

Miguel de Menezes Nogueira Rosas Azevedo

**Efeito do substituinte “-F” nas propriedades
electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas.**



Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2013

Porto, 2013

Miguel de Menezes Nogueira Rosas Azevedo

**Efeito do substituinte“-F” nas propriedades
electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas.**



Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2013

Miguel de Menezes Nogueira Rosas Azevedo

**Efeito do substituinte“-F” nas propriedades
electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas.**



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

Sumário

Este estudo incide sobre as características que a presença do ião flúor em moléculas concede. Mais concretamente em fluoroquinolonas, antibióticos que cada vez são mais utilizados. Fez-se uma análise de vários parâmetros para obtermos informação sobre a interação fármaco-receptor nas fluoroquinolonas. Sendo para isso utilizadas técnicas de caracterização química computacional para conseguirmos caracterizar eletronicamente e estruturalmente (3D) as fluoroquinolonas em complemento aos métodos semi-empíricos utilizados inicialmente.

Como é sabido, a especificidade e a afinidade para o sitio alvo, é essencial para eficácia de um fármaco. As fluoroquinolonas sofreram um grande desenvolvimento desde a primeira quinolona sintetizada em 1958, sendo que desde ai foram sintetizadas inúmeros derivados da mesma. Este facto deve-se a serem facilmente manipuladas, derivando fármacos altamente potentes, espectro alargado, factores farmacocinéticos otimizados e efeitos adversos reduzidos.

A grande alteração farmacológica para o aumento do interesse neste grupo, foi a substituição em C₆ de um átomo de flúor em vez de um de hidrogénio.

Para obtermos as informações sobre a influência do ião flúor sobre as propriedades estruturais e electrónicas das fluoroquinolonas, foi feita uma comparação entre a fluoroquinolona com flúor em C₆ e com hidrogénio em C₆. As quatro fluoroquinolonas presentes neste estudo foram: ciprofloxacina, moxiflocacina, sparfloxacina e pefloxacina. As informações foram obtidas por programas informáticos de mecânica quântica e molecular.

Concluiu-se que a presença de substituinte flúor não modificava de forma significativa a geometria das moléculas mas sim a distribuição da carga no carbono vicinal e nos átomos em posição alfa, beta e gama relativamente a este. Esta modificação da distribuição electrónica pode condicionar a ligação do fármaco ao receptor, modificando a sua actividade farmacológica.

Palavras chave: flúor, fluoroquinolonas, quinolonas, química computacional, mecânica quântica, mecânica molecular, optimização geométrica, optimização electrónica, ciprofloxacina, moxifloxacina, sparfloxacina e pefloxacina.

Abstract

This study focuses on the characteristics that the presence of fluoride ion in molecules grants. More specifically in fluoroquinolone antibiotics that are increasingly being used. The analysis of various parameters allowed getting information on the interaction pharmacological receptor on fluoroquinolones. For this characterization were used techniques of computational chemistry to get electronically and structurally characterized (3D) fluoroquinolones in addition to semi-empirical methods used initially.

As is known, specificity and affinity for the target site, is essential to the effectiveness of a drug. Fluoroquinolones have suffered a great development since the first quinolone synthesized in 1958, and since then numerous derivatives were synthesized in the same. This is due to be easily manipulated by deriving drugs that are highly potent, broad spectrum, optimized pharmacokinetic factors and adverse effects reduced.

The pharmacologically significant change to the increased interest in this group was the substitution of C₆ of a fluorine atom instead of hydrogen.

To get information about the influence of fluoride ion on the electronic and structural properties of the fluoroquinolones, a comparison was made between the fluoroquinolone fluorine with hydrogen at C₆ and C₆. The four fluoroquinolones in this study were: ciprofloxacin, moxifloxacin, sparfloxacin and pefloxacin. Information has been obtained by computer programs of quantum mechanics and molecular.

It was concluded that the presence of substituent fluorine did not change significantly the geometry of the molecules but the load distribution on vicinal carbon atoms and the alpha, beta and gamma regarding this. This modification of the electronic distribution may affect the binding of the drug to the receptor, changing its pharmacological activity.

Keywords: fluoride, fluoroquinolones, quinolones, computational chemistry, quantum mechanics, molecular mechanics, geometric optimization, electronic optimization, ciprofloxacin, moxifloxacin, sparfloxacin and pefloxacin.

Agradecimentos

Gostaria de aproveitar este espaço para agradecer a todos que contribuíram para a minha formação, tanto a nível pessoal como a nível profissional.

Um agradecimento especial para a minha família e amigos por todo o apoio que me deram para ultrapassar esta etapa da minha vida, sem vocês não teria conseguido!

Quero agradecer à Professora Doutora Lígia Gomes pela seu esforço, pela sua disponibilidade constante e por toda aprendizagem que me proporcionou.

Glossário

Siglas

AUC- Área sobre a curva tempo-concentração

DST- Doenças Sexualmente Transmissíveis

ECG- Electrocefalograma

FDA- Food and Drug Administration

IDSA- Doenças infecciosas da Sociedade Americana

NBO- Natural bond orbital

SCF-Self Consisting Field

Índice

Índice de Figuras	IV
Índice de Tabelas	VI
I. Introdução	1
1.1 Breve e resenha história	2
1.2 Compostos em estudo	7
II. Características farmacológicas da fluoroquinolonas	10
2.1 Acção farmacológica e eficácia terapêutica	11
2.2 Efeitos secundários	13
2.3 Interações medicamentosas	14
2.4 Farmacocinética	15
2.4.1 Absorção	15
2.4.2 Distribuição	16
2.4.3 Metabolização e eliminação	16
2.4.4 Farmacocinética dos compostos em estudo	18
2.4.4.1 Ciprofloxacina	18
2.4.4.2 Moxiflocacina	18
2.4.4.3 Pefloxacina e Sparfloxacina	19
2.5 Relação estrutura-actividade	20
2.6 Mecanismo de acção	23
III. Objectivos e Métodos	26
3. Considerações gerais	27
3.1 Métodos computacionais: breve descrição	28
3.1.1 Calculo de energia molecular por <i>ab-initio</i>	28
3.1.2 O método SCF	29
3.1.3 Energias obtidas	30

3.1.4 As bases para as funcionais	31
3.1.5 Teoria de DFT (Density Funtional Therory)	31
3.1.6 Superfícies de energia	32
IV. Resultados e Discussão	34
4. Considerações gerais	35
4.1 Optimização geométrica	37
4.1.1 Análise das frequências vibracionais	42
4.1.2 Análise conformacional	45
4.2 Aspectos electrónicos	49
4.2.1 Momento dipolar	49
4.2.2 Distribuição de cargas NPA (Natural Population Analysis)	49
4.2.3 Superfícies de isopotencial electrónico	50
Bibliografia	54
Anexos	58

Índice de Figuras

Figura 1 – Ácido Nalixidico	3
Figura 2 – Estrutura química geral para as naftaridonas e quinolonas	3
Figura 3 – Norfloxacin	4
Figura 4 – Evolução das quinolonas desde o ácido nalixidico	7
Figura 5 – Estrutura química das quinolonas estudadas	9
Figura 6 – Relação estrutura-actividade para as fluoroquinolonas	22
Figura 7 – Possíveis modelos de ligação ao receptor	23
Figura 8 – Farmacóforo das fluoroquinolonas	36
Figura 9 – Representação esquemática das fluoroquinolonas usadas neste estudo	36
Figura 10 – Conformações que podem ser assumidas pelo grupo carboxílico das Fluoroquinolonas	37
Figura 11.1 -Geometria molecular da moxafloxacin, da ciprofloxacina. Estas geometrias foram obtidas por optimização para uma energia mínima com o nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p). As estruturas à direita são as correspondentes com diferença em C ₆ , que possuem um hidrogénio em vez do flúor.	39
Figura 11.2 - Geometrias moleculares da sparfloxacin e da pefloxacin. Estas geometrias foram obtidas por optimização para uma energia mínima com o nível de teoriaB3LYP/6-311G++(d,p). A estrutura à direita é a correspondente com diferença em C ₆ , que possui um hidrogénio em vez do flúor.	40
Figura 12 – Espectro infra-vermelho da sparfloxacin com a conformação B	43
Figura 13 – Espectro infra-vermelho da sparfloxacin com a conformação A	43
Figura 14 - Estrutura molécula da moxafloxacin, sparfloxacin e da pefloxacin, mostrando a conformação quando as moléculas se encontram com o anel da quinolona	

perpendicular ao plano da folha, de modo a evidenciar a posição relativa dos substituintes em N₁ e C₈. 47

Figura **15.1** – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade electrónica para as moléculas em estudo. As regiões com 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. Está representada a ciprofloxacina de F (em cima à esquerda), a moxifloxacina de F (no meio à esquerda) e a sparfloxacina de F (em baixo à esquerda). As estruturas da direitas correspondem as mesmas da esquerda mas com H em C₆. 51

Figura **15.2** – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade electrónica para as moléculas em estudo. As regiões com 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. Na Figura está representada a pefloxacina de F (à esquerda) e de F (à direita). 52

Índice de tabelas

Tabela 1 – Classificação das quinolonas com base nas suas gerações	6
Tabela 2 – Fluroquinolonas existentes no mercado português	8
Tabela 3 – Principais interações medicamentosas das fluoroquinolonas	14
Tabela 4 – Principais parâmetros farmacocinéticos de algumas fluoroquinolonas	17
Tabela 5 – Energia e momento dipolar para os compostos em estudo	40
Tabela 6 – Tipo de vibração e intensidade para as diferentes ligações das Fluoroquinolonas estudadas	42
Tabela 7 - Intensidade das ligações estudadas nas duas conformações das Fluoroquinolonas	44
Tabela 8 - Valores para os ângulos de torção das quinolonas estudadas. O ângulo θ_1 refere-se à uma distorção em N_1 ; θ_2 refere-se à distorção em torno da ligação C_6-C_7 do anel da quinolona devido aos substituintes presentes nesses átomos e θ_3 refere-se à distorção do substituinte em C_7 relativamente ao anel da quinolona, como mostra a figura abaixo.	46
Tabela 9 – Distribuição de cargas para as fluoroquinolonas em estudo, calculadas pela teoria B3LYP/6-311++G(d,p)	53

I.INTRODUÇÃO

1.Introdução

As fluoroquinolonas são um grupo farmacológico pertencente aos antibióticos (quinolonas) sintéticos. As primeiras foram utilizadas como antimicrobianos de acção limitada, de uso oral, com espectro predominantemente para as bactérias Gram-negativas e com indicações relativamente restritas, embora pudessem, em alguns casos, ser usadas por via intravenosa com indicações extensivas, por exemplo para o tratamento de infecções causadas por agentes patogéneos alocados na maior parte do tecidos e fluidos do corpo. Todavia, as quinolonas evoluíram substancialmente nas últimas décadas. Esta evolução aconteceu fundamentalmente devido ao investimento feito, conducente ao desenvolvimento de novas moléculas com diferentes substituintes na estrutura mãe, criando-se fármacos com maior actividade, com uma farmacocinética melhorada, com menos efeitos secundários e maior tolerância. (Ball, 2000). Até à última década, as fluoroquinolonas foram consideradas o grupo antimicrobiano com maior potencial terapêutico devido a serem antibióticos sintéticos e conseqüentemente, serem facilmente manipuláveis. As suas propriedades em termos da relação estrutura/actividade podiam ser estudadas de modo a gerarem fármacos mais eficazes e com menos efeitos secundários. Actualmente a pesquisa sobre estes fármacos tem vindo a diminuir, principalmente devido ao risco de ocorrência de alguns efeitos secundários. Assim estas substâncias são actualmente fármacos de segunda linha em tratamento do ambulatório (Domagala, 1994).

1.1. Breve resenha história

Em 1958 foi descoberta acidentalmente um produto secundário da síntese da cloroquina, a 7-cloroquinolona, que possuía propriedades bactericidas (Applebaum e Hunter, 2000). Em 1962 foi lançado a primeira quinolona, o ácido nalixídico, Figura 1. O ácido nalixídico é um derivado do núcleo da naftaridona que possui dois heteroátomos (azotos) nas posições C₁ e C₈. O nome quinolona reserva-se para compostos que possuam um só átomo de azoto na posição 1, como o explicitado na Figura 2.

O ácido nalixídico possui um espectro de acção estreito, baixas concentrações nos tecidos e soro, falta de actividade contra *coccus spp.* gram-positivo, *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias anaeróbias, portanto o seu uso era limitado as infecções do tracto

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

urinário não complicadas e nunca foi um agente útil para infecções sistémicas (Bakken, 2004).

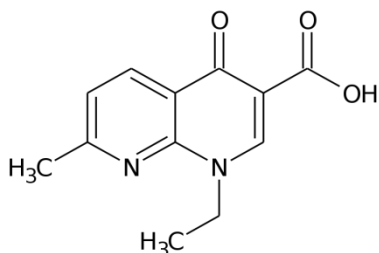
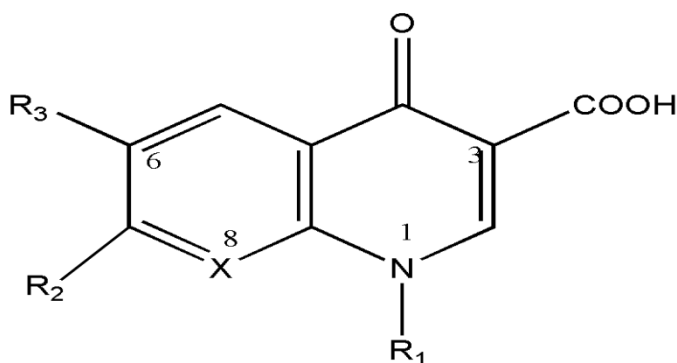


Figura 1, Ácido nalixídico, primeira quinolona sintetizada.



X=N; naftaridona
X= CH; quinolona

Figura 2, Estrutura química geral para as naftaridonas e quinolonas.

Na década seguinte (1970) foram sintetizados diversos derivados das quinolonas como o ácido oxolínico, a cinoxacina, o ácido piromidíco, entre outros. Estes agentes demonstraram uma melhoria na actividade contra bactérias Gram-negativas mas possuíam pouca actividade contra bactérias Gram-positivas. O avanço seguinte aconteceu em 1980, com a síntese da norfloxacin, a primeira fluoroquinolona, Figura nº3. Este avanço passou pela inserção de um átomo de fluor na posição 6 do anel cíclico, o que levou a um aumento drástico da actividade anti bacteriana. Estima-se que durante as duas seguintes décadas tenham sido sintetizados mais de 10,000 análogos do ácido nalixídico.

Esta grande descoberta levou a que as fluoroquinolonas sejam o maior grupo de antibióticos sintéticos com actividade para *Enterobacteriaceae* e bactérias oportunistas tais como *Pseudomonas aeruginosa*, patogéneos Gram-positivos, incluindo *streptococcus sp.* e *staphylococcus sp.*(Bakken, 2004); Figura 4.

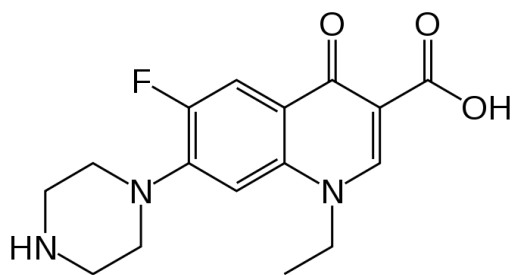


Figura 3- Norfloxacin. Primeira fluoroquinolona sintetizada

As quinolonas podem ser classificadas com base na sua estrutura química, nas suas propriedades ou gerações. Geralmente, as quinolonas estão divididas em 4 gerações como mostra a Tabela 1. A primeira geração possui compostos com actividade moderada contra bactérias Gram-negativas, não possui praticamente acção contra bactérias Gram-positivas, patogêneos atípicos e anaeróbios. Apresenta uma distribuição sistémica pobre. O seu uso destina-se ao tratamento de infecções urinárias não complicadas. Esta geração possui um tempo de semi-vida curto, entre 6 a 7 horas, o que obriga a quatro tomas diárias e conseqüente maior desenvolvimento de resistência.

A segunda geração conta com a primeira fluoroquinolona, a norfloxacin, e possui maior actividade antibacteriana. Os compostos pertencentes a este grupo apresentam actividade aumentada contra bacilos Gram-negativos como *Enterobacteriaceae* e *P. aeruginosa* e actividade moderada contra espécies de *Staphylococcus*. O seu uso no tratamento de infecções urinárias não complicadas está limitado devido à fraca penetração nos tecidos por parte dos compostos pertencentes à classe I. Por outro lado a ciprofloxacina e a ofloxacina também pertencentes a segunda classe, possuem boa penetração tecidual, excelente penetração intracelular tanto em macrófagos como em leucócitos polimorfonucleares. Devido a este facto, gerou-se um aumento na actividade destes compostos contra *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae*. A ciprofloxacina é uma das fluoroquinolonas com maior actividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e a única neste grupo com actividade para esta bactéria, além de possuir excelente actividade contra bactérias Gram-negativas, com actividade antimicrobiana igual ou superior à ofloxacina. Embora este grupo de fármacos possua um espectro alargado contra bactérias Gram-negativas, possuem uma actividade inferior contra *Streptococcus pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, pelo que não devem ser empregues em casos de pneumonia adquirida na comunidade quando a suspeita de *S.pneumoniae* é alta. A ciprofloxacina e

ofloxacin são eficazes no tratamento de infecções complicadas do tracto urinário por microorganismo susceptíveis, infecções do tracto respiratório por bactérias Gram-negativas, infecções da pele ou de tecidos moles. Na osteomielite o tratamento é exclusivo por ciprofloxacina.

A grande diferença das fluoroquinolonas de terceira geração para as anteriores reside na existência de fluoroquinolonas com acção para bactérias Gram-positivas, surgindo assim a sparfloxacin, levofloxacin e a grepafloxacin. Estas fluoroquinolonas apresentam actividade contra bactérias Gram-positivas tais como *Streptococcus pneumoniae*, incluindo a estirpes penicilina resistentes e contra os patogéneos atípicos mais comuns como *L. pneumophila*, *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*. Este aumento do espectro de acção levou ao melhoramento do uso clínico das fluoroquinolonas no tratamento da pneumonia adquirida na comunidade, sendo esta geração e a quarta, em conjunto com os macrólidos e doxiciclina, pertencente ao guia para o tratamento de doenças infecciosas da Sociedade Americana (IDSA) para pacientes não hospitalizados no controle de pneumonia adquirida na comunidade. Estes agentes são a primeira escolha para casos de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina. Esta geração também possui grande actividade contra *H. influenzae* e *M. catarrhalis* mas geralmente são menos activos contra outras espécies Gram-negativas, especialmente *P. aeruginosa* quando comparadas com a ciprofloxacina. Todas as fluoroquinolonas de 3ª geração têm uma dose única diária, devido aos seus tempos de semi-vida longos. A grepafloxacin e sparfloxacin são usadas no tratamento de pneumonia adquirida na comunidade e bronquite crónica bacteriana. A levofloxacin é usada em infecções respiratórias, urinárias e da pele.

As fluoroquinolonas de 4ª geração como a trovafloxacin possuem a actividade das fluoroquinolonas primordiais mais actividade significativa contra microorganismos anaeróbios. A trovafloxacin possui uma actividade maior contra *S.pneumoniae* e *S. aureus* e organismos anaeróbios tal como *B. fragilis*, *Prevotella sp*, *Peptostreptococcus sp* do que a ciprofloxacina. A trovafloxacin é geralmente menos activa do que a ciprofloxacina contra bactérias Gram-negativas. Possui um tempo de semi-vida longo, cerca de 12 horas e portanto só é necessário uma toma diária. As indicações terapêuticas são: infecções séricas associadas a *S.pneumoniae* penicilina e cefalosporina resistentes, pneumonia nosocomial incluindo pneumonia aspirativa quando a terapia antimicrobial for comprometida e o mesmo acontece para infecções intra-abdominais (Lee and

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

Kanatani, 1999). As principais Fluoroquinolonas actualmente existentes no mercado encontram-se resumidas na Tabela 2.

Tabela 1 – Classificação das quinolonas com base nas gerações

Geração	Fluoroquinolonas	Características
1^a	Ácido nalidíxico Ácido oxolínico Cinoxacina	Moderada actividade contra espécies gram-negativas, incluindo <i>Enterobacteriaceae</i> ; Distribuição sistémica baixa; Acção predominantemente em infecções no aparelho urinário não complicadas, bactérias atípicas (<i>Legionella spp</i>) e contra anaeróbios.
2^a Classe I	Norfloxacina Lomefloxacina Enoxacina	Actividade contra <i>Enterobacteriaceae</i> ; Melhoramento da actividade contra espécies Gram-negativas; alguma acção contra gram-positivas mas muito limitada; Acção predominantemente em infecções no aparelho urinário não complicadas;
2^a Classe II	Ciprofloxacina Ofloxacina	Concentrações altas no soro, tecidos e intracelular comparando com agentes da 1 ^a geração; Actividade contra patógenos atípicos; Acção em infecções do tracto urinário complicadas, infecções gastrointestinais como gastroenterites severas, doenças sexualmente transmissíveis.
3^a	Levofloxacina Sparfloxacina Orbifloxacina Greprofloxacina Moxifloxacina	Actividade contra espécies Gram-negativas igual à 2 ^a geração, excepto contra <i>P. aureginosa</i> que é inferior; Boa actividade contra espécies Gram-positivas e espécies anaeróbias; Actividade contra estirpes resistentes à 2 ^a geração; Acções similares às da 2 ^a geração, com maior destaque nas infecções do aparelho respiratório como pneumonia adquirida na comunidade em pacientes com factores de risco
4^a	Trovafloxacina Gemifloxacina Sitofloxacina Sarafloxacina	Actividade contra espécies Gram-negativas igual à 2 ^a geração; Excelente actividade contra espécies Gram-positivas, espécies anaeróbias e estirpes resistentes. Acção similar às da 2 ^a geração, com excelentes resultados nas infecções do aparelho respiratório; Acção em infecções intra-abdominal.

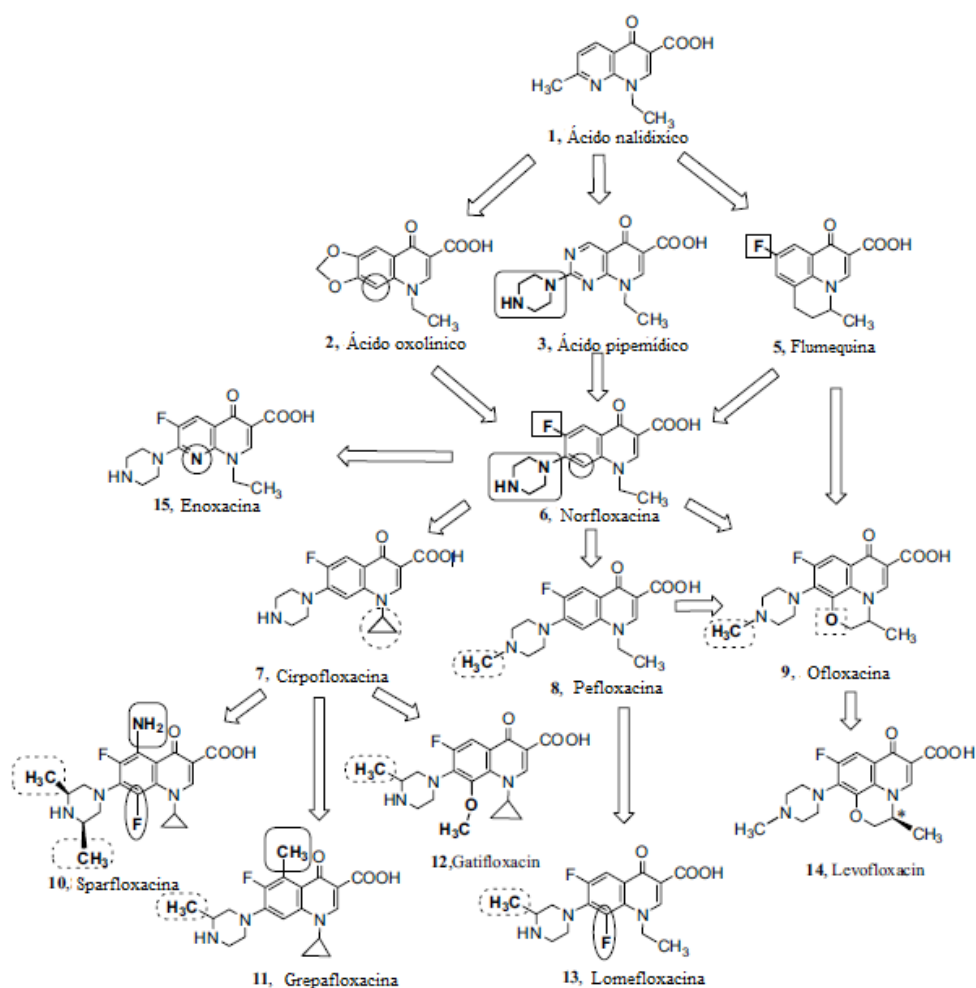


Figura 4 - Evolução das quinolonas desde o ácido nalidixico

Este estudo incidirá sobre quatro fluoroquinolonas, nomeadamente a moxifloxacin, a ciprofloxacina, a sparfloxacin, e a pefloxacin, Figura 5.

1.2 Compostos em estudo

Neste projecto procedeu-se à utilização das ferramentas baseadas em mecânica quântica a nível molecular para efectuar a análise diferencial entre as estruturas fluoro-substituídas e hidrogéno-substituídas, em estado gasoso, de modo a avaliar o efeito do substituinte “-F” no anel quinolónico, nomeadamente no carbono C₆, tanto a nível electrónico (distribuição da densidade de carga, momentos dipolares) como estrutural (mudança de conformação da quinolona).

O objetivo é, 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

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

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 quinolonas e fluoroquinolonas. Executou-se ainda uma comparação das superfícies de potencial isoelectrónicas com base nas estruturas optimizadas.

Por fim, fez-se uma análise em termos de frequências vibratórias de alguns grupos funcionais.

Tabela 2 – Fluoroquinolonas existentes no mercado Português, sem nome comercial por principio activo e título de autorização

Substância Activa	Dosagem (mg)	Nome comercial	Titular	Data de autorização(AIM)
Ciprofloxacina	250/500/750	Ciplox®	Laboratórios Atral,S.A.	08 de Fevereiro de 1995
		Ciproxina®	Bayer PortugalS.A.	23 de Agosto de 1988
Levofloxacina	250/500	Seltrix®	Well Pharma	30 de Março de 2010
		Tavanic®	S.A.Sanofi - Produtos Farmacêuticos, Lda.	
Lomefloxacina	400	Maxaquin®	Laboratórios Pfizer, Lda.	13 de Dezembro de 1990
Moxifloxacina	400	Proflox®	Bialfar - Produtos Farmacêuticos, S.A.	25 de Fevereiro de 2000
		Avelox®	BayHealth, Lda	
Norfloxacina	400	Uroflox®	Bialfar – Produtos Farmacêuticos, S.A.	09 de Dezembro de 1985
Ofloxacina	200/400	Bioquil®	Laboratórios Atral, S.A.	27 de Outubro de 2003
Prulifloxacina	600	Keraflox®	Angelini Farmacêutica, Lda.	23 de Maio de 2005

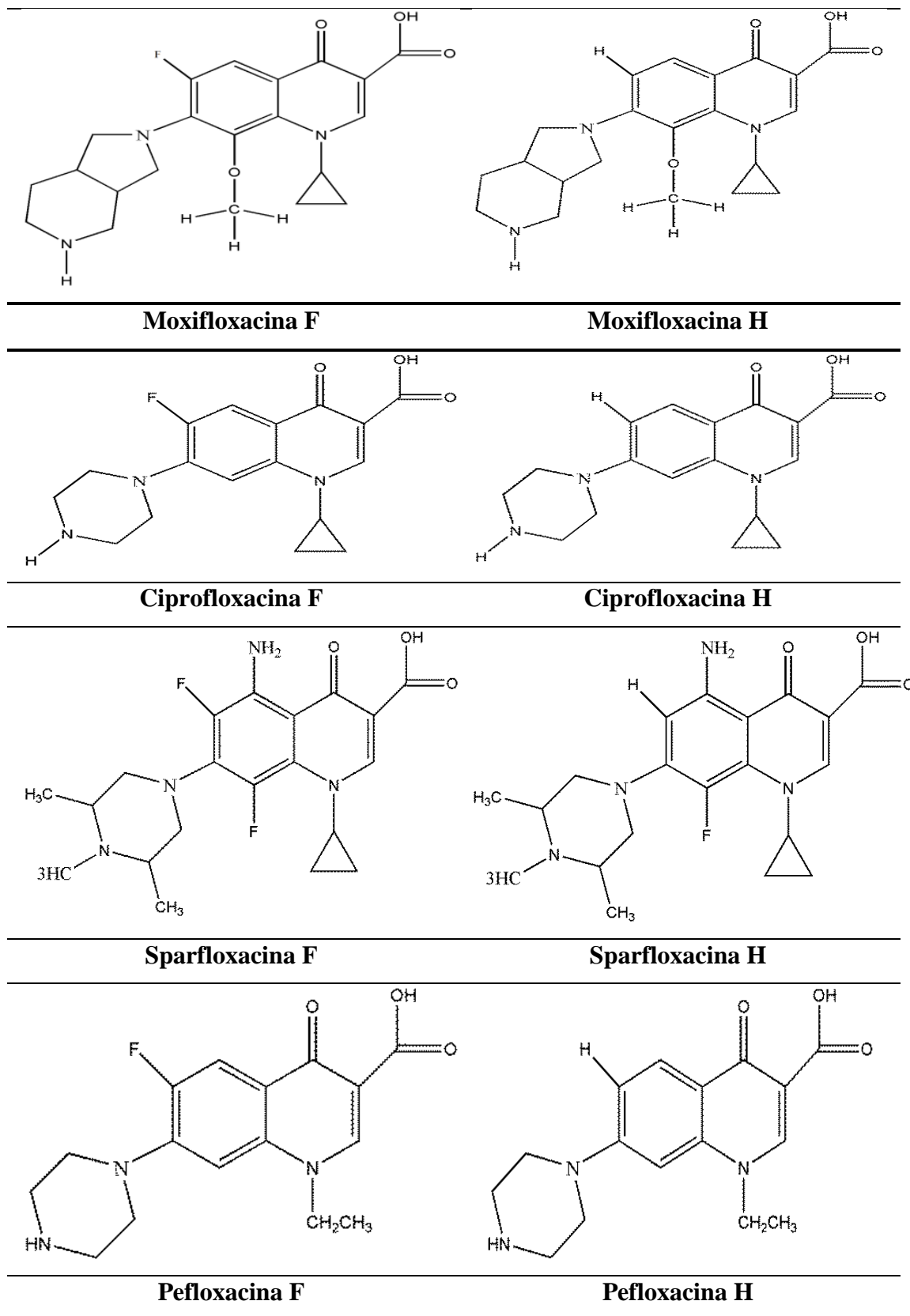


Figura 5- Estrutura química das quinolonas estudadas neste trabalho.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

II. CARACTERÍSTICAS FARMACOLÓGICAS DAS FLUOROQUINOLONAS

2.1 Acção farmacológica e eficácia terapêutica

A acção farmacológica pode ser discutida de acordo com o local onde ocorre a infecção ou de acordo com o agente infeccioso. Nesta apresentação optou-se pela primeira.

Tracto genitourinário. As infecções do tracto genitourinário, podem ser tratadas por fluoroquinolonas devido ao seu largo espectro de acção sobre bactérias Gram-negativas e às elevadas concentrações de composto activo que são atingidas nos aparelhos urinários e genital.

Nas infecções urinárias não complicadas causadas por *Escherichia coli*, o tratamento é feito em regimes posológicos de três a dez dias. As fluoroquinolonas conseguem atingir a mesma eficácia terapêutica que co-trimoxazol. Em caso de infecções do tracto urinárias complicadas, como uropatias obstrutivas, ou em pacientes que possuam cálculos biliares, microorganismos resistentes Gram-negativos e Gram-positivos, infecções relacionadas com cateter, as fluoroquinolonas que estão indicadas são a ciprofloxacina, a ofloxacina, a levofloxacina pois apresentam elevadas concentrações renais e clearance renal elevada. No caso da ciprofloxacina ficou provado que é mais eficaz que o co-trimoxazol e do que os aminoglicosídeos no tratamento de infecções urinárias complicadas (Ball, 2000). Em infecções não complicadas de pielonefrite, a norfloxacina ou a ofloxacina são tão eficazes no seu tratamento como co-trimoxazol, numa posologia oral por um período de sete a dez dias. Em infecções da mesma origem mais complicadas, a levofloxacina e a ciprofloxacina mostraram eficácia semelhante no tratamento de mulheres não grávidas.

As quinolonas são eficazes no tratamento de prostatite devido à sua fácil penetração no tecido prostático. A taxa de eficácia da ciprofloxacina, norfloxacina, levofloxacina e ofloxacina neste tipo de infecções varia entre 67 a 91 por cento num regime de 4 a 6 semanas. Quando há falha desta, está geralmente associado a regimes de tratamento mais curtos e a microorganismos menos susceptíveis como *P. aeruginosa* e espécies de *Enterococcus sp.* A levofloxacina é um excelente agente de primeira linha para o tratamento de prostatite, a ciprofloxacina deve ser reservada para pacientes com microorganismos Gram-negativos resistentes, devido a sua actividade superior contra *P. aeruginosa* e *Enterococcus sp.*

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

Aparelho respiratório. Nas doenças respiratórias, como sinusite bacteriana ficou provado que a gatifloxacina, moxifloxacina, sparfloxacina e levofloxacina são eficazes no seu tratamento em comparação com a amoxicilina mais ácido clavulânico e claritromicina. No entanto, acredita-se que as fluoroquinolonas não devem ser usadas como agente primários no tratamento de sinusite bacteriana devido ao potencial desenvolvimento de resistências bacterianas.

O uso da ciprofloxacina para bronquite provocada por *S. pneumoniae* e *P. aeruginosa* resultou em tratamento clínico falhado e no desenvolvimento de resistências bacterianas. Em geral, a levofloxacina, a sparfloxacina, a ofloxacina, a gatifloxacina e a moxifloxacina são comparados com amoxicilina em termos de eficácia terapêutica.

A pneumonia adquirida na comunidade é uma das doenças com maior incidência. Mesmo com a terapia ideal, as taxas de mortalidade aproximam-se de 14 por cento em doentes hospitalizados e menos de 1 por cento em pacientes não hospitalizados. Os patogéneos mais comuns que provocam esta infecção são *S. pneumoniae* e *M. pneumoniae*. A escolha do antibiótico em pacientes não hospitalizados são os macrólidos, doxiciclina e as fluoroquinolonas; nos pacientes hospitalizados os aconselhados são fluoroquinolonas e penicillinas de espectro alargado, macrólidos, aminoglicosídeos, metronidazole entre outros. Em casos de pacientes hospitalizados nos cuidados intensivos aconselha-se o uso de uma fluoroquinolona ou de um macrólido uma cefalosporina de espectro alargado. No tratamento de pneumonia atípica os macrólidos são equivalentes às fluoroquinolonas e possuem um custo menor. As quinolonas são óptimos agentes contra patogéneos atípicos quando há suspeita de pneumonia adquirida na comunidade.

As fluoroquinolonas mais atractivas em termos de eficácia contra *pneumococci* são a moxifloxacina e a gatifloxacina mas devem ser reservadas para o tratamento de infecções por patogéneos atípicos ou pneumonias que põe em risco a vida dos doentes.

DST. Nas doenças sexualmente transmissíveis, a ciprofloxacina ou ofloxacina são uma alternativa para a terapia em casos de alergia à penicilina. A ofloxacina ou sparfloxacina são tão eficazes como doxiciclina no tratamento de infecções por *C.trachomatis*.

Tracto gastro-intestinal. Nas gastroenterites, a ciprofloxacina e a ofloxacina são agentes de eleição no tratamento da febre tifoide.

A norfloxacin e a ciprofloxicina são comparáveis ao co-trimoxazol no tratamento da diarreia do viajante, causada por espécies de *Shigella*, *Campylobacter jejuni* ou *E.coli* (Ball, 2000), (Van Bambeke et al., 2005)

2.2. Efeitos Secundários

Em geral as quinolonas são bem toleradas e são relativamente seguras. Os efeitos adversos mais frequentes são a nível gastrointestinal e a nível do sistema nervoso central. Estes efeitos que ocorrem entre, 2 a 20 %, dependendo da quinolona (Ball, 1999).

Na pele e anexos podem ser observadas erupções cutâneas tipo ("rash") com uma incidência de frequência que varia entre $\geq 0,1\% < 1\%$.

No sistema cardiovascular podem ocorrer flebites e tromboflebites. Em algumas quinolonas tem sido registado alterações no intervalo QT do ECG. No caso de agentes como sparfloxacina e grepofloxacina, estas alterações são dose independente e para a sparfloxacina, este efeito é dose-dependente. Estes agentes não podem ser usados em doentes com alterações no espaço QT ou em doentes com terapêutica que prolongue o intervalo QT (Osswald e Guimarães, 2001).

A nível do sistema digestivo podem ocorrer vômitos, dispepsia, bem com alteração dos parâmetros bioquímicos das provas da função hepática como o aumento da fosfatase alcalina e bilirrubinémia. A anorexia e flatulência, podem estar associadas aos efeitos da utilização das fluorquinolonas também.

No sistema sanguíneo e linfático pode ser observado eosinofilia e leucopenia.

Alterações metabólicas e nutricionais como o aumento da creatinina e aumento da ureia, também podem ser devidas ao uso das fluoroquinolonas.

No sistema músculo-esquelético podem ocorrer artralguas (dores nas articulações). As quinolonas poderão produzir erosões cartilagínosas nas articulações que suportam a maior parte do peso. Este efeito secundário é raro mas devido a sua gravidade não é recomendado o uso de quinolonas me crianças, adultos jovens (até aos 16 anos),

grávidas e lactentes. Também é importante constatar que este efeito é reversível (Osswald e Guimarães, 2001)

No Sistema nervoso podem ser observadas cefaleias, tonturas, insónia, agitação e confusão.

Dos pacientes tratados com quinolonas, apenas 1 a 3% fazem interrupção do tratamento devido aos efeitos secundários. A fototoxicidade também está ligada a todas as quinolonas sendo a sparfloxacina a mais fototóxica, podendo surgir também prurido, eritema, urticária e *rash* cutâneo (Lee and Kanatani, 1999).

2.3. Interações Medicamentosas

A principal interacção medicamentosa que existe neste grupo de fármacos é a má absorção por parte da quinolonas quando administradas concomitantemente com um catião metálico multivalente, como magnésio, alumínio e anti-ácidos contendo cálcio e sucralfato, podendo reduzir biodisponibilidade entre 25 a 85% no caso da ciprofloxacina. A Tabela 3 resume as interações medicamentosas principais.

Tabela 3 – Principais interações medicamentosas das fluoroquinolonas. (Aminimanizani et al., 2001)

Fluoro-quinolona	Al ³⁺ / Mg ²⁺ Anti-ácidos	Fe ⁺⁺	Sucralfato	Ca ⁺⁺	Probenecid	Teofilina	Varfarina
Ciprofloxacina+	- 77-85% ^a	-AUC57% ^e	-96%F ^c -17%F ^a	-40%F ^b	-CL _r	-CL30- 113%	+PT
Moxifloxacina	-45%F ^a	-39%AUC	-----	SE ^d	SE	SE	SE
Gatifloxacina	- 64%AUC ^e -42%AUC ^f -18%AUC ^g	-35%AUC ^e	-----	Ne ^{f,g} +42%AUC		SE	SE
Moxifloxacina	-45%F ^a	-39%AUC	-----	SE ^d	SE	SE	SE
Sparfloxacina	-23%AUC ^f -17%AUC ^g -5%AUC ^h	-----	-44%F ^e	-----	SE	SE	SE

a-2h antes ou depois da dose; b- biodisponibilidade relativa; d- com produtos diários; e- administração em conjunto; f- 2h antes da dose; g- 2h após a dose; h- mais de duas horas após a dose. AUC- Área sobre a curva tempo-concentração; CL_R – Clearance Renal; CL- Clearance Total; F- Biodisponibilidade; PT- Tempo de Protrombina; SE – Sem efeito.

Administração de preparações orais de ferro e multivitamínicos com zinco demonstraram interação similar na diminuição da biodisponibilidade na ciprofloxacina e outros agentes novos como levofloxacina e gatifloxacina. A morfina reduz o tempo de absorção da troxafloxacina e a ciprofloxacina inibe o metabolismo da teofilina ou cafeína ao contrário das fluoroquinolonas de 3^a e 4^a geração.

Todas as fluoroquinolonas podem causar convulsões quando administrada com anti-inflamatórios não esteroides. Quando tomadas conjuntamente com Diazepam, aumentam as concentrações plasmáticas do anterior. A toma em conjunto com pentoxifilina, diminui a sua taxa de metabolização, aumentando os riscos de efeitos secundários da pentoxifilina (Aminimanizani et al., 2001).

2.4. Farmacocinética

2.4.1. Absorção.

Tal como os aminoglicosídeos, as quinolonas possuem uma actividade antibacteriana dependente da dosagem.

As fluoroquinolonas possuem absorção gastrointestinal óptima, razão para o aumento de novas formulações por via oral. Existem fluoroquinolonas para uso intravenoso em meio hospitalar. As fluoroquinolonas possuem uma absorção oral e biodisponibilidade de excelente a moderada. A absorção é, na maior parte das ocasiões, rápida. Atingem concentrações máximas no plasma entre uma a duas horas. Como já referido anteriormente, a absorção é reduzida por cationes bivalentes, usualmente encontrados em anti-ácidos e outros medicamentos, bem como na ingestão diária de alimentos. A absorção destes fármacos na sua forma oral é excelente e os níveis sanguíneos atingidos por estes fármacos na sua forma oral também são excelentes e similares aos níveis atingidos pela via intravenosa. Este factor possibilita a conversão para a terapia oral rapidamente, mesmo em pacientes com infecções graves, desde que a nutrição entérica aconteça. As fluoroquinolonas mais recentes possuem biodisponibilidade igual ou maior que a ciprofloxacina (que varia entre 55 a 88%). Por exemplo a sparfloxacina, a levofloxacina e a gatifloxacina possuem uma biodisponibilidade superior a 90% (Aminimanizani et al, 2001), (Cunha, 2001).

2.4.2. Distribuição

A maior parte das fluoroquinolonas tem uma clearance moderada e um tempo de semi-vida entre 4 a 10 horas, enquanto o volume de distribuição varia entre 1,5L/kg a 4L/Kg, contribuindo para uma distribuição nos tecidos e nas células (Turnidge, 1999).

A maior parte das fluoroquinolonas possuem uma excelente biodisponibilidade e penetração tecidual. Por esta razão são fármacos ideais para pacientes de ambulatório e para pacientes hospitalizados que trocam entre terapia oral e a intravenosa (Cunha, 2001).

Nos rins, pulmões, próstata, amígdalas, músculos, endométrio, miométrio e ovários as concentrações são mais elevadas do que as concentrações séricas. Os locais onde as concentrações são mais baixas do que as concentrações séricas, são no tecido ósseo, no tecido celular subcutâneo e nas secreções brônquicas. Estes agentes conseguem penetrar as células fagocitárias.

No líquido cefalorraquidiano, quando não existe inflamação da meníngea, as concentrações são normalmente inferiores às plasmáticas, no entanto, quando a meníngea se encontra inflamada as concentrações aumentam drasticamente (Osswald e Guimarães, 2001). A ligação as proteínas plasmáticas varia muito entre os agentes, sendo que os agentes mais recentes ligam-se pouco as proteínas plasmáticas com excepção da trovafloxacina (70%) (Walker, 1999).

2.4.3. Metabolização e Eliminação

As duas principais vias de eliminação das fluoroquinolonas são a renal e a hepática. A maior parte destes agentes possui uma eliminação conjunta por estas duas vias.

O ácido glucorónico pode conjugar as quinolonas na posição 3 ou ser o substracto nas reacções no carbono 7 ou do próprio anel piperazínico. As reacções efectuadas são hidroxilações e uma carboxilação.

As fluoroquinolonas são metabolizadas pelas enzimas do citocromo P450, no fígado. Os metabolitos formados geralmente têm pouca ou nenhuma actividade antibacteriana e são eliminados por via hepatobiliar no intestino, sendo depois reabsorvidos, entrando na circulação entero-hepática. Metabolitos e fármacos não-metabolizados são encontrados na urina, bilis e fezes (Oliveira e Pereira, 2010).

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

As quinolonas e os seus metabolitos são na sua maioria excretados pela urina (Osswald e Guimarães, 2001).

No caso da ofloxacina e da levofloxacina a via predominante é a excreção renal e no caso da sparfloxacina a via principal é a hepática.

O tempo de semi-vida é suficientemente longo para dosagem diária e bi-diárias. É necessário ajustar a dosagem em casos de insuficiência hepática ou renal dependendo do agente usado e a sua via predominante. A tabela 4 resume os principais parâmetros farmacocinéticos de algumas fluoroquinolonas.

Tabela 4 – Principais parâmetros farmacocinéticos para algumas fluoroquinolonas (Oliveira e Pereira, 2010).

Fluoroquinolona	Dose oral (mg)	t_{1/2}(h)	Biodisponibilidade Oral	Distribuição Tecidual	Excreção
Norfloxacina	400	3.5-5	40	Fraca	Renal
Ofloxacina	400	5-7	95	Boa	Renal
Ciprofloxacina	500	3-5	70	Boa	Renal
Moxifloxacina	400	9-10	>85	Boa	Hepática
Levofloxacina	500	5-7	95	Boa	Renal
Sparfloxacina	200	16-22	90	Boa	—
Pefloxacina	-	10	90	Boa	—

2.4.4. Farmacocinética dos compostos em estudo

2.4.4.1. CIPROFLOXACINA

É uma quinolona de 2ª geração, possui um espectro de acção preferencial para Gram negativa, incluindo contra *P. aeruginosa*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *Chlamydia spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Brucella spp.* e *Legionella spp.* Como as quinolonas de 2ª geração não possui grande actividade contra bactérias Gram positiva

A absorção por via oral possui uma biodisponibilidade entre o 70 e os 85%, podendo também ser administrada por via intravascular. Os picos de concentração no sangue são atingidos após 1 a 3 horas. Possui altas concentrações em vários órgãos tal como pele, próstata, fígado e pulmão. Penetra bem nos fagócitos estando por isso indicada nas infecções de parasitas intracelulares. É eliminada por via renal inalterada (50%) e também por via fecal (25%). Esta fluorquinolona também sofre metabolização hepática parcial. A ligação as proteínas plasmáticas é de 30% e possui um tempo de semi vida de 3-7 horas (Sousa, 2006). (Infarmed, 2013 a).

2.4.4.2.MOXIFLOXACINA

A moxifloxacina é absorvida rápida e quase completamente após administração oral. A biodisponibilidade absoluta é de aproximadamente 91%. A farmacocinética é linear no intervalo 50 – 800 mg de dose única e até 600 mg na posologia de uma vez por dia durante 10 dias. Para uma dose oral de 400 mg a concentração máxima de 3,1 mg/l é atingida ao fim de 0,5 – 4 h após a administração. As concentrações pico e vale no estado estacionário (400 mg uma vez ao dia) foram de 3,2 e 0,6 mg/l, respectivamente. No estado estacionário a exposição dentro do intervalo posológico é aproximadamente 30% mais elevada que após a primeira administração.

A moxifloxacina é distribuída muito rapidamente aos espaços extravasculares; após a administração de uma dose de 400 mg observa-se uma AUC de 35 mg.h/l. O volume de distribuição (Vd) no estado estacionário é de aproximadamente 2 l/kg. A taxa de ligação às proteínas de aproximadamente 40 – 42% independente da concentração do fármaco. A moxifloxacina liga-se principalmente à albumina sérica.

A moxifloxacina sofre biotransformação de Fase II e é excretada por via renal, biliar/fecal na forma de fármaco inalterado e na forma de composto sulfoconjugado (M1) e glucoronido (M2). M1 e M2 são os únicos metabolitos relevantes na espécie humana, e ambos são microbiologicamente inactivos. Nos estudos clínicos de Fase I e in vitro não foram observadas interações farmacocinéticas com outros fármacos sujeitos a biotransformação de Fase I envolvendo enzimas do citocromo P450. Não existem indicações de metabolismo oxidativo.

A moxifloxacina é eliminada do plasma com uma semi-vida terminal média de aproximadamente 12 horas. O índice médio total aparente de depuração corporal após uma dose de 400 mg varia de 179 a 246 ml/min. O índice de depuração renal situou-se em cerca de 24 – 53 ml/min sugerindo uma reabsorção tubular parcial do fármaco a partir dos rins. Após a administração de uma dose de 400 mg a recuperação da urina (aproximadamente 19% para o fármaco inalterado, aproximadamente 2,5% para o M1 e aproximadamente 14% para o M2) e fezes (aproximadamente 25% para o fármaco inalterado, aproximadamente 36% para o M1 e ausência de recuperação para o M2) totalizaram aproximadamente 96% (Sousa, 2006). (Infarmed, 2013 b).

2.4.4.3. Pefloxacina e Sparfloxacina

Relativamente a pefloxacina e a sparfloxacina, muito pouca literatura existente devido ainda não possuírem autorização de introdução no mercado.

2.5. Relação Estrutura-Actividade

Fundamentalmente a actividade antibacteriana das quinolonas depende da sua penetração na célula e a inibição da actividade da DNA girase.

Vários estudos concluíram que tanto a penetração na célula como a inibição da DNA girase aumentam com a presença do átomo de flúor na posição C₆ das quinolonas.

O ácido nalixídico é a estrutura protótipa para a síntese de quinolonas. Alterações feitas neste composto resultaram em compostos com potência aumentada e espectro, aumentando significativamente as aplicações terapêuticas das quinolonas.

O esquema da Figura 5 têm o resumo das principais relações estrutura-actividade até agora estudadas.

Os estudos indicam que a substituição na posição 1 aumentam a actividade antibacteriana. Num primeiro estudo através dos parâmetros que caracterizam o tamanho e a forma do substituinte, chegou-se a conclusão que o tamanho do substituinte ideal nesta posição é o correspondente a um grupo etilo como é o caso da norfloxacin, pefloxacin.

Estudos mais recentes concluíram que, para além do volume e forma do substituinte existem outros factores como a capacidade de doação- π electrónica, que também possuem grande influência na actividade. O substituinte ciclopropil é de longe o substituinte óptimo devido a combinação estérea, espacial e interações electrónicas, como acontece com a levofloxacin e a ofloxacin: Este substituinte aumenta a actividade contra bactérias Gram negativas.

Na posição C₂ muitas poucas alterações foram benéficas relativamente ao farmacoforo inicial. Alterações usando grupo metilo, hidroxilo resultaram em moléculas com perda de bioactividade.

A Cinoxacin, que possui um átomo de nitrogénio nesta posição possui propriedades farmacocinéticas aumentadas. “A posição C₂ não têm sido usados muitos substituintes devido a sua proximidade com a ligação na enzima” (Emami et al., 2005) portanto o substituinte H, é o ideal.

A posição C₃ está ligada à posição C₄ através do grupo do ácido carboxílico e o grupo ceto, que são considerados necessários para a ligação da quinolona à DNA girase.

Nenhuma alteração nesta posição criou compostos activos com excepção a compostos em que o grupo carboxílico é formado *in vitro*. Como por exemplo a substituição na Norfloxacin do grupo carboxílico por um grupo formil que produz um composto com

actividade antibacteriana devido à sua rápida conversão em ácido carboxílico produzindo o dobro da concentração no soro de norfloxacin.

Na posição C₄ ainda não foi muito explorada e a substituição do grupo 4-ceto por outros grupos têm levado a criação de compostos inactivos.

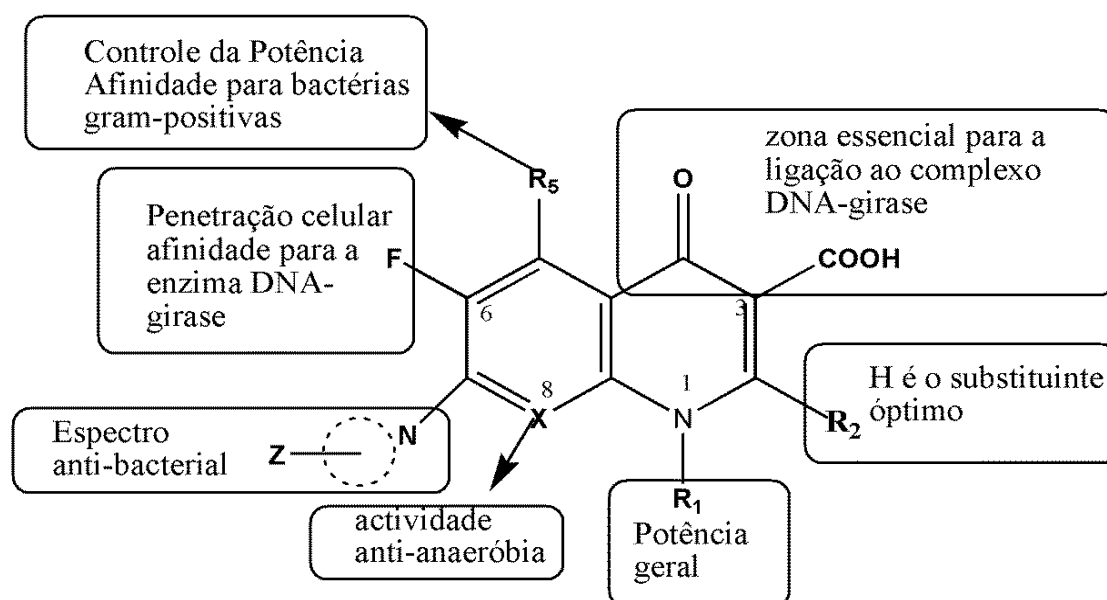
Para as fluorquinolonas manterem as suas propriedades antibiose, é necessário não alterar o ácido carboxílico na posição C₃ e também manter a ligação dupla do anel naftiridinico com o oxigénio na posição C₄ (Sousa, 2006).

Na posição C₅ as alterações que têm sido feitas são essencialmente de substituintes pequenos tais como, nitro, amino, alquilo. A substituição do substituinte amino nesta posição parece aumentar a absorção e a distribuição pelos tecidos, embora alguns estudos têm afirmado que a substituição nesta posição diminui a actividade antibacteriana. As quinolonas amino substituídas possuem actividade antibacteriana *in vitro* superior a ciprofloxacina, portanto esta substituição pode aumentar a potência das quinolonas *in vitro*.

Na posição C₆ foram testados vários substituintes como o hidrogénio, flúor, cloro, bromo, entre outros, mas a substituição do átomo de flúor resultou num aumento dramático do efeito antibacteriano. O grupo flúor na posição C₆ melhorou excepcionalmente a ligação do complexo-enzima como também aumentou a penetração celular comparativamente aos compostos idênticos que não são C₆-flúor substituídos. Devido ao aumento da actividade nestes compostos por incorporação do flúor na posição C₆, a maior parte das quinolonas sintetizadas recentemente possuem esta substituição, embora nem todas elas mostraram aumento de actividade (Domagala et al., 1986). A posição C₇ das quinolonas já foi amplamente estudada. Substituições nesta posição estão associadas ao seu espectro antibacteriano, biodisponibilidade, e efeitos secundários. As quinolonas com pento- ou hexo- aneis heterocíclicos com ou sem substituição na posição C₇ são os substituintes mais comuns e conferem potência contra bactérias Gram-negativas. A inserção da piperidina neste posição confere boa actividade contra bactérias Gram positivo. Em geral a adição de um metilo na posição C₄ do anel piperazina aumenta actividade antibacteriana contra Gram-positivos, com uma ligeira diminuição da actividade antibacteriana contra Gram-negativos especialmente contra *P.aeruginosa*. A 3-metilpiperazina não causa o mesmo aumento no LogP mas por outro lado obtêm-se compostos com boa absorção oral. As quinolonas com o substituinte 3-etilaminometilpiperidina-1-il na posição C₇ aumentaram a actividade contra Gram-positivas. O substituinte 3-aminopyrrolidin-1-yl na posição C₇ geralmente aumenta o

espectro da acção da quinolona mas possui a desvantagem de ter a possibilidade de diminuir a solubilidade da molécula em água a pH 7,4 e podendo haver problemas na absorção.

A posição C₈ desempenha um papel importante nos parâmetros orais farmacocinéticos e no aumento do espectro de actividade. A adição de grupos como flúor, cloro, metilo e metoxi aumenta a actividade antibacteriana, especialmente contra organismos Gram-positivos. A introdução de átomos halogenados, metoxi e grupos metilos aumenta a potência contra anaeróbios estritas (Chu e Fernandes, 1989), (Domaga et al 1986), (Domagala, 1994), (Sousa, 2006), (Emami et al., 2005)



R₁ = Ciclopropil, anel aromático halo substituído, etilo, etc.

R₂ = H, R₁ e R₂ podem-se ligar para formar um anel.

R₅ = H, -NH₂, OMe.

X = N, CH, CF, C-OMe, ou X e R₁ podem-se ligar para formar um anel

Z = grupo ligado ao anel cicloquilamina.

Figura 6 – Relação estrutura-actividade para as fluoroquinolonas (Bakken, 2004)

2.6. Mecanismo de Acção

O DNA é descrito como um par de filamentos helicoidais fechados. Para haver troca de informações dos códigos, é necessário a separação da hélice. Consequentemente, a separação e reencaixe dos filamentos helicoidais são mecanismos essenciais para a replicação bacteriana celular.

As quinolonas são os únicos agentes antimicrobianos que têm como alvo as topoisomerasas bacterianas. A função das topoisomerasas na células bacterianas, é a manutenção do DNA celular no estado apropriado de enrolamento tanto nas regiões não replicáveis como nas replicáveis do cromossoma bacteriano. Existem 4 tipos de enzimas topoisomerasas, das quais duas, são alvo das fluoroquinolonas. As enzimas alvo são DNA girase ou topoisomerase tipo II e topoisomerase IV (Walker, 1999).

Dentro destas duas, a enzima para qual a fluoroquinolona têm preferência é designada como alvo primário (Fukuda e Hiramatsu, 1999).

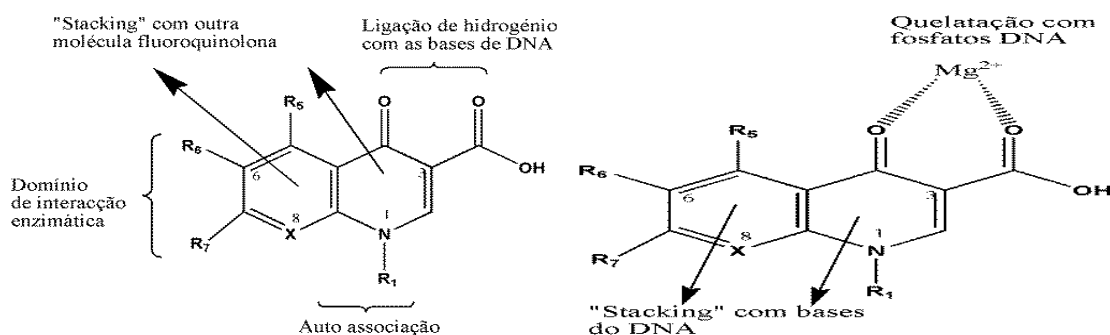


Figura 7 - Possíveis modelos de ligação ao receptor

As Fluoroquinolonas vão inibir a replicação do DNA bacteriano ligando-se a estas enzimas alvo e ao DNA bacteriano formando um complexo ternário [Enzima-DNA-Fármaco], não deixando as topoisomerasas exercer as suas funções (Oliveira e Pereira, 2010). Em geral, o alvo primário para fluoroquinolonas em bactérias Gram-negativas é a DNA girase. Por outro lado a topoisomerase IV é o alvo primário das bactérias Gram-positivas. A DNA girase remove o excesso do super-enrolamento que é formado à frente da haste de replicação. Sem esta acção da DNA girase, o excesso de enrolamento acabava por prender a replicação do DNA e pará-la. Assim inibindo a acção desta enzima, inibe-se a replicação do DNA bacteriano. A enzima topoisomerase IV envolvida na separação e relaxamento das moléculas de DNA, têm como acção a abertura da molécula do DNA antes da haste de replicação. A função conjunta destas

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

duas enzimas permite o desdobramento do DNA à medida que se dá a replicação e a segregação do DNA. Embora os Humanos possuam estas enzimas a afinidades das quinolonas para as enzimas bacterianas em comparação com as dos Humanos e cerca de 1000 vezes superior (Sousa, 2006).

As fluoroquinolonas estabilizam e prendem o complexo através da ligação à tirosina-122 no terminal-N da porção da subunidade Girase A. Este fenómeno provoca alterações conformacionais no complexo clivado que vai inibir a sua acção catalítica. A Figura 7 mostra o esquema geral das fluoroquinolonas com dois possíveis modelos de ligação aos receptores de modo a formar o complexo [Enzima-DNA-Fármaco].

A topoisomerase IV têm como funções catalizar a separação DNA para figura formação de células filhas e manter o DNA num estado de super enrolamento.

O complexo formado pela fluoroquinolona com a topoisomerase IV e o DNA, provoca uma distorção num outro complexo [DNA-topoisomerase IV], que vai reduzir a actividade.

Este mecanismo é reversível, visto que o complexo ternário pode dissociar-se e reverter ao complexo original. Embora este mecanismo não seja um evento letal, pensa-se que a sua acção bactericida resulta numa série de eventos posteriores que não são conhecidos até ao momento (Bakken, 2004).

2.7. Resistências Bacterianas

O principal factor que poderá limitar o uso de antibióticos são as mutações bacterianas rápidas, que podem ser feitas através de um único plasmídeo que confere resistência a toda a classe de antibiótico (Oliveira e Pereira, 2010).

A resistência das bacterianas as fluoroquinolonas pode acontecer por 3 mecanismos diferentes ou pela soma dos anteriores. Modificações na enzima DNA girase resultante de mutações no cromossomas genómicos, que podem acontecer facilmente durante o tratamento com estes antibiótico (Sousa, 2006). Diminuição da capacidade de penetração através da membrana externa das bactérias gram-negativas em forma de bastonete. Aumento da remoção intracelular das fluoroquinolonas por bomba de efluxo responsáveis pelo movimento de substâncias de dentro para fora das bactérias (Lee e Kanatani, 1999).

III. OBJECTIVOS E MÉTODOS

3. 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 quatro moléculas de fluoroquinolonas: moxifloxacina, ciprofloxacina, sparfloxacina e pefloxacina Figura 9.

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[®]), 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 basicidade. Um grupo com basicidade aumentada poderá, teoricamente, ter maior acção “*in vitro*” por se poder ligar com mais facilidade 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 básica 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, interações fármaco-receptor, entre outros) (Bohm 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 quantidade certa de polaridade da molécula, de modo a que a afinidade para com os receptores não seja comprometida por excesso de lipofilia e por sua vez baixa solubilidade (Bohm et al., 2004). Existe, no entanto, a ideia errada que a fluorinação aumenta sempre a lipofilia das moléculas. Nas moléculas aromáticas, o que faz com que a molécula aumente a sua lipofilia é a excelente sobreposição 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, aumentando assim a sua lipofilia (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 otimizada 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 núcleos atómicos (mesmo volume), as diferenças entre as polaridades.

3.1. Métodos computacionais: breve descrição

3.1.1. Calculo da energia molecular por *ab-initio*

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

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

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

onde a função de onda molecular Ψ 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 das 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 translação, 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

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

3.5

3.1.2. 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 seleção 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 ϕ_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 ϕ_i que definem as orbitais moleculares, ou seja, para definir \hat{F}_i deve-se conhecer ϕ_i e para se definir ϕ_i deve-se conhecer \hat{F}_i de acordo com 3.6.

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.

3.1.3. As energias obtidas

Os valores das energias obtidas após a resolução da equação de HF, E_i correspondem a à energia de orbital ou energia uni-electrónica que se poderá interpretar como sendo a energia que um electrão possuirá na orbital molecular ϕ_i que resulta da sua energia cinética, 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 corretivos dá a energia electrónica, E_{ele} , menos 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 descritoras 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 frequência de vibração nucleares

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

(definidoras da função de onda de vibração nuclear) de modo a verificar a ausência de valores negativos correspondentes a frequências imaginárias.

3.1.4. As bases para as funcionais.

Como foi referido em 3.1. para executar os cálculos HF há que definir as funções de onda do sistema com base numa seleção 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 entre parte externa e interna, descrita por 3 e 1 gaussianas, respectivamente.

3.1.5. Teoria de DFT (Density Funtional 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 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 EKS,

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

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

3.1.6. 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 mapeada o potencial electrostático (ESP) sobre uma superfície de densidade electrónica dada pela cálculo de SCF (Self Consisting 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 electrostático (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 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. 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

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

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.

IV.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.Considerações Gerais

Neste trabalho foram estudadas as seguintes fluorquinolonas: ciprofloxacina, moxifloxacina, sparfloxacina e pefloxacina. Uma vez que um dos objectivos é avaliar os efeitos electrónicos e estruturais do posicionamento do átomo de flúor no anel da quinolona, foram também estudadas os derivados das substâncias referidas que resultam de alterações do substituinte flúorado por hidrogénio. Esta abordagem permite, estabelecer as diferenças entre os pares de compostos e inferir de algumas conclusões por comparação.

A discussão apresentada neste trabalho divide-se nos aspectos estruturais e electrónicos. Relativamente aos primeiros, realizar-se-à uma análise das estruturas resultante de optimização geométrica focando-se, fundamentalmente, em aspectos conformacionais, dando-se especial relevância à discussão relativa às diferenças de conformação devida à introdução de diferentes substituintes nas diversas posições do anel da quinolona. A conformação da molécula assume especial relevância na ligação ao receptor pois os volumes alocados para os ligandos devem ser próximos dos complementares aos volumes existentes nos locais activos. Há ainda a referir para o caso da sparfloxacina, que se procedeu à análise conformacional de duas conformações cuja diferença reside na posição do átomo de hidrogénio do grupo carboxílico em C₃.

Relativamente aos aspectos electrónicos, os resultados obtidos relativos às distribuições das carga nas moléculas e as superfícies de potencial isoelectrónico, permitem fazer uma análise da assimetria de distribuição de densidade electrónica e portanto inferir sobre a complementariedade de carga a nível do ligando-receptor (local activo). A comparação das distribuições de carga dos compostos flurados com os não flurados na posição C₆ do anel de quinolona permitirá verificar a importância inversão da polaridade do carbono 6 na ligação à enzima, pois de acordo com o modelo para o mecanismo de acção destes fármacos e as suas relações estrutura-actividade, esta posição insere-se no domínio de interação com a enzima, nomeadamente com a topoisomerase II que veicula para uma acção mais específica contra bactérias Gram-negativas.

Este espaço será usado para fazer uma apresentação e uma discussão dos resultados obtidos. Na figura 7 estão as estrutura químicas das moléculas estudadas. A interpretação dos resultados começam pela análise comparativa dos aspectos conformacionais das moléculas e apresentam-se os valores de energias mínimas para

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

cada molécula, os respectivos momentos dipolares obtidos, através das optimizações geométricas efectuadas. Faz-se uma comparação entre as principais diferenças conformacionais nas moléculas estudadas.

Por fim faz-se uma análise das superfícies de densidade electrónicas que foram mapeadas tendo em conta o seu potencial electrostático para determinada distância nuclear.

4.1. Optimização Geométrica

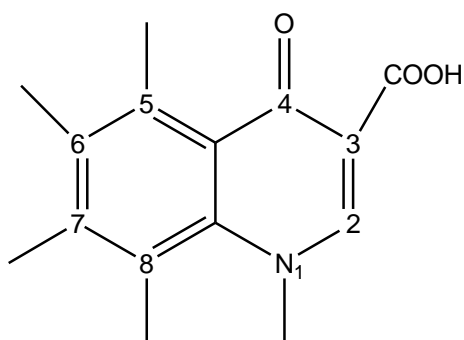


Figura 8 Farmacóforo das fluoroquinolonas

Composto	N1	C5	C6	C7	C8
Moxafloxacinina (F)		—H	—F		—O—CH ₃
Moxafloxacinina (H)		—H	—H		—O—CH ₃
Ciprofloxacinina (F)		—H	—F		—H
Ciprofloxacinina (H)		—H	—H		—H
Sparfloxacinina (F)		—NH ₂	—F		—F
Sparfloxacinina (H)		—NH ₂	—H		—F
Pefloxacinina (F)	—CH ₂ Cl	—H	—F		—H
Pefloxacinina (H)	—CH ₂ Cl	—H	—H		—H

Figura 9 – Representação esquemática das fluoroquinolonas usadas neste estudo

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

As quinolonas estudadas, cujo farmacóforo se apresente na figura 8, podem apresentar-se com duas conformações diferentes no que concerne ao grupo carboxílico de C₃, como esquematiza a Figura 10.

Na conformação A da Figura 10 o átomo de hidrogénio do grupo carboxílico encontra-se posicionado de modo a permitir o estabelecimento de uma ligação de hidrogénio com o grupo ceto da posição 4 do anel da quinolona, enquanto na conformação B isto não acontece.

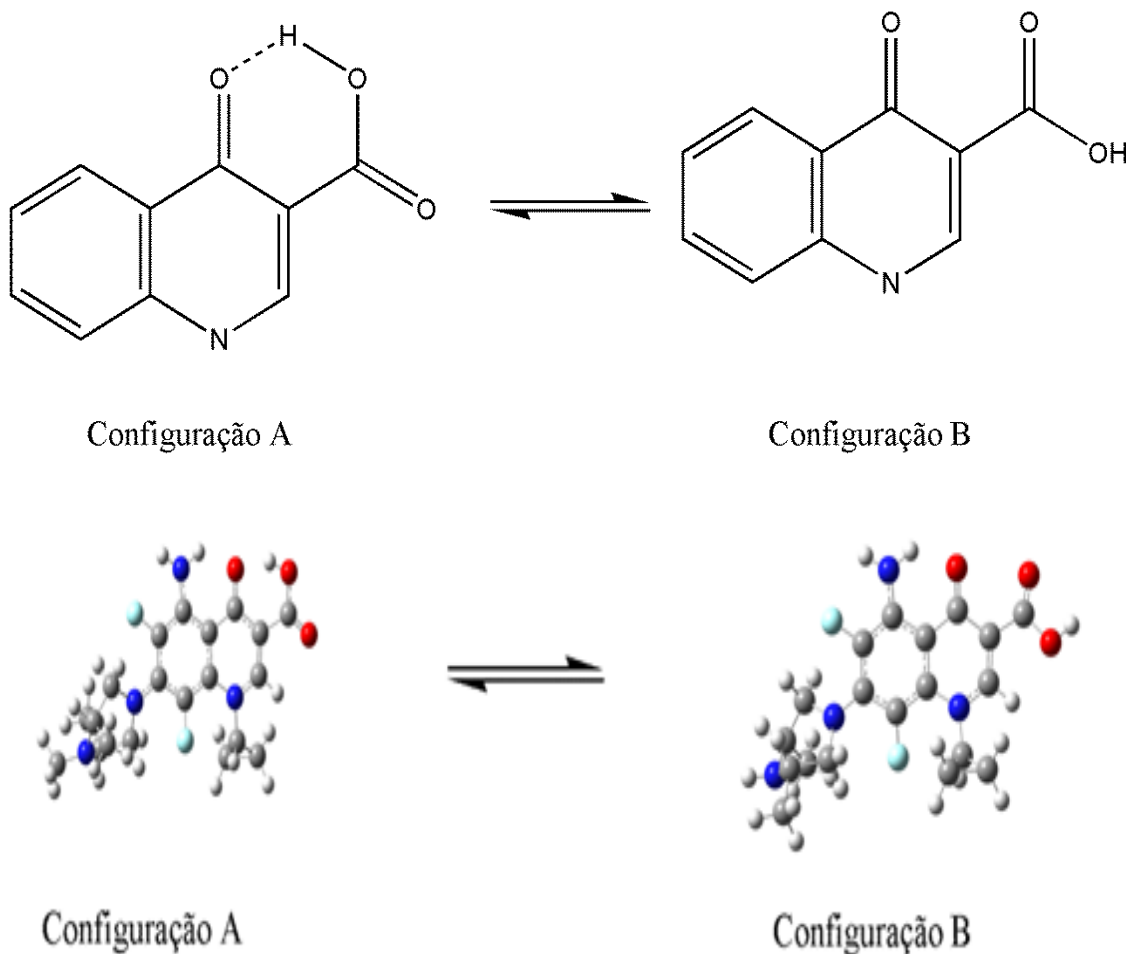


Figura 10 – Conformações que podem ser assumidas pelo grupo carboxílico na fluoroquinolona.

Como o objectivo de verificar qual das conformações deverá ser alvo das otimizações geométricas das outras moléculas, executou-se um estudo prévio, utilizando a sparfloxacina, para verificar qual das conformações seria a mais provável para as formulações antimicrobianas comercializadas. Para atingir o desidrato estudaram-se as

otimizações geométricas das duas conformações da sparfloxacina (Salvador, 2012). Verificou-se que a energia mínima de convergência para as duas conformações foi diferente: -1421,31162373 para a sparfloxacina da conformação A (com interação de H interna) e -1381,98609196 para a sparfloxacina de conformação B. Assim conclui-se que a sparfloxacina conformação A é mais estável em estado gasoso e de acordo com o método de cálculo utilizado, como seria de prever uma vez que a ligação de hidrogénio interna estabiliza a ligação. Não obstante, e de acordo com os dados fornecidos pela literatura (Bakken, 2004) para as relações estrutura-actividade, este grupo, conjuntamente com o grupo ceto é essencial para estabelecer ligação às bases do DNA, de modo a promover a formação do complexo enzima-fármaco-DNA, essencial para a actividade inibitória da enzima, quer por ligação de hidrogénio, quer por complexação. Parece pois que seja importante a disponibilidade dos pares electrónicos do átomo de oxigénio ceto e carboxílico na ligação ao receptor. Além disso, alguns destes compostos são veiculados para o organismo sobre a forma de cloridrato, daí que o grupo carboxílico se encontra desprotonado. Assim sendo, subsiste a dúvida relativamente à melhor conformação para ser utilizada nas otimizações geométricas. Neste sentido, e com vista a verificar qual das conformações seria a mais propícia para ser utilizada nas otimizações posteriores, executou-se um estudo com as frequências de vibração destas moléculas.

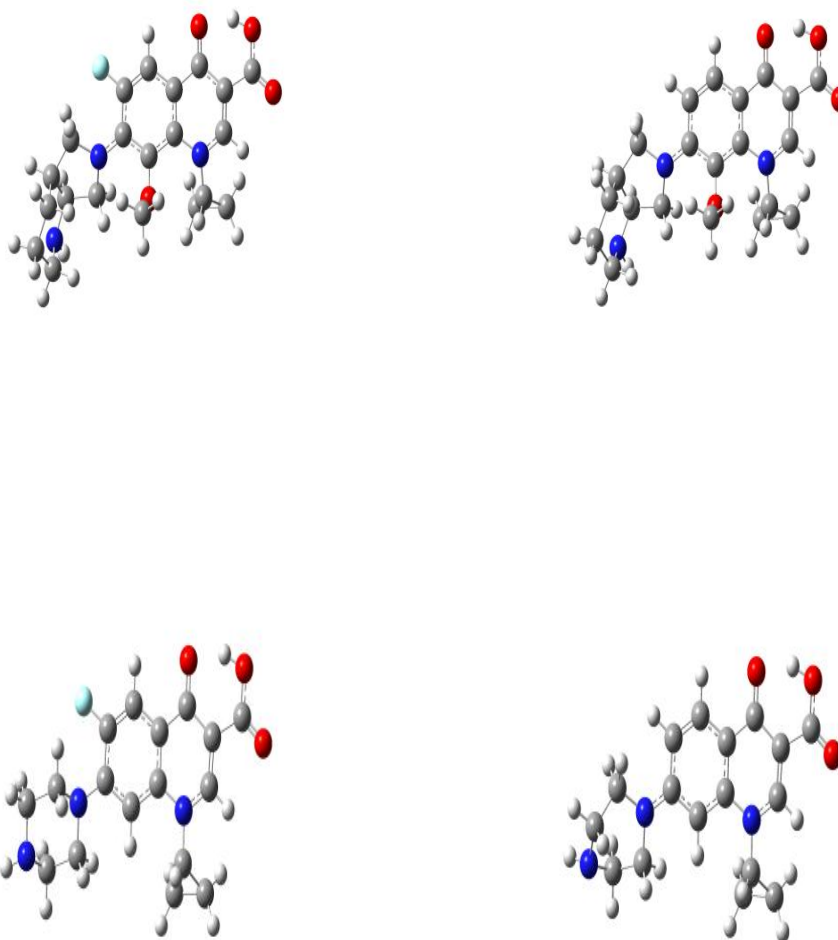


Figura 11.1 – Geometria molecular da moxifloxacina (em cima à esquerda), da ciprofloxacin (em baixo, à esquerda) Estas geometrias foram obtidos por optimização para uma energia mínima com o nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p). As estruturas à direita são as correspondentes com diferença em C₆, que possuem um hidrogénio em vez do flúor.

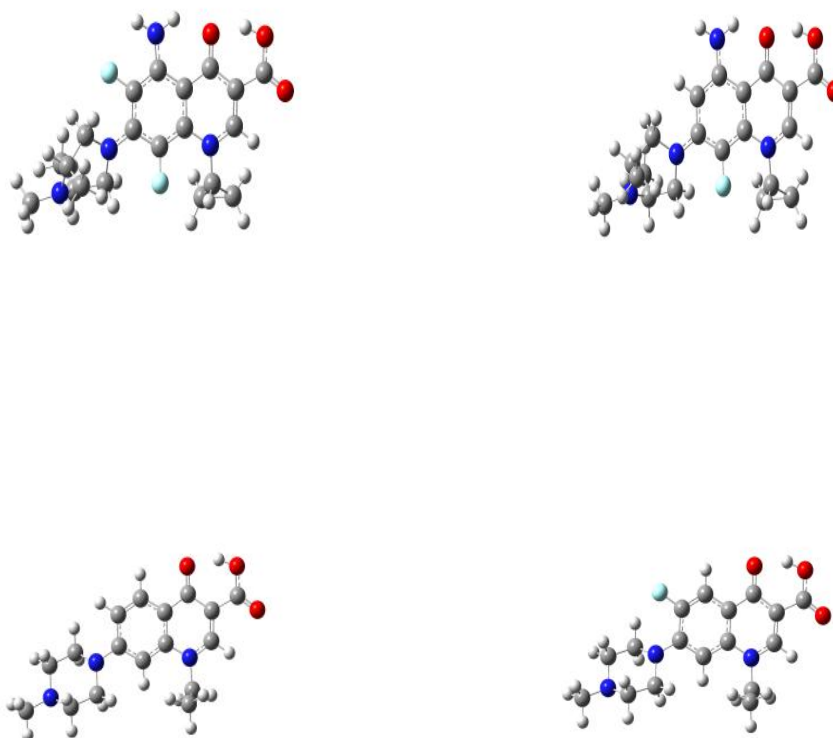


Figura 11.2 – Geometrias moleculares da sparfloxacin(em cima a esquerda). e da pefloxacin(em baixo à esquerda.) Esta geometria foi obtida por optimização para uma energia mínima com o nível de teoriaB3LYP/6-311G++(d,p). A estrutura à direita é a correspondente com diferença em C₆, que possui um hidrogénio em vez do flúor.

Composto	E ¹ /Hartres	Momento Dipolar/D
Moxifloxacin(F)	-1380,02118006	12,2363
Moxifloxacin(H)	-1280,76094221	12,6465
Ciprofloxacin(F)	-1148,72403868	11,9136
Ciprofloxacin(H)	-1049,45276271	12,7677
Sparfloxacin(F)	-1421,31162373	10,1706
Sparfloxacin(H)	-1322,05126820	11,2278
Pefloxacin(F)	-1149,96608904	11,8573
Pefloxacin(H)	-1050,70214262	12,5629

Tabela 5 – Energias e momento dipolar para os compostos em estudo

4.1.1. Análise das frequências vibracionais

As características estruturais de uma molécula, como a presença de grupos hidroxilo e carbonilo, entre outros, produzem absorções características e reprodutíveis no espectro de infravermelho. Estas absorções são de tal forma características e reprodutíveis que, cada molécula possui um espectro diferente e característico que funciona como uma impressão digital.

As frequências de vibração teóricas foram obtidas por posterior calculas das mesmas tendo como base a conformação geométrica de convergência e utilizando o mesmo modelo químico e as mesmas bases funcionais.

Pelos resultados obtidos, foram traçados os espectros vibracionais teóricos para todas as quinolonas estudadas.

Esses espectros apresenta-se em anexo com excepção dos obtidos para a sparfloxacina que estão apresentados nas Figuras 12 e 13.

A espectroscopia de IR-NiR permite identificar as frequências vibracionais correspondentes aos grupos funcionais, dentro de diferentes ambientes químicos com base nas intensidades das bandas e na sua forma. Os grupos funcionais que originam picos de forte intensidade nas quinolonas estudadas são; o carbonilo em C₃ e C₄, o grupo hidroxilo em C₃ (com bandas relativas a O-H e C-O e a banda correspondente ao estiramento C=C do substituinte em N₁).

Cada ligação possui uma banda específica de absorção. Para a vibração da ligação –OH do C₃, observou-se em todas as moléculas uma banda situada entre 3150 e 3300 cm⁻¹, de estiramento, com intensidade muito forte.

Para vibração da ligação C-O do C₃, verificou-se, em todas as moléculas, uma banda de absorção por volta dos 1200 e 1250 cm⁻¹, de estiramento e de intensidade forte.

Por último, em C₃ a vibração da ligação C=O, visualizou-se em todas as moléculas com uma banda de absorção de estiramento em torno dos 1800 cm⁻¹, de intensidade forte.

Na vibração da ligação C=O do C₄ verificou-se em todas as moléculas uma banda de absorção em torno do 1600 cm⁻¹, correspondente a uma vibração de estiramento e de intensidade forte. A Tabela 6 mostra as energias das bandas de elevada intensidade correspondentes a estes grupos funcionais e o tipo de vibração. A Tabela 7 possui os valores identificados para os espectros vibracionais obtidos por B3LYP/6311++G(d,p)

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

para os mesmos grupos funcionais nos compostos otimizados para as sparfloxacina com configuração A e configuração B, que permitem verificar que a existência de uma interação de hidrogénio entre o grupo hidroxilo(dador) e o carbonilo(aceitador) altera as bandas correspondentes ao espectro de vibração na zona de vibração de O-H e C=O de C₄, conforme o previsto teoricamente.

Dados de literatura relativos ao traçado de FT-IR da sparfloxacina utilizada para fins terapêuticos apontam que a conformação existente é a B, uma vez que a análise (El-Gawad et al., 2013) dos picos característicos desta espécie e os obtidos para o espectro teórico da sparfloxacina B são correlacionáveis após as devidas correções para a ordenada na origem. No entanto a configuração utilizada para fazer a otimização geométrica das restantes quinolonas foi a A, com interação de hidrogénio entre o grupo ceto e grupo –OH do ácido carboxílico.

No entanto, há que referir que as quinolonas utilizadas nas formulações estão sob a forma de cloridrato pelo que o grupo carboxílico encontra-se desprotonado.

Composto	C=O, C ₃	O-H, C ₃	C-O, C ₃	N ₁ -substituinte	C=O, C ₄
Moxafloxacina(F)	1792	3223	1249	1337	1602
Moxafloxacina(H)	1791	3204	1212	1389	1600
Ciprofloxacina(F)	1792	3222	1224	1400	1608
Ciprofloxacina(H)	1790	3187	1233	1391	1602
Sparfloxacina(F)	1792	3248	1203	1203	1595
Sparfloxacina(H)	1791	3229	1234	1234	1594
Pefloxacina(F)	1792	3221	1226		1609
Pefloxacina(H)	1791	3195	1217		1605
Tipo de vibração	Estira- mento	Estira- mento	Estira- mento	Estiramento	Estiramento

Tabela 6 – Tipo de vibração e intensidade para diferentes ligações nas fluoroquinolonas estudadas.

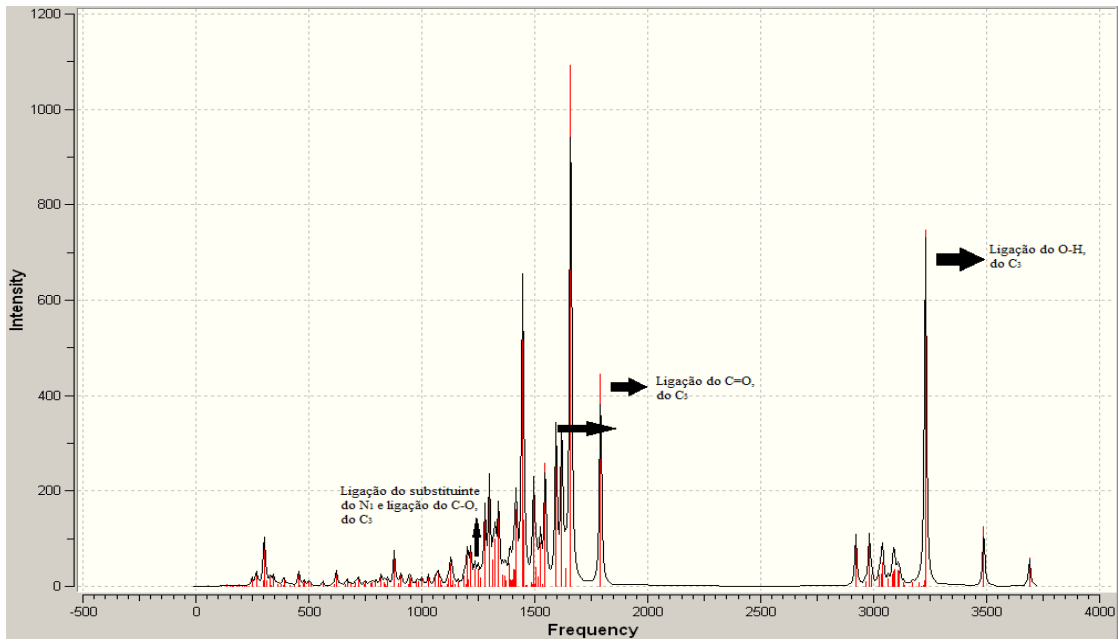


Figura 12 – Espectro de infra-vermelhos da sparfloxacina com a conformação B.

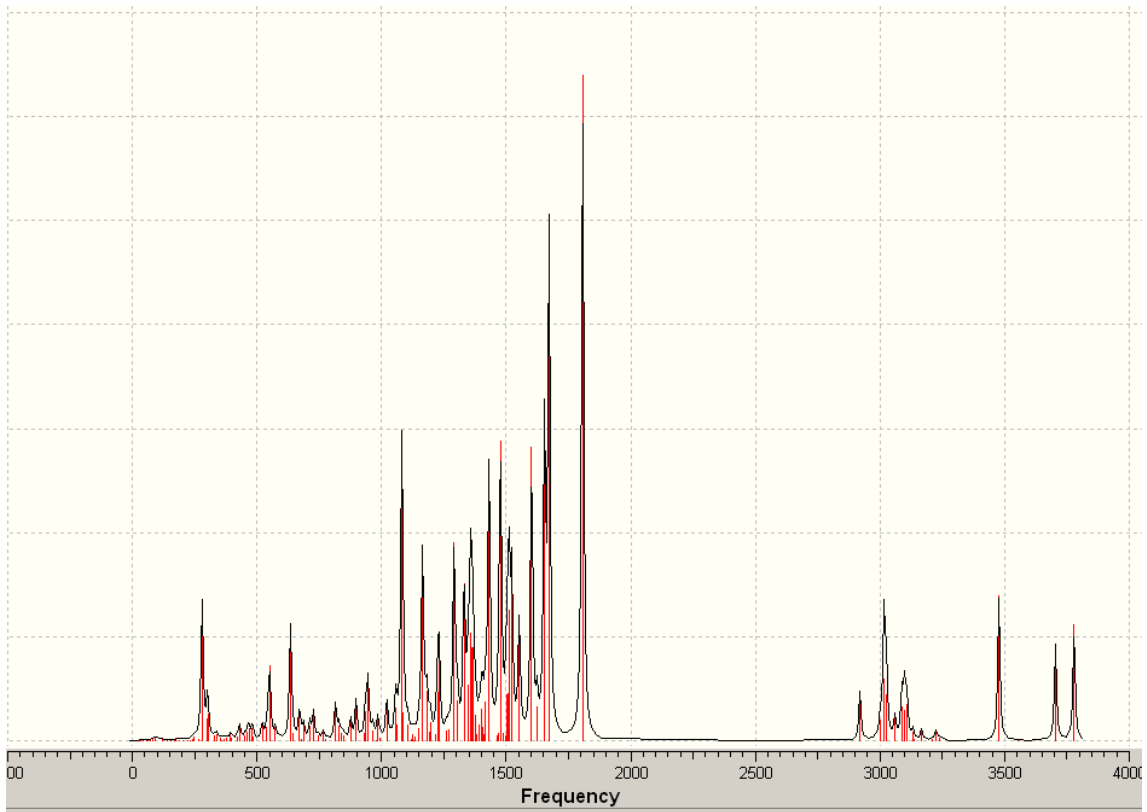


Figura 13 – Espectro de infra-vermelhos da sparfloxacina com a conformação A.

	C=O, C ₃	C-O, C ₃	O-H, C ₃
Sparfloxacina Configuração A	1792	1203	3248
Sparfloxacina Configuração B	1806	985	3778

Tabela 7 – Intensidade das ligações estudadas nas duas conformações da sparfloxacina.

4.1.2 Análise conformacional

Na Tabela 5, encontram-se os valores das energias mínimas para cada molécula que representam a estabilidade de cada uma. Não é possível para fazer uma comparação directa entre moléculas, pois a sua composição atómica varia em cada molécula.

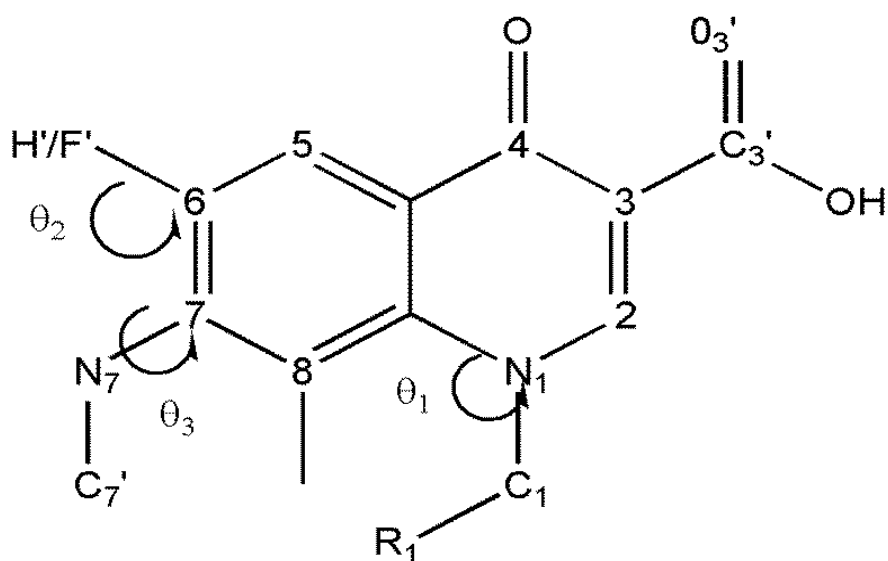
Procedeu-se a esta análise para verificar a existência de frequências imaginárias, em que constatamos que não houve, portanto podemos afirmar que as optimizações foram realizadas de forma a obtermos um valor de energia mínima absoluto e não relativo.

A Tabela 8 possui os valores de alguns ângulos de torção entre ligações relevantes para a análise conformacional e que estão identificadas visualmente no esquema que precede a tabela. O ângulo θ_1 refere-se à C-C de N₁, o ângulo θ_2 à F/H-C₆ e o ângulo θ_3 à R(subs)-C₇. Pela análise dos valores obtidos para θ_1 verifica-se que a presença de substituintes em C₈ (grupo metoxi para a moxifloxacina e flúor para a sparfloxacina) aumenta significativamente a torção em torno da ligação C₈-C_{8'}-N₁-N' devido à imposição estereoquímica destes grupos com a proximidade do substituinte ao N₁(ciclopropil). Este aumento observa-se tanto para as quinolonas 6-F substituídas como para as quinolonas sem substituinte na posição 6.

A análise do ângulo de torção θ_2 N'-C₇-C₆-F/H permite verificar que a presença do átomo de flúor não impõe uma torção significativa em relação ao -H, pelo que a presença -F não modifica a conformação da molécula de forma significativa,. O mesmo não se verifica para o ângulo θ_3 que mostra que as fluoroquinolonas são bastantes mais distorcidas nesta parte da molécula (C₆-C₇-N₇'-C₇') relativamente as suas correspondentes quinolonas não substituídas em C₆.

O substituinte ligado ao C_1 para o caso da moxafloxacina (ciclopropil), encontra-se para trás em relação ao plano do anel central das quinolonas, como se verifica na figura 11. A razão para este fecho pode estar relacionada com a repulsão electrónica que o grupo metoxi pode fazer ao substituinte ciclopropil em N_1 . Outro factor é o tamanho do substituinte C_8' que poderá provocar impedimento estérico ao substituinte ciclopropil, movendo-o para trás em relação ao plano, podendo esta alteração ser importante na ligação ao receptor. O ângulo de torção em C_1 em relação ao plano é de 19,36 graus para trás em relação ao plano.

Na pefloxacina o substituinte em N_1 é um grupo étilo enquanto que as restantes possuem um substituinte ciclopropil. Verificou-se pela análise conformacional que o grupo étilo se encontra posicionado no sentido oposto ao ciclopropil tomando como referência o plano do anel central da quinolona, Figura 14.



Composto	θ^1	Posição de R ₁ em relação ao anel das quinolonas	θ^2	θ^3	Posição de R _s em relação ao anel das quinolonas
Moxifloxacina (F)	19.36	Atrás	-1.45	-19.42	Frente
Moxifloxacina (H)	19.12	Atrás	-0.29	-3.67	Frente
Ciprofloxacina(F)	-1.39	Atrás	-0.81	-55.62	----
Ciprofloxacina(H)	-1.68	Atrás	-1.69	-15.15	----
Sparfloxacina(F)	14.19	Atrás	-4.90	-32.30	----
Sparfloxacina(H)	15.15	Atrás	-4.19	-14.59	----
Pefloxacina(F)	-3.18	Frente	0.59	55.59	----
Pefloxacina(H)	-2.81	Frente	-0.09	43.24	----

Tabela 8 – Valores para os ângulos de torção das quinolonas estudadas. O ângulo θ_1 refere-se à uma distorção em N₁; θ_2 refere-se à distorção em torno da ligação C₆-C₇ do anel da quinolona devido aos substituintes presentes nesses átomos e θ_3 refere-se à

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

distorção do substituinte em C₇ relativamente ao anel da quinolona, como mostra a figura abaixo.

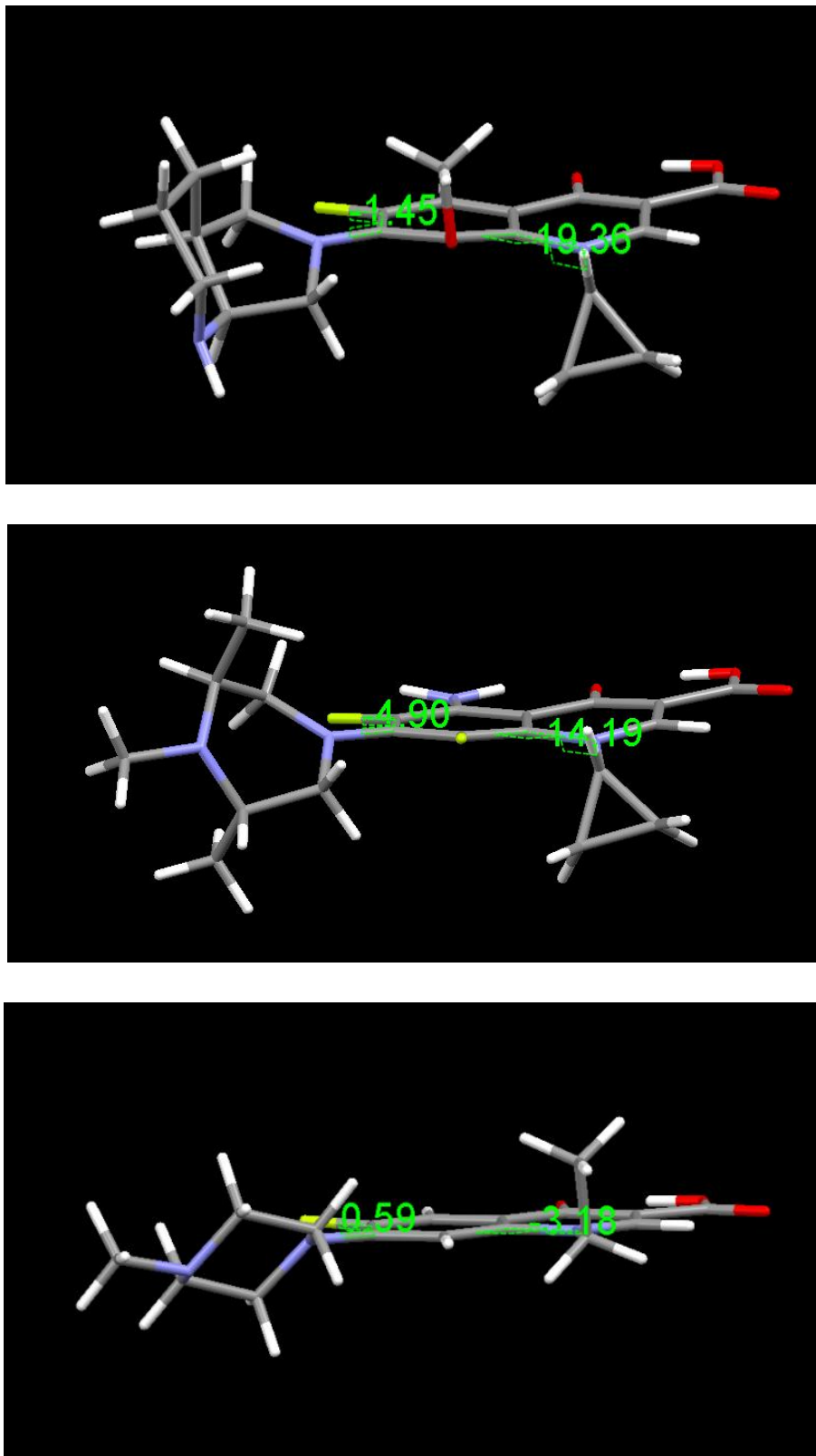


Figura 14 – Estrutura molecular da moxifloxacina, sparfloxacina e da pefloxacina, mostrando a conformação quando as moléculas se encontram com o anel da quinolona

perpendicular ao plano da folha, de modo a evidenciar a posição relativa dos substituintes em N₁ e C₈.

4.2 Aspectos electrónicos

Além dos aspectos conformacionais das moléculas em estudo, as cargas de cada átomo e a polaridade existentes nas diversas zonas da molécula, são essenciais na interação do fármaco com o receptor, sendo importante também analisar os momentos dipolar de cada molécula. A distribuição relativa das cargas e as superfícies de potencial isoelectrónico os valores dos momentos dipolares encontram-se na Tabela 5 e a distribuição das cargas numa seleção de átomos na Tabela 9.

4.2.1. Momento Dipolar

Em todas as moléculas, a substituição do átomo de flúor por um átomo de hidrogénio no carbono 6, provoca uma diminuição no momento dipolar da molécula, sendo este efeito menos amplo na moxifloxacina.

4.2.2. Distribuição de cargas NPA(Natural Population Analysis)

Através da análise das cargas associadas a cada átomo, é possível apontar potenciais locais ligação a zonas hidrófilas ou lipófilas do receptor ou reconhecer os sítios que serão mais prováveis em promover polaridade em certas regiões do receptor. 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.

Os valores da Tabela 9 são relativos às cargas para os átomos de cada uma das moléculas analisadas, com flúor e com a substituição com hidrogénio na posição C₆.

De uma maneira geral, em todas as moléculas a substituição na posição C₆ de um átomo de flúor por um de átomo de hidrogénio, provoca uma inversão na carga do carbono na posição C₆, tornando-o mais positivo. Esta alteração vai também influenciar a carga de alguns carbonos contíguos. Em todas as moléculas os carbonos C₄, a C₈ sofreram influência na sua carga, sendo que a ciprofloxacina também sofreu uma alteração

diferente das restantes, que foi desde C₄ a C₈. Nos outros carbonos também houve influência mas a sua magnitude foi muito reduzida ou inexistente.

Em termos biológicos, como é sabido a interação fármaco-receptor, é uma relação dinâmica, com variadíssimos factores que a influenciam, sendo que a distribuição de cargas vai afectar esta relação. De uma forma geral, o flúor vai influenciar a distribuição electrónica na molécula de C₄ a C₈. Esta zona da flúorquinolona, que supostamente (Emami et al, 2005) será o domínio para interação da enzima é importante também no “stacking” entre quinolonas. Estes resultados apontam para que esta alteração vá provocar uma dinâmica muito mais favorável à ligação fármaco-receptor, resultando moléculas mais bioactivas, nomeadamente no referente a formação do complexo enzima-fármaco-DNA para o caso de inibição de actividade das topoisomerases II, que parecem ser mais importantes para a sua actividade contra bactérias Gram-negativas.

4.2.3. Superfícies de isopotencial electrónico

Este parâmetro também influencia a ligação fármaco-receptor. Para esta ligação acontecer, a maneira como a molécula se aproxima do receptor é importante pois desencadeia um processo dinâmico, que vai estar relacionado com uma redistribuição da carga à sua superfície, conseqüentemente vai haver diferentes interações para diferentes distribuições de cargas electrónicas moleculares, para a mesma distância (raio) ao núcleo dos átomos. Este fenómeno acontece na aproximação do fármaco ao receptor, um grupo de moléculas criam “espaço” para haver ligação, o que provoca um re-arranjo dessa zona para permitir a concretização de ligações intermolecular electroestáticas, hidrofóbicas ou hidrofílicas (dependendo da natureza da molécula).

Para obtermos uma melhor ideia de como isto se processa devemos fazer 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 electroestático (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 electroestático num determinado ponto superficial (ESP) é dado por cores. Se o ESP num determinado ponto for negativo, significa que essa região é estável e favorável à aproximação de uma carga oposta, enquanto que se nesse ponto for positivo,

é relativamente instável. A partir destes dados é possível analisar qualitativamente as ligações fármaco-receptor. Conseguimos também visualizar as distâncias(raio) de cada molécula ao seu núcleo. As figuras 15.1 e 15.2 mostram as superfícies de potencial isoelectrónico mapeados com o potencial electrostático das moléculas.

As zonas mais negativas como a do grupo do ácido carboxílico e do grupo –oxo de C₄ são regiões de grande importância na ligação ao receptor, nomeadamente as bases de DNA. Como foi referido anteriormente estas regiões são estáveis e favoráveis a aproximação do receptor. O posicionamento da ligação –OH do grupo carboxílico também apresenta uma dualidade de conformação isoelectrónica dependente da sua conformação estrutural, isto é, caso a ligação –OH, nomeadamente o hidrogénio estiver em direcção do grupo –oxo do carbono 4, vai permitir o estabelecimento de ligação intramoleculares de hidrogénio formando um pseudociclo, como é possível verificar nas imagens. Quando a ligação –OH, mais precisamente o hidrogénio não está na direcção do grupo –oxo de C₄, este pseudociclo não é formado. Como o meio de actuação destas moléculas é o fisiológico, a formação destas interações intramoleculares de hidrogénio são prováveis quando o seu posicionamento está na direcção correcta, podendo este tipo de moléculas ser mais activo do que a mesma molécula mas como uma conformação em termos da direcção da ligação –OH diferente.

A região do fármaco entre C₆ a C₇ é uma zona de domínio da enzima à qual o fármaco se liga, sendo que esta ligação também é essencial para actividade, pois este complexo ternário formado por [Enzima-Fármaco-DNA] é que permite a actividade antimicrobiana reconhecida nas fluoroquinolonas. Portanto podemos concluir que estas zonas mais electronegativas da molécula são cruciais para a ligação ao receptor e para a sua actividade.

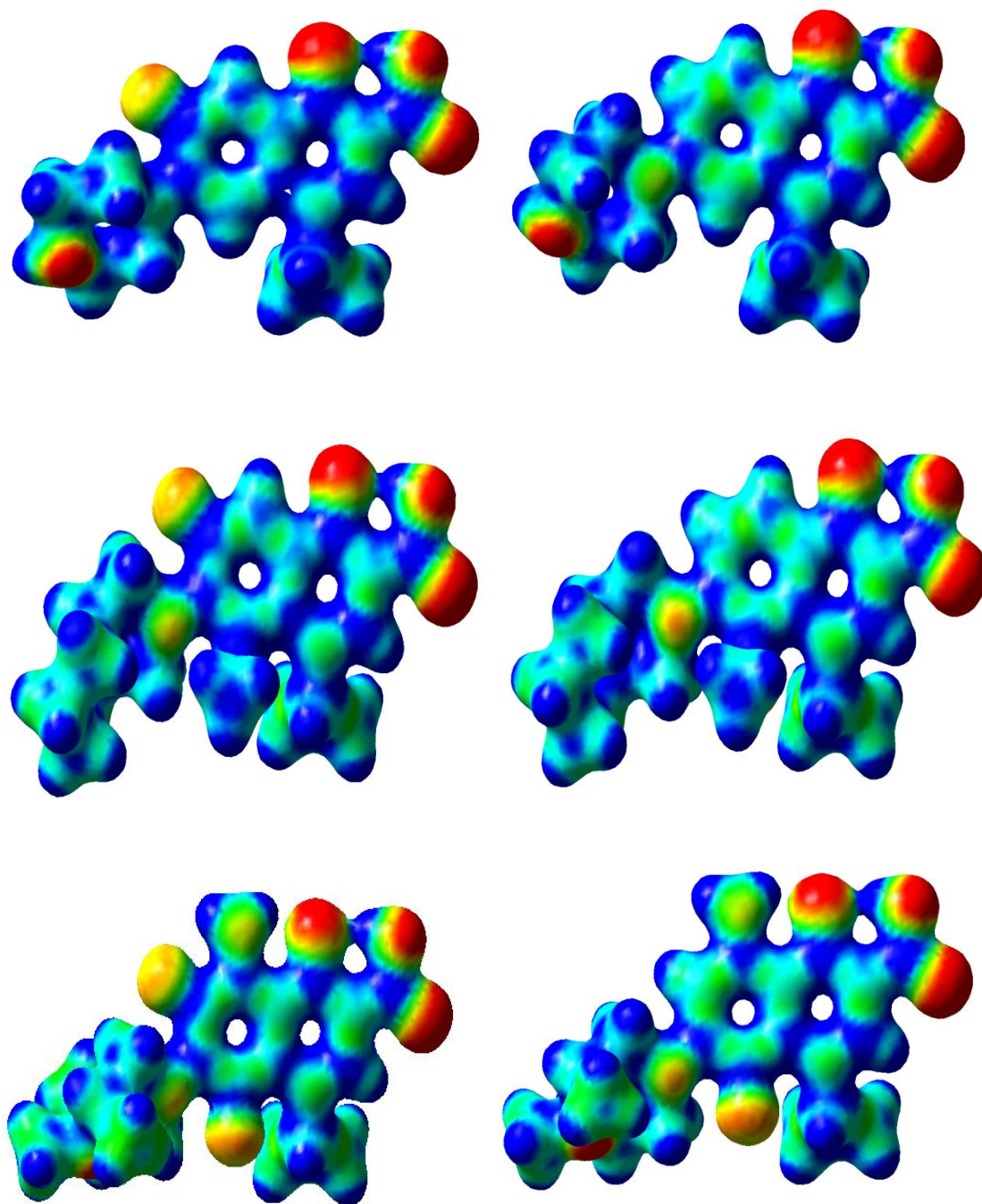


Figura 15.1 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade electrónica para as moléculas em estudo. As regiões com azul e verde são carregadas positivamente e as regiões com maior densidade electrónica são de cor vermelha e amarela. As superfícies foram todas mapeadas com ESP e a densidade electrónica tirada da densidade SCF, com um isovalor de 0,04. Está representada a ciprofloxacina de F (em cima a esquerda), a moxifloxacina de F (no meio à esquerda) e a sparfloxacina de F

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de fluoroquinolonas

(em baixo à esquerda). As estruturas da direitas correspondem as mesmas da esquerda mas com H em C₆.

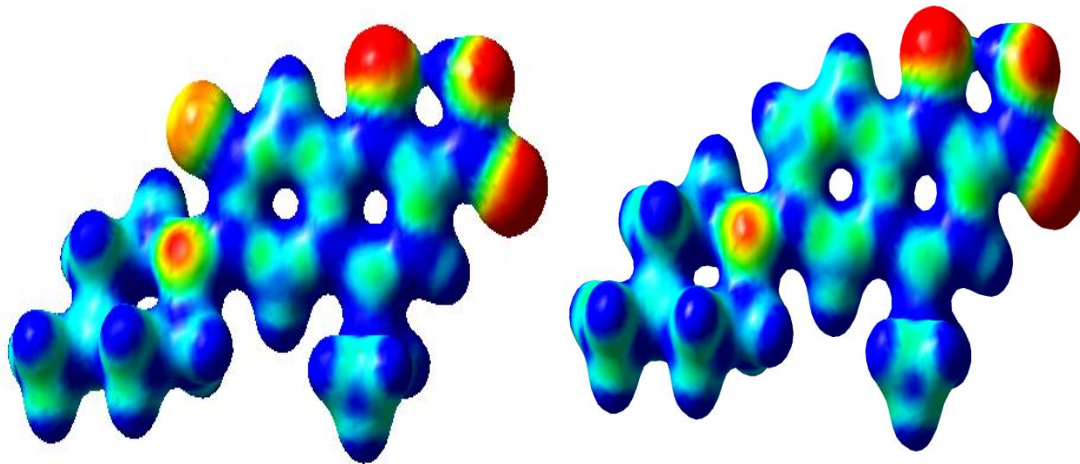


Figura 15.2 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade electrónica para as moléculas em estudo. As regiões com azul e verde são carregadas positivamente e as regiões com maior densidade electrónica são de cor vermelha e amarela. As superfícies foram todas mapeadas com ESP e a densidade electrónica tirada da densidade SCF, com um isovalor de 0,04. Na Figura está representada a pefloxacina de F (à esquerda) e de H (à direita).

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de Fluorquinolonas.

Composto	N1	C2	C3	C4	C4'	C5	C6	C7	C8	C8'
Ciprofloxacina (F)	-0.405	0.145	-0.311	0.483	-0.059	-0.209	0.376	0.160	-0.256	0.165
Ciprofloxacina (H)	-0.409	0.145	-0.30	0.511	-0.201	-0.099	-0.266	0.266	-0.288	0.217
Moxifloxacina (F)	-0.407	0.149	-0.308	0.508	0.171	-0.189	0.374	0.085	0.404	0.121
Moxifloxacina (H)	-0.411	0.150	-0.298	0.491	-0.180	-0.122	-0.257	0.141	0.388	0.132
Sparfloxacina (F)	-0.408	0.152	-0.305	0.505	-0.224	0.202	0.311	0.085	0.450	0.143
Sparfloxacina (H)	-0.412	0.152	-0.304	0.505	-0.239	0.269	-0.0327	0.145	0.437	0.154
Pefloxacina (F)	-0.404	0.143	-0.303	0.506	-0.170	-0.189	0.333	0.260	-0.184	0.159
Pefloxacina (H)	-0.407	0.143	-0.304	0.503	-0.167	0.110	-0.244	0.231	-0.319	0.238

Tabela 9 – Distribuição de cargas para as fluoroquinolonas em estudo, calculadas pela teoria B3LYP/6-311++G(d,p)

Bibliografia

Aminimanizani, A., Beringer P. and Jelliffe, R. (2001). Comparative Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Newer Fluoroquinolone Antibacterials. *Clinical Pharmacokinetics*. 40(3), pp. 169-182.

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

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

Ball, P. (1999). *New fluoroquinolones: real and potential roles*. Current Infectious Disease Reports. 1, pp. 470-9.

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

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

Chu, D. T. W. and Fernandes, P.B. (1989). *Structure-Activity Relationships of the Fluoroquinolones*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 33(2), pp. 131-135.

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

Cunha, B.A. (2001). Intravenous to oral antibiotic switch therapy. *Journal Proux Science*. 37(5), pp. 311-319.

Domagala, J.M. (1994). *Structure-Activity and Structure-Side-Effect Relationships for the Quinolones 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. (1986). *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.

El-Gawad A., Soliman O., Barker S., Girgis G. (2013). Formulation and physical characterization of a novel sustained-release. Ophthalmology Research. *An International Journal*. 1(1), pp. 1-22.

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

Fukuda H., Hiramatsu K. (1999). *Primary targets of fluoroquinolones in Streptococcus pneumoniae*. Antimicrobe Agents Chemother. 2(1), pp. 38-55.

Gaussian03. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. (26) Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.

Hooper, D.C. (1998). Clinical applications of quinolones. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1400(6), pp. 45-61.

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e dos Produtos de Saúde I.P.
Disponível em
<http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=19258&tipo_doc=rcm>. [Consultado em 30/06/2013 b].

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e dos Produtos de Saúde I.P.
Disponível em
<http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=1820&tipo_doc=rcm>. [Consultado em 30/06/2013 a].

Lee, M. K. And Kanatani, M. S. (1999). Quinolones: which generation for which microbe? *Western Journal Of Medicine*. 170(6), pp. 359-361.

Monique, I., Andersson and MacGowan, P. (2003). *Development of the quinolones*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 51, pp. 1-11.

Oliphant, C. M. and Green, G. M. (2002). *Quinolones: A comprehensive Review*. American Academy of Physicians. 64(3), pp. 455-464.

Oliveira, R. and Pereira, T. A. (2010). Quinolonas. *Cadernos Otorrinolaringologia*. pp. 1-9.

Osswald, W., Guimarães, S. (2001). *Terapêutica Medicamentosa e suas Bases Farmacológicas*. Porto, Edições Porto Editora.

Salvador, A. J. (2012). *Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais das fluoroquinolonas de 3ª e 4ª gerações*. Universidade Fernando Pessoa.

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

Turnidge J. (1999). *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. *Drugs*. 58, pp 29-36.

Efeito do substituinte “-F” nas propriedades electrónicas e estruturais de Fluorquinolonas.

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.

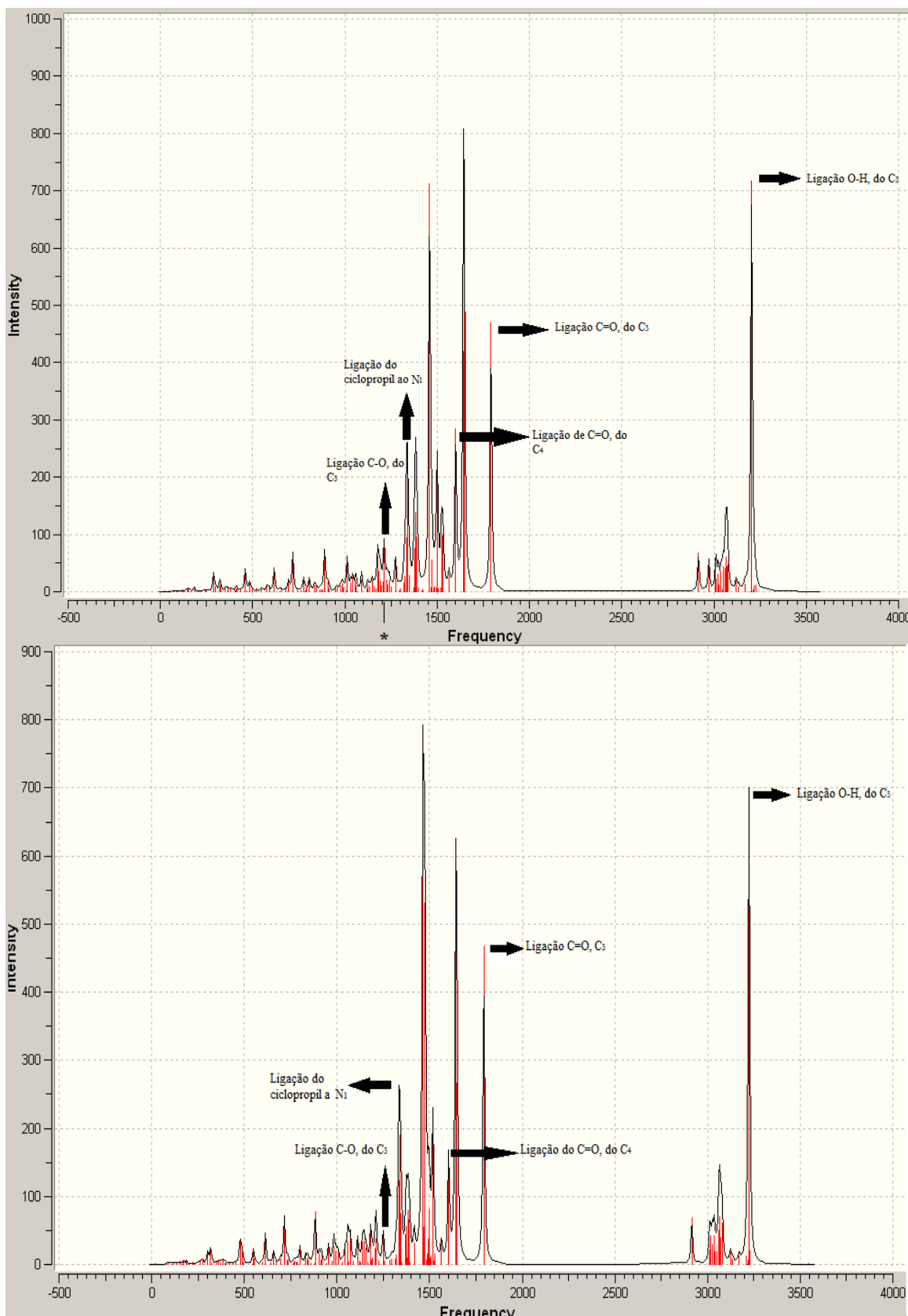
Walker, R.C.; *The fluoroquinolones*. Symposium on Antimicrobial Agents-Part XIII, 1999. 74, pp. 1030-1037.

ANEXOS

A.1- Tabelas para a moxifloxacina F e H substituídas com dados acerca das suas vibrações

Moxifloxacina(F)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1792,34	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3223,47	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1249,1	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	1337,9	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1602,71	Estiramento	Forte

Moxifloxacina(H)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1791,41	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3204,01	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1212,85	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	1389,75	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1602,2	Estiramento	Forte

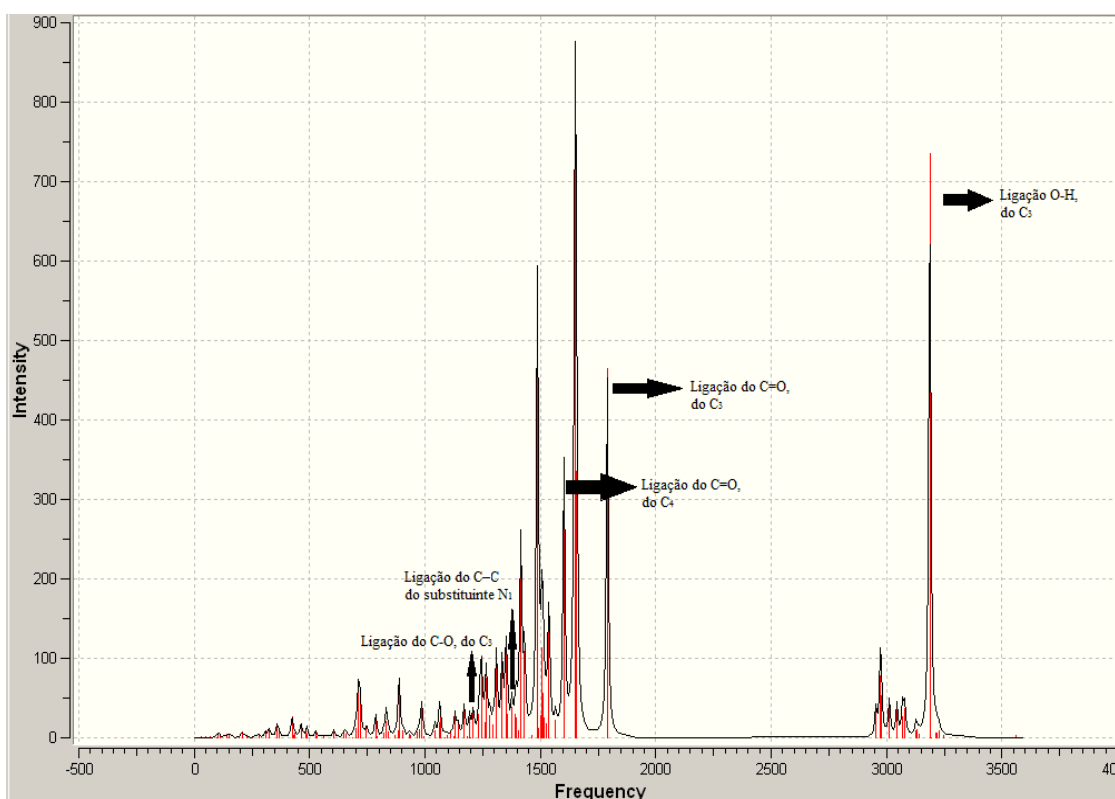
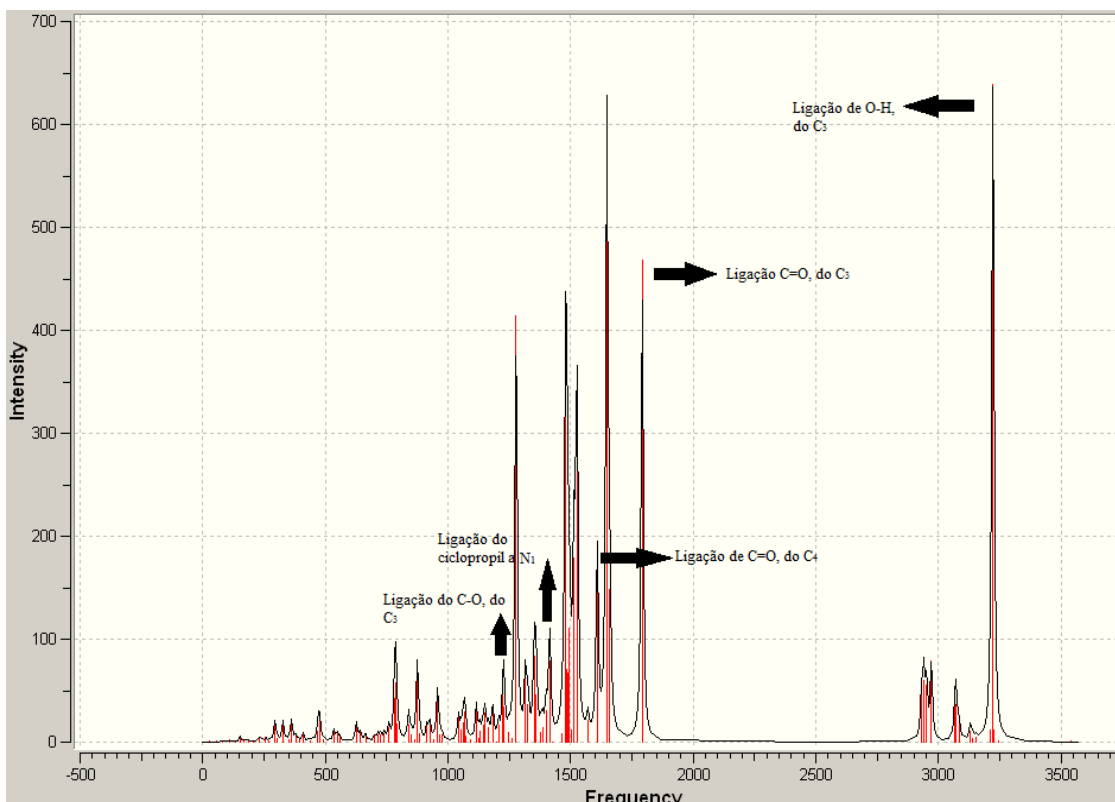


A.2 – Espectros de infra-vermelho para a moxifloxacina F(em cima) e H(em baixo) substituídas.

A.3 - Tabelas para a ciprofloxacina F e H substituídas com dados acerca das suas vibrações

Ciprofloxacina(F)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1792,03	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3222,33	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1224,87	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	1400,4	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1608,41	Estiramento	Forte

Ciprofloxacina(H)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1790,15	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3187,55	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1233,91	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	1391,78	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1602,2	Estiramento	Forte



A.4 – Espectro infra-vermelho para a ciprofloxacina F (em cima) e H (em baixo) substituídas.

A.5- Tabelas para a sparfloxacina F e H substituídas com dados acerca das suas vibrações

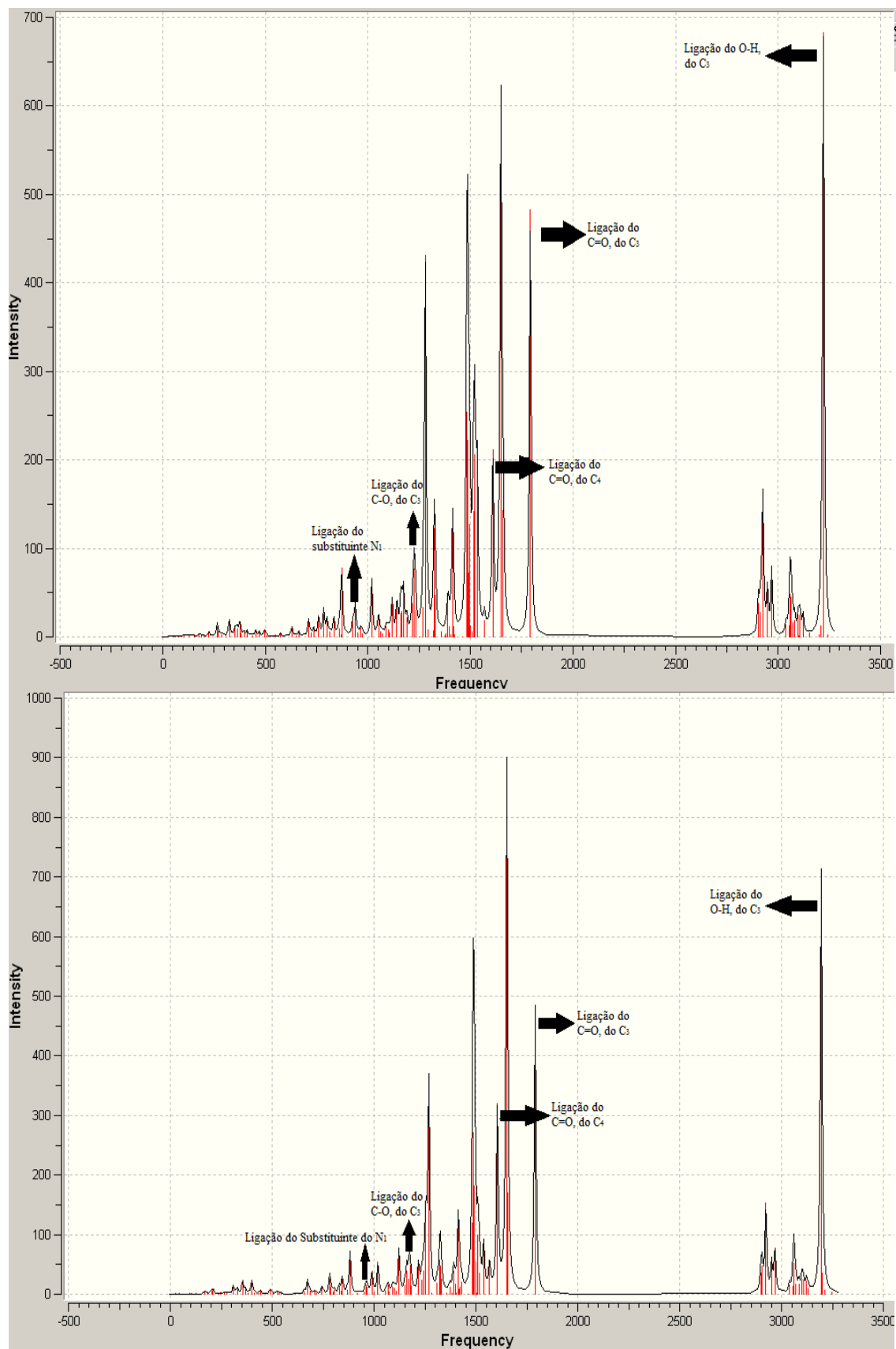
Sparfloxacina(F)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1792,61	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3248,92	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1203,02	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	1203,02	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1595,04	Estiramento	Forte

Sparfloxacina(H)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1791,28	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3229,49	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1234,69	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	1234,69	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1594,33	Estiramento	Forte

A.6- Tabelas para a pefloxacina F e H substituídas com dados acerca das suas vibrações

Pefloxacina(F)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1792,39	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3221,15	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1226,98	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	938,804	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1609,47	Estiramento	Forte

Pefloxacina(H)	Frequência	Tipo de ligação	Intensidade
C=O, C ₃	1791,16	Estiramento	Forte
O-H, C₃	3195,113	Estiramento	Forte
C-O, C ₃	1217,96	Estiramento	Forte
N₁-substituinte(C=C)	961,056	Estiramento	Forte
C=O, C ₄	1605,58	Estiramento	Forte



A.7- Espectro infra-vermelho da pefloxacina F (em cima) e H (em baixo) substituídas.