PA. Gaussian03, (2003).

Hooper, D.C. (2001). *Mechanisms of Action of Antimicrobials: Focus on Fluoroquinolones*. *Clinical Infectious Diseases*. 32(1), pp. 9-15.

Hooper, D.C. (2002). Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. *The Lancet – Infectious diseases*, 2(9), pp. 530-538.

Lee, C.; Yang, W.; Parr, G.R., (1998). Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical Review B*, 37(2), pp. 785–789.

Lee, M.K. and Kanatani, M.S. (1999). Quinolones: wich generation for wich microbe?. *Western Journal of Medicine*. 170(6), pp. 359-36.

Martinez, M., McDermott, P., and Walker, R. (2006). Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 172(1), pp. 10-28.

Oliphant, C.M., Green, G.M. (2002). *Quinolones: A Comprehensive Review*. American Family Physician. 65(3), pp. 455-464.

Purser, S., Moore, P.R., Swallow, S. and Gouverneur, V. (2008). *Fluorine in medicinal chemistry*. Chemical Society Reviews. 37(2), pp. 320-330.

Sousa, J.C. (2006). *Manual de Antibióticos Antibacterianos*. Porto, Edições Universidade Fernando Pessoa.

Stahlmann, R. (2002). *Clinical toxicological aspects of fluoroquinolones*. Toxicology Letters. 127, pp. 269-277.

Van Bambeke, F., Michot, J.M., Van Eldere, J., and Tulkens, P.M. (2005). *Quinolones in 2005: an update*. Clinical Microbiology and Infection. 11(4), pp. 256-280.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das Fluorquinolonas de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações.

Walker, R.C.; *The fluoroquinolones*. Symposium on Antimicrobial Agents-Part XIII, 1999. 74, pp. 1030-1037