UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ- REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIÊNTIFÍCA

MODELAGEM MOLECULAR DA INTERCONVERSÃO DE ISÔMEROS DA ISOCROMOFILONA VI

Bolsista: Aristeu Souza da Fonseca, CNPq

MANAUS
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ- REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIÊNTIFÍCA

RELATÓRIO FINAL- PIB-E/0055/2012

MODELAGEM MOLECULAR DA INTERCONVERSÃO DE ISÔMEROS DA ISOCROMOFILONA VI

Bolsista: Aristeu Souza da Fonseca, CNPq
Orientador: Profº Dr. Kelson Mota Teixeira de Oliveira

MANAUS
2013

Conteúdo

1. OBJETIVOS.....4

1.1. Objetivo Geral.....4
1.2. Objetivos Específicos.....4

2. RESUMO.....5

3. INTRODUÇÃO.....6

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....7

5. METODOLOGIA

4.1. Fundamentação Teórica.....9

4.2. Ferramental Utilizado.....10

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....11

7. CONCLUSÃO.....12

8. REFERÊNCIAS.....13

CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.....,.....14

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo geral:

Objetivo geral: Modelar, via mecânica quântica molecular, os epímeros da isocromofilona VI e calcular a barreira de interconversão dos isômeros.

1.2. Objetivos específicos:

1. Treinar o aluno no uso de softwares de mecânica quântica molecular, permitindo sua aplicação na modelagem molecular da isocromofilona VI

2. Levantar os dados disponíveis na literatura sobre cálculos teóricos com as estruturas a serem trabalhadas com o objetivo de serem usadas na comparação com os dados teóricos e, concomitantemente, treinar o aluno na pesquisa bibliográfica de bases de dados disponíveis no Portal de Periódicos da CAPES

3. Calcular via mecânica quântica, por meio de metodologia *ab initio,* DFT (Density Functional Theory) e semi-empírica, as estruturas dos epímeros da isocromofilona VI.

4. Calcular a barreira de interconversão dos isômeros e verificar a exequibilidade de isomeria conformacional. Do contrário verificar a possibilidade de isomeria configuracional.

5. Publicar, em nível internacional um trabalho relevante com os resultados obtidos, juntamente com os resultados experimentais obtidos pelo GEMMA, e, em nível nacional, um mínimo de dois trabalhos em congressos e simpósios.

2. RESUMO

O Grupo de Pesquisa em Espectrometria de Massas e Microrganismos da Amazônia (GEMMA), tem desenvolvido pesquisas com fungos, em especial de uma linhagem específica de fungo endofítico. o estudo desta linhagem levou ao isolamento e identificação de ergosterol, isocromofilona VI , isolada do fungo DgC32.2, identificado como *Penicillium* SP.No espectro de RMN de 1H de DgP14-2, da mesma linhagem do fungo, em CDCl3 foram observados alguns sinais correspondentes e que identificam a substância isocromofilona VI, e registrados outros que os duplicam, o que sugere que a amostra é possivelmente uma mistura de epímeros dessa substância. Neste trabalho foi realizado, via mecânica quântica molecular, modelagem computacional com os possíveis epímeros da isocromofilona VI e calculados a barreira de interconversão dos isômeros. A metodologia aplicada consistiu em uma abordagem teórico-computacional, a partir de cálculos mecânico-quânticos em nível, DFT e semi-empíricos, aplicados à molécula isocromofilona VI e seus epímeros. Os resultados apurados de energia conformacional dos isômeros comprovaram a possibilidade de existência de epimeria.

3. INTRODUÇÃO

O estudo químico de metabólitos derivados de fungos com aplicações no tratamento de doenças cardiovasculares e como fonte de antibióticos tem crescido em importância nos últimos anos [1-3,6]. Na UFAM vários desses metabólitos têm sido estudados pelo Grupo de Pesquisa em Espectrometria de Massas e Microrganismos da Amazônia (GEMMA), em especial de uma linhagem específica de fungo endofítico. O estudo desta linhagem levou ao isolamento e identificação de ergosterol, isocromofilona VI e uma isocromofilona não reportada na literatura, isolados do fungo DgC32.2, identificado como *Penicillium* SP .

Destas substâncias isoladas no GEMMA, a isocromofilona VI [4-5] apresentou um interessante sinal em seu espectro de RMN de 1H: o registro de sinais duplicados, aparentemente de um isômero epimérico. Há indícios, pelos sinais do espectro (duplicação de quase todos os sinais de hidrogênio), de que esta epimeria (inversão de um dos centros estereogênicos) esteja sobre o nitrogênio da molécula, sendo assim temos uma possível isomeria conformacional, facilitada pela conjugação envolvendo o par de elétrons não-ligantes do nitrogênio.

A hipótese, entretanto, carece de um modelo teórico que comprove e dê suporte às afirmações, havendo a possibilidade da duplicação do sinal ser devido a outra substância presente. Um cálculo apurado da barreira de interconversão dos possíveis epímeros poderia confirmar ou rechaçar esta hipótese. Alta barreira de interconversão indicará a fraca presença de epímeros. Para tanto gerou-se um modelo teórico-computacional, em nível DFT (teoria densidade funcional) e semi-empírico, para calcular a barreira de interconversão, bem como os dados estruturais dos isômeros, permitindo confirmar ou rechaçar a origem da duplicação do sinal.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Fungos endofíticos são microrganismos que vivem no interior dos tecidos sadios de espécies vegetais sem causar danos aparentes [8]. A importância desses microrganismos está evidenciada nos estudos que avaliam a produção de metabólitos secundários de diversas classes químicas e atividades biológicas [9], especialmente após a descoberta de fungos que podem produzir substâncias semelhantes às das suas hospedeiras [10].

A pesquisa acerca dos metabólitos derivados de fungos endofíticos, apresenta forte justificativa pela sua potencial aplicação no tratamento de doenças cardiovasculares como arteriosclerose e hipercolesterolemia [1-2]. A primeira está relacionada genericamente ao espessamento e endurecimento da parede arterial, sendo a principal causa de morte no mundo ocidental, e a segunda é uma condição que se caracteriza pela presença de taxas elevadas de colesterol no sangue, bem acima dos 200 mg/decilitro, o que afeta um quinto da população brasileira, especialmente as pessoas com mais de 45 anos. Ademais estes metabólicos tem sido reportados como de ampla aplicação em sistemas biológicos [6].

O Grupo de Pesquisa em Espectrometria de Massas e Microrganismos da Amazônia (GEMMA/UFAM) tem dedicado especial atenção a uma linhagem específica de fungo endofítico: DgC32.2, identificado como *Penicillium* sp. O isolamento de substâncias potencialmente ativas dessa linhagem de fungo levou à identificação das estruturas do ergosterol, isocromofilona VI e uma isocromofilona ainda não registrada na literatura científica. Muitos dessas substâncias tem sido alvo de estudos visando entender suas estruturas e aplicação em sistemas biológicos [4-7]

Destas substâncias, a isocromofilona VI (Figura 1) mereceu especial destaque por pertencer a uma subclasse muito interessante de corantes isolados de algumas espécies do gênero *Penicillium*, denominadas isocromofilonas que compõe a classe das azafilonas [6]. Esta nova classe de azafilonas foi reportada na literatura pela atividade em ensaios enzimáticos contra a Acil-CoA (Colesterol aciltransferase) sendo um dos promissores sítios de inibição para o tratamento de arteriosclerose e hipercolesterolemia [2]. A molécula apresenta um átomo de cloro na posição C-5 e uma cadeia lateral 6,5-dimetil-1,3-heptadieno no C-3, adicionalmente contem um anel γ-lactâmico. A coloração destes compostos depende da estrutura química. Em geral as estruturas amarelas são mais hidrogenadas do que as alaranjadas e vermelhas. A presença do grupo amino geralmente aumenta o comprimento de onda no espectro de absorção. O sistema de dois

anéis fundidos e é altamente conjugado contribuindo na propriedade cromófora da substância.

No espectro de RMN de 1H de DgP14-2, da mesma linhagem do fungo, em CDCl3 foram observados alguns sinais correspondentes e que identificam a substância isocromofilona VI, e registrados outros que os duplicam, o que sugere que a amostra é possivelmente uma mistura de epímeros dessa substância. Os deslocamentos químicos da substância bem como as suas correlações foram discutidos. Uma possibilidade é que esta epimeria esteja sobre o nitrogênio da molécula. Dados de RMN de 1H e 13C e suas respectivas correlações foram comparados aos dados da literatura, permitindo a conclusão inicial de que DgP14-2 contém a isocromofilona VI e um epímero desta substância.

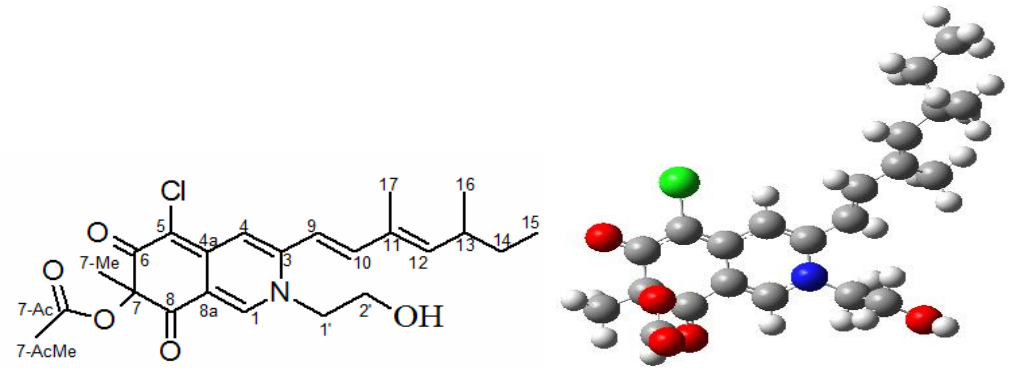


Fig.1- Fórmulas estruturais da Isocromofilona VI

5. METODOLOGIA

5.1. Fundamentação Teórica

Este projeto seguiu os cânones básicos de química teórica computacional, a partir de uma abordagem de mecânica quântica molecular.

A química teórica computacional utiliza computadores como ferramental básico, para predizer a estrutura e a reatividade de compostos e sistemas moleculares. É uma área que tem crescido nas ultimas décadas graças aos enormes avanços de hardware e ao desenvolvimento de eficientes pacotes computacionais.

De forma bem simples, a obtenção de resultados satisfatórios dos cálculos estruturais e eletrônicos de um sistema molecular em química teórica computacional, prevê a resolução da equação de Schroedinger $\hat{\mathrm{H}}\Psi\Psi = E\Psi\Psi$, e a determinação das energias do sistema, em que E é a energia eletrônica e Ψ Ψé a função de onda polieletrônica. O hamiltoniano $\hat{\mathrm{H}}$, o operador energia do sistema, de maneira simplificada, é dado por:

$$\hat{\mathrm{H}} = -\frac{\hbar^2}{2m_e}\sum_{i}^{N_e}\nabla_i^2 \sum_{i}^{N_e}\sum_{j}^{N_n}\frac{Z_I e^2}{4\pi\varepsilon_0 r_{Ii}} + \frac{1}{2}\sum_{i\neq j}^{N_e}\frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0 r_{ij}}$$

em que:

- o primeiro termo e a energia cinética dos N_e elétrons;
- o segundo termo é a energia potencial de atração entre cada elétron e cada um dos N_e núcleos, com o eletron i a uma distancia r_{ij} núcleo I de carga $Z_I e$;
- o termo final e a energia potencial de repulsão entre dois elétrons separados por r_{ij} .

A teoria funcional da densidade (DFT) consiste em uma boa aproximação para descrever as propriedades do estado fundamental de materiais metálicos, semicondutores e isolantes. Frequentemente tem sido usada com sucesso para descrever os materiais padrão tanto quanto os materiais complexos, como proteínas e nanotubos de carbono. O propósito da DFT é descrever um sistema interagente de férmions através de sua densidade, e não através de sua função da onda de muitos corpos. Enquanto a DFT, dá descrição exata das propriedades do estado fundamental, as aplicações práticas são baseadas em aproximações para a energia de troca e correlação.

Conjunto de bases para valências divididas são geralmente designadas como a-bcG, onde cada letra corresponde ao número de funções Gaussianas usadas em cada parte do modelo: a para descrever o orbital da(s) camada(s) interna(s), b e c compreendem os dois orbitais tipo Slater (STO), necessários para descrever o orbital

atômico de valência. Maior esse número, mais preciso o conjunto de base é, embora maior seja o tempo requerido para completar o cálculo. 3-21G é o conjunto de base pequeno frequentemente usado. O conjunto 6-31G produz melhores respostas, se o tempo computacional ainda é aceitável. Estes conjuntos de bases não levam em conta a polarização de orbitais, cuja representação pode ser adicionada às bases e é usualmente designada por asteriscos. Assim 6-31G* significa o uso de funções de polarização para os átomos sem hidrogênio e 6-31G** para todos os átomos. Cálculos envolvendo ânions podem requerer o uso adicional de funções difusas (conjunto de bases ligeiramente modificadas que levam em conta o efeito dos elétrons livres nos ânions), que são indicadas pelo sinal +. Desta forma, 6-31+G* inclui tanto funções de polarização quanto funções difusas. Uma vez obtido o autovalor da energia pela resolução da equação de Schrödinger é possível calcular todas as demais propriedades estruturais e eletrônicas do sistema proposto neste projeto.

5.2. Ferramental Utilizado

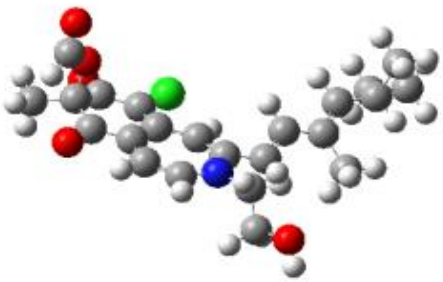
Os cálculos foram executados em PC, usando processadores INTEL Quadcore™ (8 GB RAM), em plataforma Debian LINUX (Versão 5.0). Foi utilizado o pacote Gaussian 03W™ e 98W™, e tendo como visualizador gráfico o programa Gauss03 View™. Foi utilizado a abordagem DFT (RB+HF+LYP), com base 6-31G e funcional b3Lyp.

A modelagem do sistema isocromofilona VI seguiu à realização das seguintes etapas metodológicas: rotina de cálculo de frequência e análise conformacional dos isômeros e obtenção das configurações mais estáveis energeticamente, tabelamento e correlação das principais propriedades estruturais dos epímeros, cálculo da barreira de interconversão dos epímeros por meio de coordenada de reação e QSAR.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise experimental da Isocromofilona VI apresentou em seu espectro uma duplicação de quase todos os sinais do hidrogênio, um indício claro de epimeria, conformacional ou configuracional. Cálculos realizados com as estruturas *cis* e *trans* resultaram, como esperado, que a energia da estrutura *cis* é maior do que a da *trans* (Tabela 1), havendo uma maior dispersão de carga nesta última estrutura. O estudo do estado de transição, mostrou um valor razoável na barreira de interconversão entre os epímeros, o que aliados aos valores de energia de cada isômero, apesar de estarem bem próximos - e fortes indicadores que os epímeros são possíveis para a molécula Isocromofilona VI, provavelmente não permitem a interconversão livre entre as estruturas.

Tabela 01. Dados energéticos dos epímeros

	Estrutura Cis	**Estrutura Trans**
E(RB+HF-LYP)	**-1744,625**	**-1783,274**
∆E(a.u)	**38,749**	
MD (Debye)	**12,9590**	**13,1001**
Conformação		

7. CONCLUSÃO

Os resultados até o presente momento analisados fornecem um favorável indício que é possível a existência de isomeria conformacional. O cálculo do estado de transição da estrutura, com valor razoável de energias entre os epímeros, porém não permite afirmar que a duplicação do sinal de RMN seja devido à presença de epímeros *cis* e *trans* no sistema Isocromofilona VI. É, portanto, possível, que o sinal seja originário de outra substância presente no sistema. O que demanda novas incursões experimentais para elucidação.

8. REFERÊNCIAS

[1] TEIXEIRA, M. H.; DA VEIGA, G. V.; SICHIERI, R. **Arq Bras Endocrinol Metab**. (2007), 51/1.

[2] Revista de Angiologia e Cirurgia Vascular - SBACV/RJ - Vol. 10 (2001) Vol. Especial.

[3] CHIDANANDA, C.; Sclerotiorin, from Penicillium frequentans, a potent inhibitor of aldose reductase. **Biotechnology Letters** .vol. 28(20) (2006).

[4] ARAI, N.; SHIOMI, K.; TOMODA, H.; TABATA, N.; YANG, D. J. MASUMA, R.; KAWAKUBO, T.; OMURA, S. 1995. Isochromophilones III ~ VI, Inhibitors of Acyl-CoA : Cholesterol Acyltransferase Produced by Penicillium multicolor FO-3216. **The Journal of antibiotics.** 48(7), (1995) 696-702.

[5] LUCAS, E. M.F.; CASTRO, M. C. M.; TAKAHASHI, J. A.; **Braz. J. Microbiol**. vol.38(4), (2007) p.785-789.

[6] OSMANOVA, N.; Azaphilones: a class of fungal metabolites with diverse biological activities. **Phytochemistry Reviews**, 9 (2) (2010).

[7] YANG, Shu-Wei, et Al. Sch 1385568, a new azaphilone from Aspergillus sp. **The Journal of Antibiotics**. 62 (2009) 401.

[8]TAN, R.X.; ZOU, W.X. Endophytes: a rich source of functional metabolites. Nat. Prod.

[9]HAWKSWORTH, D.L. Fungal diversity and its implications for genetic resource collections. Studies in Mycology 2004, 50: 9-18.

[10] ZHANG, W.; WENDEL, J. F.; & CLARK, L. G. Bamboozled again! Inadverted isolation of fungal rDNA sequences from bamboos (Poaceae: Bambusoideae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 8(2): 205-217, 1997.

9. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

Nº	Descrição	Ago 2012	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2013	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
	Meta 1/ Treinamento e familiarização com os softwares de mecânica quântica molecular	X	X	X									
	Meta 2/ Levantamento bibliográfico sobre a molécula e Quím. Teórica	X	X	X	X	X	X						
	Meta 3/ Levantamento das estruturas dos isômeros da isocromofilona VI			X	X	X							
	Meta 4/ Rotina de cálculo de freqüência e análise conform. dos isômeros e obtenção das config. mais estáveis energeticamente				X	X	X						
	Meta 5/ Tabelamento e correlação das principais propriedades estruturais dos epímeros.					X	X	X					
	Meta 6/ Calcular a barreira de interconversão dos epímeros por meio de coordenada de reação e/ou QSAR							X	X	X	X		
	Meta 7/ Publicação dos resultados em nível nacional e internacional. Elaboração do Resumo e										X	X	X