

## Artigo

**Interação entre o Dímero de Apocinina e Ciclodextrina**

Souza, A. R.; Morgon, N. H.\*

Rev. Virtual Quim., 2016, 8 (2), 417-424. Data de publicação na Web: 20 de março de 2016

<http://rvq.sbq.org.br>**Interaction between Apocynin Dimer and Cyclodextrin**

**Abstract:** In this work, it was studied the process of interaction between the Apocynin Dimer (**DiApocynin - DiApo**) and  $\alpha$ ,  $\beta$  or  $\gamma$  Cyclodextrin (**CD**). All processes were described considering the translational and rotational movements. The translational movement was considered along the z-axis followed by simultaneous rotational (circular) movements (from 0 to 360° in intervals of 1.0°) of the Apocynin Dimer around its center of mass. It were generated molecular structures in these processes and the calculations concerning the conformational analysis of  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ -CD · · DiApo were carried out using the PM3 semiempirical methodology. To the most stable molecular structures to  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -CD, according to statistical thermodynamic analysis, were obtained the interaction energies of -5,251; -63,012 e -65,637 kJ.mol<sup>-1</sup> at ONIOM2(B3LYP/6-31G(d):PM3) level of theory, respectively.

**Keywords:** Electronic and Molecular Structures; Conformational and Population Analysis; DiApocynin; Cyclodextrin.

**Resumo**

Neste trabalho, foi estudado o processo de interação entre o dímero de Apocinina (**DiApocinina - DiApo**) e Ciclodextrina (**CD**) nas formas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . Todos os processos foram descritos considerando-se os movimentos translacionais e rotacionais. O movimento translacional foi considerado ao longo do eixo-z seguido de movimentos rotacionais simultâneos (circulares) (de 0 a 360° em intervalos de 1,0°) do dímero de Apocinina ao redor de seu centro de massa. Considerando-se o grande número de estruturas moleculares geradas durante este processo, fez-se necessário análise conformacional para os diferentes complexos de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD · · DiApo. Para isto utilizou-se o método semiempírico PM3 na otimização das geometrias e análises vibracionais harmônicas. Nas estruturas mais estáveis, para os complexos com as formas  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ -CD, selecionadas de acordo com as análises de termodinâmica estatística, calculou-se as energias de interação no nível de teoria ONIOM2(B3LYP/6-31G(d):PM3), obtendo-se os valores de: -5,251; -63,012 e -65,637 kJ.mol<sup>-1</sup>, respectivamente.

**Palavras-chave:** Estruturas Eletrônicas e Moleculares; Análises Conformacional e Populacional; DiApocinina; Ciclodextrina.

\* Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Caixa Postal: 6154, CEP 13083-970, Campinas-SP, Brasil.

✉ [morgon@iqm.unicamp.br](mailto:morgon@iqm.unicamp.br)

DOI: [10.5935/1984-6835.20160031](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160031)

## Interação entre o Dímero de Apocinina e Ciclodextrina

Aguinaldo R. de Souza,<sup>a</sup> Nelson H. Morgon<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Caixa Postal: 6154, CEP 13083-970, Campinas-SP, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, CEP 13083-970, Campinas-SP, Brasil.

\* [morgon@iqm.unicamp.br](mailto:morgon@iqm.unicamp.br)

*Recebido em 20 de março de 2016. Aceito para publicação em 20 de março de 2016*

1. Introdução
2. Metodologia Computacional
3. Resultados e Discussão
4. Conclusões

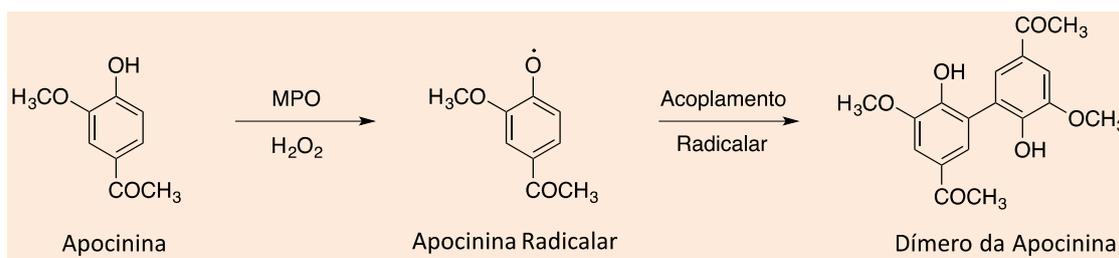
### 1. Introdução

Apocinina (Ap), também conhecida com acetovanilona, é um composto orgânico natural, estruturalmente relacionado a vanilina, podendo ser obtida de uma variedade de plantas. Ela tem sido amplamente estudada devido ao grande número de propriedades farmacológicas,<sup>1</sup> principalmente pelo fato de ser um eficiente inibidor do complexo NADPH oxidase,<sup>2-4</sup> pois a produção excessiva de espécies oxidantes reativas via NADPH oxidase apresentam implicações para uma grande diversidade de enfermidades.

Entre outras aplicações, a Apocinina tem sido recomendada no tratamento de arteriosclerose, pois age bloqueando a produção de espécies reativas de oxigênio

(radicais livres).<sup>5</sup> A Apocinina em leucócitos atua como uma pró-droga, ou seja, é ativada pela mieloperoxidase resultando na formação do dímero correspondente (a DiApocinina), este com uma especificidade farmacológica mais relevante.<sup>6</sup> O processo de conversão no dímero ocorre por oxidação (via esquema dado pela Fig. 1), e este, como destacado, apresenta uma maior eficiência farmacológica.

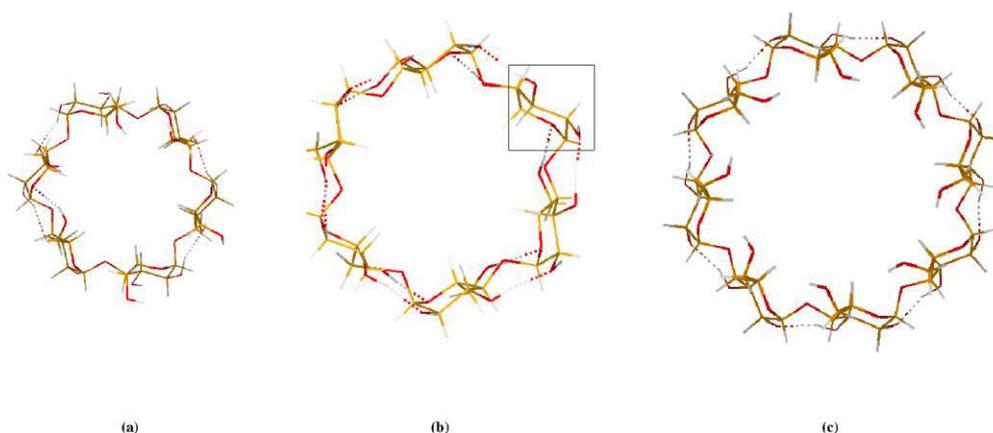
Tal importância foi destacada quando Johnson e colaboradores demonstraram que a capacidade inibitória da Apocinina estava ligada à sua prévia oxidação mediada pela peroxidase levando à formação do dímero.<sup>7</sup> Atualmente, não apenas a Apocinina, mas também seu dímero tem sido sintetizados e usados em modelos experimentais em uma variedade de aplicações.<sup>2</sup>



**Figura 1.** Formação do Dímero de Apocinina

As Ciclodextrinas (**CD**) fazem parte de uma família de compostos construídos a partir de moléculas de açúcar formando um anel (Fig. 2). Este arranjo espacial, bem como os grupos funcionais que as constituem, permitem a

construção de cavidades com características bem peculiares. Na parte interna da cavidade das CDs há um caráter relativamente hidrofóbico, enquanto que na superfície da parte externa há caráter hidrofílico.



**Figura 2:** Estruturas moleculares das (a)  $\alpha$ , (b)  $\beta$  e (c)  $\gamma$  Ciclodextrinas, observando-se em destaque na  $\beta$ CD a unidade de glicose

Devido ao caráter relativo apolar do interior da cavidade, em comparação com o caráter polar no exterior, as CDs podem formar complexos de inclusão com uma variedade de moléculas "hóspedes" (especialmente fármacos), predominantemente graças às ligações de hidrogênio. As moléculas encapsuladas pela CD podem ter suas propriedades físicas, químicas ou biológicas alteradas.<sup>8-10</sup> Assim, elas (as CDs) podem favorecer propriedades como solubilidade e biodisponibilidade de tais compostos, servindo nestes casos como transportadores de fármacos.<sup>11</sup>

Muito das propriedades físico-químicas

das diferentes ciclodextrinas deve-se às suas dimensões. De um modo geral, dos resultados de raios-X, obtém-se valores de diâmetros médios das cavidades (em Å) iguais a 4,5; 6,0 e 8,5 para a parte interior e 5,3; 6,5 e 8,5 para a parte exterior, para a  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD, respectivamente.

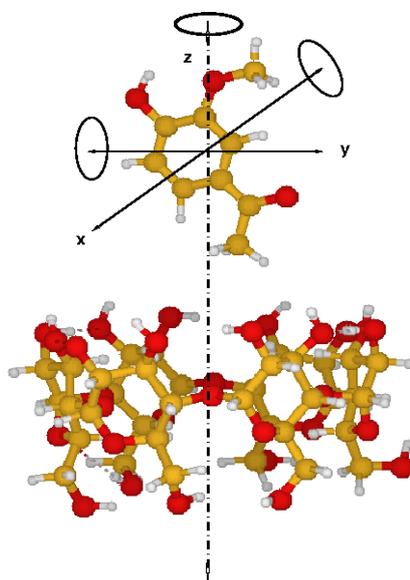
Neste trabalho, utilizando cálculos teóricos de estrutura eletrônica, estudou-se o processo da inclusão do dímero da Apocinina em estruturas de Ciclodextrina, nas suas formas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . A importância do trabalho ampara-se no fato de que as cavidades de Ciclodextrina podem ser excelentes veículos de transporte de drogas no corpo humano.

## 2. Metodologia Computacional

Com o objetivo de compreender em mais detalhes como a molécula do dímero de Apocinina interage com as Ciclodextrinas, nas formas  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , procedeu-se estudos de estrutura eletrônica considerando-se as formas mais estáveis do complexo de DiApo · CD. Para isto desenvolveu-se um código computacional que contemplasse o processo de inserção do fármaco através de movimentos translacionais (ao longo de um

eixo preferencial) seguido por movimentos rotacionais (circulares) simultâneos nos planos definidos pelos eixos  $xy$ ,  $xz$  e  $yz$ .

O modelo foi inicialmente aplicado ao complexo Apocinina ·  $\beta$ -Ciclodextrina, como descrito por Xing e colaboradores.<sup>8</sup> Neste processo de inclusão, considerou-se o movimento translacional em intervalo de -5 a +5 com incrementos de 1,0 Å ao longo do eixo-z, seguido de movimentos rotacionais de 0 a 360° em intervalos de 1° da Apocinina ao redor de seu centro de massa, como descrito na Fig. 3.



**Figura 3.** Processo de inclusão da Apocinina na Ciclodextrina

A rotação ao longo dos eixos-  $x$ ,  $y$  e  $z$  é definida, respectivamente em termos do produto matricial entre as matrizes de coordenadas cartesianas e de rotação dada por:

$$\mathbf{C}' = \mathbf{R} \mathbf{X} \mathbf{C} \quad (1)$$

onde  $\mathbf{C}$  e  $\mathbf{C}'$  são as matrizes de coordenadas cartesianas original e rotacionada por um ângulo  $\theta$ , respectivamente, e dadas por:

$$\mathbf{C} = \begin{pmatrix} x \\ y \\ z \end{pmatrix} \text{ e } \mathbf{C}' = \begin{pmatrix} x' \\ y' \\ z' \end{pmatrix}$$

e  $\mathbf{R}$  as matrizes de rotação em torno dos eixos  $x$ ,  $y$  e  $z$ , respectivamente e representadas por:

$$\mathbf{R}_x = \begin{pmatrix} \cos \theta & -\sin \theta & 0 \\ \sin \theta & \cos \theta & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad \mathbf{R}_y = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \theta & -\sin \theta \\ 0 & \sin \theta & \cos \theta \end{pmatrix} \quad \mathbf{R}_z = \begin{pmatrix} \cos \theta & 0 & -\sin \theta \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin \theta & 0 & \cos \theta \end{pmatrix}$$

Este procedimento gerou 3.654 estruturas moleculares, que foram otimizadas usando o método semiempírico PM3. As geometrias otimizadas foram confirmadas pela análise vibracional harmônica, nesta mesma metodologia computacional. Utilizando-se as

energias eletrônicas totais de cada confômero na geometria de equilíbrio procedeu-se à análise estatística, afim de quantificar a contribuição individual destes confômeros, como descrito pela Eq. 2:

$$P_i = \frac{e^{-\Delta(E_i)/RT}}{\sum_{i=1}^N e^{-\Delta(E_i)/RT}} \quad (2)$$

onde  $P_i$  e  $E_i$  são a população e a energia do  $i$ -ésimo confômero, respectivamente à temperatura  $T$  de 298,15 K.

Nas estruturas de valor mais alto de  $P_i$ , considerando-se as diferentes formas de

Ciclodextrinas, efetuou-se cálculos no nível de teoria ONIOM2 afim de se obter as respectivas energias de interações. A energia do sistema no modelo de duas camadas utilizado é dada pela Eq. 3:

$$E_{\text{ONIOM2}} = E_{\text{SR:PM3}} - E_{\text{MOD:PM3}} + E_{\text{SR:B3LYP/6-31G(d)}} \quad (3)$$

onde  $E_{\text{SR:PM3}}$  refere-se à energia do Sistema Real (SR) - DiApo · · · CD, obtida no nível mais baixo de teoria descrito pelo método semiempírico PM3;  $E_{\text{MOD:PM3}}$  e  $E_{\text{SR:B3LYP/6-31G(d)}}$  são as energias do Sistema Modelo (MOD) - DiApo, determinadas nos níveis de teoria

mais baixo (PM3) e mais alto (B3LYP/6-31G(d)), respectivamente. Assim,  $E_{\text{ONIOM2}}$  é uma aproximação para a energia calculada para o Sistema Real no nível B3LYP/6-31G(d).

As energias de interações são calculadas a partir da Eq. 4:

$$E[\text{DiApo} \cdot \cdot \cdot \sigma\text{-CD}] \approx E[\text{DiApo}] + E[\sigma\text{-CD}] \quad (4)$$

onde  $E[\text{DiApo} \cdot \cdot \cdot \sigma\text{-CD}]$  é a energia eletrônica total dos complexos (DiApo · · · CD) com maior valor percentual de população.  $E[\text{DiApo}]$  e  $E[\sigma\text{-CD}]$  as energias do Dímero de Apocinina e das Ciclodextrinas,

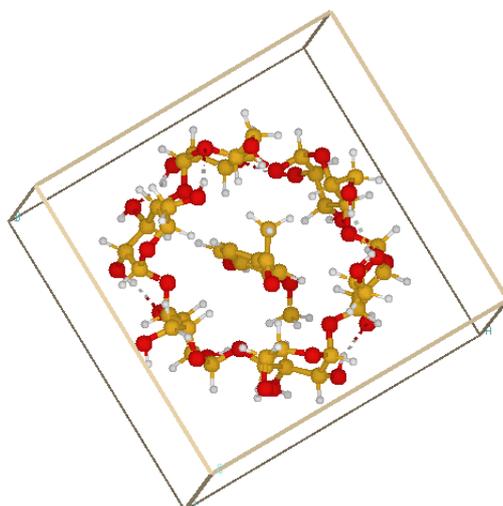
respectivamente.

Todos os cálculos foram efetuados utilizando-se o Programa Gaussian09.<sup>12</sup>

### 3. Resultados e Discussão

No processo de validação do modelo computacional, utilizou-se o encapsulamento da Apocinina em  $\beta$ -CD. Das 3.654 estruturas moleculares geradas considerando-se este processo de inclusão ao longo do eixo-z e da rotação ao redor de seu centro de massa, a estrutura descrita na Fig. 4, com  $P = 37,3\%$ , mostrou ser a mais estável. A energia de

interação no nível de teoria ONIOM2(B3LYP/6-31G(d):PM3) corresponde a um valor de  $52,14 \text{ kJ.mol}^{-1}$ . Este valor é comparável ao valor de  $55,51 \text{ kJ.mol}^{-1}$  obtido por Xing e colaboradores<sup>8</sup> utilizando o funcional e conjunto de funções de base B3LYP e 6-31G\*, respectivamente. Deve-se observar a estreita concordância entre os valores de energia de interação entre os dois trabalhos. Isto demonstra que o procedimento desenvolvido por nós, reproduziu as mesmas estruturas de menor energia obtidas por Xing e colaboradores.



**Figura 4:** Processo de inclusão da Apocinina em  $\beta$ -Ciclodextrina

Validado o procedimento através do estudo com a Apocinina, procedeu-se de modo análogo ao seu dímero. Na Tabela 1 estão os valores da contribuição para energia

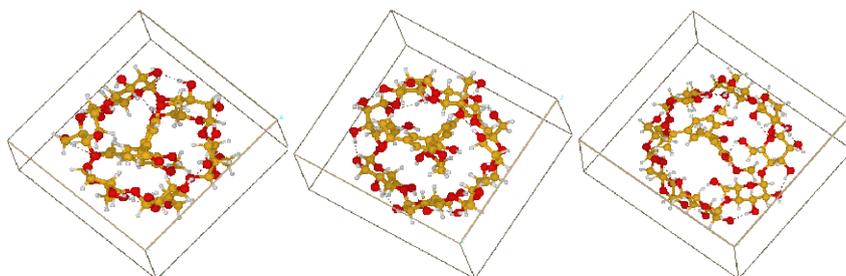
(em %) das cinco estruturas mais importantes para os complexos DiApocinina e CDs obtidos com os cálculos PM3.

**Tabela 1.** Contribuição para energia (em %) das cinco estruturas mais importantes no sistema DiApo $\cdot\cdot$ -CD, obtidas através de cálculo PM3

DiApo $\cdot\cdot$ - $\alpha$ -CD	DiApo $\cdot\cdot$ - $\beta$ -CD	DiApo $\cdot\cdot$ - $\gamma$ -CD
99,55	97,87	50,19
0,41	0,69	19,50
0,03	0,63	6,35
0,02	0,57	4,35
0,01	0,14	4,01

Observa-se que à medida que aumenta-se a cavidade, indo da Ciclodextrina de seis ( $\alpha$ ) para sete ( $\beta$ ) e depois para oito anéis ( $\gamma$ ), obtém-se um número maior de conformações possíveis para a molécula do dímero dentro da cavidade.

A partir das estruturas otimizadas mais importantes, segundo a Tabela 1 e obtidas com cálculos PM3, reotimizou-se as geometrias moleculares no nível de teoria ONIOM2(B3LYP/6-31G(d):PM3) e o resultado final é apresentado nas Figs. 5a-c.



**Figura 5.** Complexos mais estáveis da inclusão de DiApocinina em: a)  $\alpha$ , b)  $\beta$  e c)  $\gamma$  Ciclodextrinas

Na Tabela 2 estão os valores das energias nas geometrias otimizadas para os sistemas: complexos de DiApo · ·  $\sigma$ -CD,  $\sigma$ -CD e DiApo obtidas nos níveis de cálculos ONIOM2(B3LYP/6-31G(d):PM3), PM3 e B3LYP/6-31G(d), respectivamente.

Pelos valores de  $\Delta E$  relacionados às interações entre o dímero e as ciclodextrinas

observa-se que diferentemente da forma  $\beta$ , tanto  $\alpha$  forma  $\beta$  quanto a  $\gamma$  apresentam estabilidades semelhantes, favorecendo muito pouco essa última. Isto está relacionado à melhor acomodação do fármaco dentro da maior cavidade, estabilizando-o mais.

**Tabela 2.** Contribuição para energia (em %) das cinco estruturas mais importantes no sistema DiApo · ·  $\sigma$ -CD, obtidas através do cálculo PM3

Complexo		
$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
-1150,016	-1150,393	-1150,732

<sup>(a)</sup>  $E[\alpha\text{-CD}] = -1,976$  ;  $E[\beta\text{-CD}] = -2,320$  ;  $E[\gamma\text{-CD}] = -2,656$ .

<sup>(b)</sup>  $\Delta E$  dada pela Eq. 4.

## 4. Conclusões

As estruturas e energias do processo de inclusão do dímero de Apocinina (DiApo) com CD (nas formas  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ ) foram estudadas usando o método ONIOM2(B3LYP/6-31G(d):PM3). As energias de interações indicam que o DiApo tende a entrar na

cavidade das CDs a partir do lado de maior diâmetro. Os valores encontrados para estas energias de interação foram: -5,251; -63,012 e -65,637  $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  para as formas de ciclodextrina  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , respectivamente. Isto mostra que o complexo DiApo · ·  $\gamma$ -CD é ligeiramente mais estável e indicado para um processo mais efetivo de transporte do fármaco pela cavidade.

Observou-se também que à medida que aumenta-se a cavidade, indo da Ciclodextrina de seis ( $\alpha$ ) para sete ( $\beta$ ) e depois para oito anéis ( $\gamma$ ), obtém-se um número maior de conformações possíveis para a molécula do dímero dentro da cavidade.

## Agradecimentos

Agradecemos as facilidades computacionais do Instituto de Química da UNICAMP e do Grid/UNESP, ao apoio financeiro da FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo) e do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

## Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup> Finnemore, H. CXLVI. - The constituents of Canadian hemp. Part I. Apocynin. *Journal of the Chemical Society, Transactions* **1908**, *93*, 1513. [CrossRef]
- <sup>2</sup> Kanegae, M. P. P.; Condino-Neto, A.; Pedroza, L. A.; Alberto.; de Almeida, A. C.; Rehder, J.; da Fonseca, L. M.; Ximenes, V. F. Diapocynin versus apocynin as pretranscriptional inhibitors of NADPH oxidase and cytokine production by peripheral blood mononuclear cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2010**, *393*, 551. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>3</sup> Ximenes, V. F.; Kanegae, M. P. P.; Rissato, S. R.; Galhiane, M. S. The oxidation of apocynin catalyzed by myeloperoxidase: Proposal for NADPH oxidase inhibition. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **2007**, *457*, 134. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>4</sup> Petrônio, M. S.; Zeraik, M. L.; da Fonseca, L. M.; Ximenes, V. F. Apocynin: Chemical and Biophysical Properties of a NADPH Oxidase Inhibitor. *Molecules* **2013**, *18*, 2821. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>5</sup> Peters, E. A.; Hiltermann, J. T.; Stolk, J. Effect of apocynin on ozone-induced airway hyperresponsiveness to methacholine in asthmatics. *Free Radicals in Biology and Medicine* **2001**, *31*, 1442. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>6</sup> Heumüller, S.; Wind, S.; Barbosa-Sicard, E.; Schmidt, H. H.; Busse, R.; Schröder, K.; Brandes, R. P. Apocynin Is Not an Inhibitor of Vascular NADPH Oxidases but an Antioxidant. *Hypertension* **2008**, *51(2)*, 211. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>7</sup> Johnson, D. K.; Schillinger, K. J.; Kwait, D. M.; Hughes, C. V.; Mcnamara, E. J.; Ishmael, F.; O'Donnell, R. W.; Chang, M. M.; Hogg, M. G.; Dordick, J. S.; Santhanam, L.; Ziegler, L. M.; Holland, J. A. Inhibition of NADPH Oxidase Activation in Endothelial Cells by ortho-Methoxy-Substituted Catechols. *Endothelium: Journal of Endothelial Cell Research* **2002**, *9*, 191. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>8</sup> Xing, S. K.; Zhang, C.; Ai, H. Q.; Zhao, Q.; Xhang, Q.; Sun, D. Z. Theoretical study on the interaction schemes of  $\beta$ -cyclodextrin with acetovanillone. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry* **2009**, *8*, 57. [CrossRef]
- <sup>9</sup> Xing, S. K.; Zhang, C.; Ai, H. Q.; Zhao, Q.; Zhang, Q.; Sun, D. Z. Theoretical study of the interactions of  $\beta$ -cyclodextrin with 2'-hydroxyl-5'-methoxyacetophone and two of its isomers. *Journal of Molecular Liquids* **2009**, *146*, 15. [CrossRef]
- <sup>10</sup> Medronho, B.; Valente, A. J. M.; Costa, P.; Romano, A. Inclusion complexes of rosmarinic acid and cyclodextrins: stoichiometry, association constants, and antioxidant potential. *Colloid and Polymer Science* **2014**, *292*, 885. [CrossRef]
- <sup>11</sup> Thatiparti, T. R.; Shoffstall, A. J.; Von Recum, H. A. Cyclodextrin-based device coatings for affinity-based release of antibiotics. *Biomaterials* **2010**, *31*, 2335. [CrossRef] [PubMed]
- <sup>12</sup> Sítio da Gaussian, Inc. Disponível em: <<http://www.gaussian.com>>. Acessado em: 13 Novembro 2014.