

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ESTUDO TEÓRICO DE COMPOSTOS DE PLATINA USADOS NA TERAPIA
ANTI-CÂNCER

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

STANRLEY WILKER TRINDADE BANDEIRA

São Luís (MA) 2017

STANRLEY WILKER TRINDADE BANDEIRA

**ESTUDO TEÓRICO DE COMPOSTOS DE PLATINA USADOS NA TERAPIA
ANTI-CÂNCER**

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal do Maranhão
como pré-requisito para o recebimento
do título de mestre.

Área de concentração: Química Analítica
Orientador: Prof. Dr. Roberto Batista de Lima

São Luís-MA

Aprovada em: _____/_____/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Roberto Batista de Lima (orientador-UFMA)

Prof^ª Dr^ª. Silvete Coradi Guerini (DEFIS/UFMA)

Prof. Dra. Ana Clécia Santos de Alcântara (UFMA)

Dedico este trabalho

*À minha avó Joselina de Lourdes
Trindade (in memoriam).*

Bem-aventurado aquele que teme ao SENHOR e anda nos seus caminhos.

Pois comerás do trabalho das tuas mãos; feliz serás, e te irá bem.

Salmos 128:1,2

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao nosso “Senhor Deus” por ter me concedido saúde e força para superar todos os obstáculos no decorrer de todo o curso.

A minha família, minha irmã Vanessa, André meu cunhado pelo apoio, em especial minha mãe Maria Vitória Trindade, pelo dom da vida e dedicação.

A minha noiva Raquel das Chagas Batista, pelas orações por ter tido paciência, compreensão e ter sido uma companheira nos momentos difíceis, também a sua mãe Teresinha das Chagas Batista, pelas orações e sincero companheirismo.

Ao Prof. Dr. Jaldyr de Jesus Gomes Varela Júnior por me iniciar no meio científico da química teórica.

Ao Prof. Dr. Roberto Batista de Lima, pela dedicação e paciência em sua orientação.

Ao amigo de laboratório pelas valiosas discussões nos momentos de dificuldade: Augusto César Azevedo Silva.

Aos amigos do programa de pós-graduação em química e as novas amizades conquistadas.

A FAPEMA pelo apoio financeiro concedido.

Ao Laboratório de Química Quântica Computacional da UFMA.

RESUMO

O presente trabalho de mestrado foi voltado a examinar por meio de cálculos de química quântica e com base na Teoria do Funcional Densidade (DFT) a interação entre compostos de platina usados na terapia anti-câncer e o DNA. Com base na análise dos fatores que influenciam o processo de ligação entre os complexos de platina e o DNA. Analisou-se todas as bases nitrogenadas do DNA, para a escolha da que apresentaria melhor facilidade de interação com os complexos estudados. Os resultados teóricos mostraram que os diferentes compostos de platina apresentam ligantes que diminuem a toxicidade, ou aumentam a ligação com membranas. Os compostos platinícos, Carboplatina, Iproplatina, Nedaplatina e Oxaliplatina, foram estruturados através do programa GAUSS VIEW 5.0. Em seguida realizou-se a otimização dessas estruturas utilizando-se o programa GAUSSIAN 9.0. Essa otimização utilizou bases extraídas do banco de dados EMSL BASIS SET EXCHANGE. Como resultado dessas otimizações foram extraídos os intervalos HOMO-LUMO, utilizados para caracterizar a estabilidade das moléculas, bem como, as variações de estabilidade, que ocorriam durante as reações de hidrólise, e respectivas ligações com a base GUANINA do DNA. Essa observação, bem como as propriedades termodinâmicas serviu para descrever as toxicidades, apresentadas em literatura.

Palavras-Chave: Compostos de platina, Teoria do Funcional da Densidade, Interação com DNA

ABSTRACT

The present master's work was focused on quantum chemistry calculations and based on the Functional Density Theory (DFT) the interaction between platinum compounds used in anti-cancer therapy and DNA. Based on the analysis of the factors that influence the bonding process between the platinum complexes and the DNA. All the nitrogenous bases of the DNA were analyzed, in order to choose the one that would present better interaction with the studied complexes. The theoretical results showed that the different platinum compounds have binders that decrease toxicity, or increase membrane binding. The platinum compounds, Carboplatin, Iproplatin, Nedaplatin and Oxaliplatin, were structured through the GAUSS VIEW 5.0 software. Then, the optimization of these structures was performed using the GAUSSIAN 9.0 program. This optimization used bases extracted from the EMSL BASIS SET EXCHANGE database. As a result of these optimizations the HOMO-LUMO intervals were used to characterize the stability of the molecules, as well as the stability variations that occurred during the hydrolysis reactions, and their connections with the guanine base of the DNA. This observation, as well as the thermodynamic properties, served to describe the toxicities presented in the literature.

Keywords: Platinum Compounds, Density Functional Theory, DNA Interaction

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. FÓRMULA MOLECULAR DO COMPOSTO CIS-[DIAMINDICLOROPLATINA(II)]	4
FIGURA 2. SÍTIOS DE LIGAÇÃO DA CISPLATINA AO DNA.....	5
FIGURA 3. MODELO DE TRANSFERÊNCIA DE ELÉTRON DNA/GUANINA (HOMO) À CARCINÓGENO (LUMO)	6
FIGURA 4. GAP HOMO-LUMO DE ENERGIA ENTRE MO DA CISPLATINA E TRANSPLATINA	8
FIGURA 5. FORMULA ESTRUTURAL DA CARBOPLATINA	9
FIGURA 6. FORMULA ESTRUTURAL DA NEDAPLATINA	10
FIGURA 7. FORMULA ESTRUTURAL DA OXALIPLATINA	11
FIGURA 8. ESTRUTURAS DAS BASES NITROGENADAS DO ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (DNA).....	23
FIGURA 9. OTIMIZAÇÃO DAS BASES NITROGENADAS DO ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO (DNA).....	25
FIGURA 10. INTERVALO HOMO-LUMO DOS FÁRMACOS OTIMIZADOS	28
FIGURA 11. REAÇÃO DE HIDROLISE DA CARBOPLATINA	29
FIGURA 12. REAÇÃO DE HIDROLISE DA NEDAPLATINA.....	29
FIGURA 13. REAÇÃO DE HIDROLISE DA IPROPLATINA	30
FIGURA 14. REAÇÃO DE HIDROLISE DA OXALIPLATINA.....	30
FIGURA 15. GAP HOMO-LUMO, DAS ESTRUTURAS OTIMIZADAS APÓS A PRIMEIRA HIDROLISE	31
FIGURA 16. GAP HOMO-LUMO, DAS ESTRUTURAS OTIMIZADAS APÓS A SEGUNDA HIDROLISE.	33
FIGURA 17. O GAP HOMO-LUMO DEMONSTRADO ACIMA, MOSTROU O AUMENTO DA CAPACIDADE REATIVA DA NEDAPLATINA, ENQUANTO A IPROPLATINA MOSTROU-SE MAIS ESTÁVEL.	35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. ESTRUTURAS HOMO-LUMO DAS BASES NITROGENADAS DO ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEICO ...	24
TABELA 2. CARGAS ENCONTRADAS NO NITROGÊNIO DA BASE.....	40
TABELA 3. Propriedades termodinâmicas da Guanina.....	41
TABELA 4. Características das ligações do nitrogênio mais reativas da base.....	41
TABELA 5. <i>Estruturas otimizadas e orbitais Homo-Lumo dos fármacos de Cisplatina..</i>	42
Tabela 6. Determinação da energia de Gibbs, após a primeira hidrólise, das moléculas otimizadas.....	46
Tabela 7. Determinação da energia de Gibbs, após a segunda hidrólise, das moléculas otimizadas.....	47
Tabela 8. Representação das moléculas interagidas com o DNA, e os respectivos gap's HOMO-LUMO.....	50
Tabela 9. Distancias entre átomos de Pt-N e ângulos formados entre N-Pt-N.....	52
Tabela 10. Dados obtidos das frequências vibracionais	52
Tabela 11. Dados das energias de ligação, gerados pela primeira hidrolise.....	53
Tabela 12. Dados de energia de ligação, obtidos na formação da segunda hidrólise.....	54
Tabela 13. Dados de energia de ligação, gerados na interação com o DNA.....	54
Tabela 14. Análises de cargas NBO, correlacionadas com gap's HOMO-LUMO, ocorridos ao longo do estudo das moléculas platínicas.....	55
Tabela 15. Representação das moléculas interagidas com o DNA.....	55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 O câncer	1
1.2 A Cisplatina	3
1.3 A ligação com a base nitrogenada do DNA	5
1.4 A eficácia da cisplatina	6
1.4.1 Mecanismo de ação da cisplatina	7
1.5 A Carboplatina	8
1.6 A Nedaplatina	10
1.7 A Oxaliplatina	10
1.8 A Iproplatina	11
2 OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo Geral	12
2.2. Objetivos específicos	12
3. ESTUDO TEÓRICO	13
3.1 Metodologia	13
4. TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE	14
4.1. Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	14
4.4. O Teorema de Hohenberg e Kohn	15
4.5. O método de Kohn – Sham	17
4.6. Aproximações dos Potenciais de Troca e Correlação	19
4.7. Aproximação de Densidade Local (LDA)	20
4.8. Aproximação de Gradiente Generalizado (GGA)	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1 OS DERIVADOS DA CISPLATINA USADOS NA TERAPIA ANTI-CANCER	26
6. CONCLUSÃO	41
7. REFERÊNCIAS	42

1. INTRODUÇÃO

1. 1 O câncer

Desde a descoberta do câncer, essa patologia tornou-se uma preocupação em todo o mundo. O câncer ou neoplasia maligna, é uma das mais agravantes patologias celulares, e também a que mais leva a óbito o portador. Estimativas e estatísticas aumentam a cada ano, revelando o quanto a medicina e a farmacologia ainda precisam avançar para a total erradicação desse mal. Diante desse sério problema, diversas tentativas farmacológicas têm surgido, num esforço incansável de deter não apenas o avanço do tumor, mas a destruição sem agravantes ao paciente. Atualmente, a definição científica de câncer refere-se ao termo neoplasia, especificamente aos tumores malignos (INCA, 2003), como sendo uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células transformadas. Existem quase 200 tipos que correspondem aos vários sistemas de células do corpo, os quais se diferenciam pela capacidade de invadir tecidos e órgãos, vizinhos ou distantes. Estatisticamente, em pesquisa realizada pela Organização Mundial da Saúde, o câncer é a terceira causa de óbitos no mundo com 12%, matando cerca de 6,0 milhões de pessoas por ano. Atualmente, é a segunda causa de mortes por doença no Brasil, estimando-se em 2002, 337.535 casos novos e 122.600 óbitos (MS, 1971, INCA, 2003) .

Apesar de as drogas quimioterápicas serem tóxicas contra células cancerosas, apresentam baixa especificidade e elevada toxicidade, sendo tóxicas para células saudáveis. Isso acontece porque os fármacos, em geral, são moléculas pequenas o suficiente para atravessarem o endotélio em quase todas as regiões do organismo após administrados

sistematicamente, chegando tanto às regiões alvo quanto a outras regiões que não estão relacionadas à doença, originando muito dos efeitos adversos dos medicamentos.

O adoecimento pelo câncer de mama e seu tratamento geram sérias consequências que podem ser temporárias ou permanentes na vida da mulher. A cirurgia mamária, seja ela conservadora ou não, mesmo acompanhada da reconstrução mamária pode ser vivenciada de modo traumático pela mulher, sendo considerada uma mutilação, dependendo da importância dada pela mulher à imagem corporal. O impacto ocasionado pelo câncer na vida da pessoa é enorme, pois além da dor e do desconforto decorrentes da doença e seu tratamento, ocorrem mudanças de ordem psíquica, social e econômica. As perdas econômicas relacionam-se aos custos diretos com a compra de medicamentos. Mulheres com o câncer de mama passam por reflexões e questionamentos sobre a vida pregressa e futura à doença que afetarão diretamente seu modo de vida e seu comportamento em relação à própria saúde. Atualmente, o aumento de opções e tecnologias empregadas no diagnóstico e no tratamento do câncer de mama contribuiu para maior sobrevivência das mulheres. É fundamental o estudo do cotidiano dessas mulheres, sobretudo na sua (re)elaboração da imagem corporal, visando a subsídios à capacitação de profissionais de saúde na promoção da melhoria da qualidade de vida (SANTOS, 2011).

No Brasil, o câncer representa a segunda causa de óbito na população adulta, sendo que, de acordo com as previsões do Instituto Nacional do Câncer, a incidência da doença no ano de 2003 atingiria de 186.155 casos novos em homens e 216.035 em mulheres, com mortalidade de 68.350 e 58.610 casos, respectivamente. Em crianças com idade até 15 anos, as neoplasias malignas mais frequentes em ordem decrescente são leucemias, linfomas, tumores do sistema nervoso central e do sistema simpático, rabdomiossarcomas, tumor de Wilms, retinoblastomas e tumores ósseos. Estima-se uma incidência anual em todo o mundo de 200.000 casos novos de câncer em criança, o que

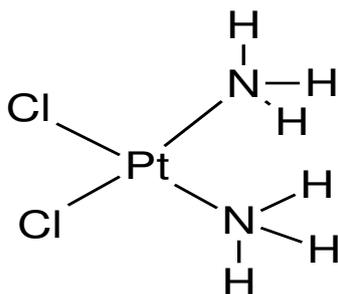
extrapolado para nosso país resultaria a cifra de 6.000 crianças por ano. O tipo mais comum de câncer na criança é a leucemia linfocítica aguda, cuja sobrevivência atual situa-se em torno de 75% dos casos.

1. 2 A Cisplatina

A utilização da quimioterapia no tratamento do câncer tem sido objeto de estudo nas últimas três ou quatro décadas. Apesar disto, o envolvimento de compostos inorgânicos, principalmente aqueles contendo metais, foi muito limitado até a demonstração da atividade anticancerígena de complexos contendo platina por Rosenberg e colaboradores no final dos anos 60 (ROSENBERG,1969, ROSENBERG, 1970). Antes desses trabalhos, a maior parte dos estudos estava sendo voltado no possível potencial carcinogênico destes compostos e não em qualquer propriedade anticancerígena (FURST,1969).

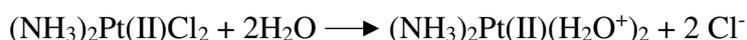
O sucesso na clínica do cis-[diamindicloroplatina(II)] conhecido como Cisplatina inicialmente em pacientes terminais (HIGBY et al,1973) e, posteriormente, em tumores localizados como nos casos de câncer testicular (WALLACE et al ,1974) e ovariano (WILTSHAW et al,1974) , bem como o desenvolvimento de procedimentos clínicos que diminuem a toxicidade renal (CVITKOVIC et al,1977,DE LENA et al,1987), têm revertido a resistência inicial e renovado o interesse na química deste composto e outros estreitamente relacionados (SISPOMCCC, 1991).

Figura 1. Fórmula molecular do composto cis-[diamindicloroplatina(II)]



A cisplatina é utilizada com grande sucesso clínico em diferentes tipos de câncer como: câncer do testículo, câncer do ovário, câncer da bexiga, câncer da cabeça e do pescoço. Além disso, o composto platínico também tem sido utilizado para outros tipos de câncer, como: câncer do pulmão, câncer do esôfago, câncer do colo do útero, neuroblastoma, câncer de mama metastisado e osteossarcoma.

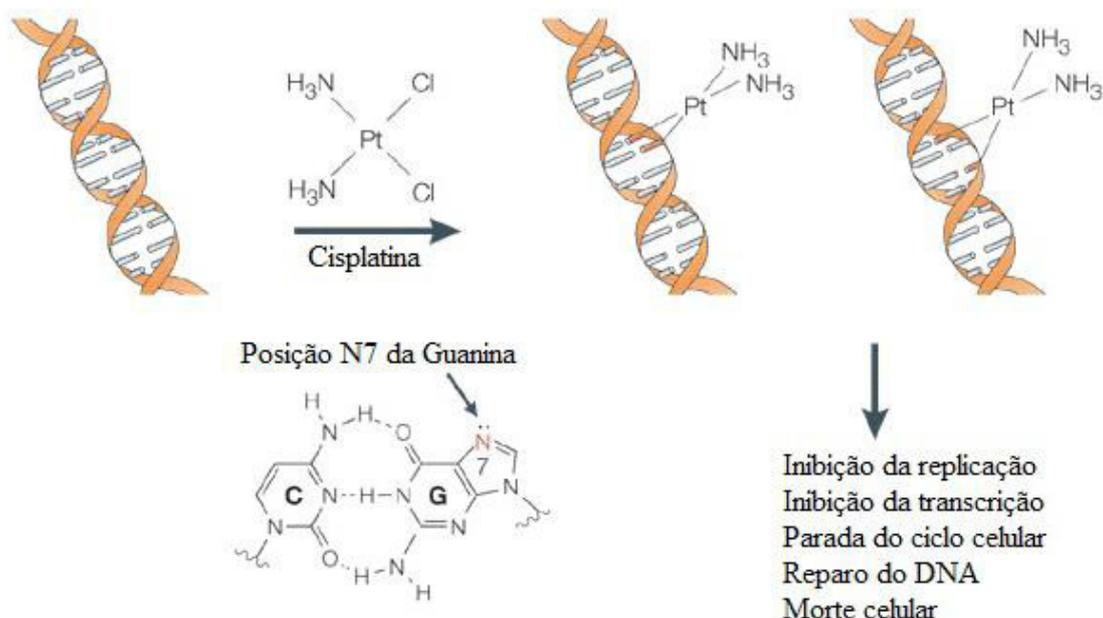
No caso da Cisplatina, o átomo de platina é tetravalente encontra-se complexado com dois átomos de cloro de um lado e no outro estão ligados dois grupos NH₃. Quando presente na corrente sanguínea, a cisplatina encontra-se inalterada, por outro lado, ao inserir-se dentro da célula que possui um meio aquoso ocorre a formação da espécie ativada que é extremamente eletrofílica (H₂O⁺) e ávida por moléculas nucleofílicas:



A cisplatina pode ser considerada um pró-fármaco. Como o isômero cis tem grande atividade biológica, foi proposto que a cisplatina pudesse formar ligações cruzadas com o DNA. As ligações cruzadas formadas com a cisplatina são essencialmente ligações covalentes cruzadas do tipo bifuncional. As ligações cruzadas levam a uma grande distorção da dupla hélice e ao bloqueio da replicação, da transcrição e à saturação da capacidade celular de reparação do DNA. Os azotos N-7 das purinas são os alvos

preferenciais. Neste caso, aproximadamente 1 % de toda a platina existente na célula encontra-se ligada ao DNA.

Figura 2. Sítios de ligação da cisplatina ao DNA

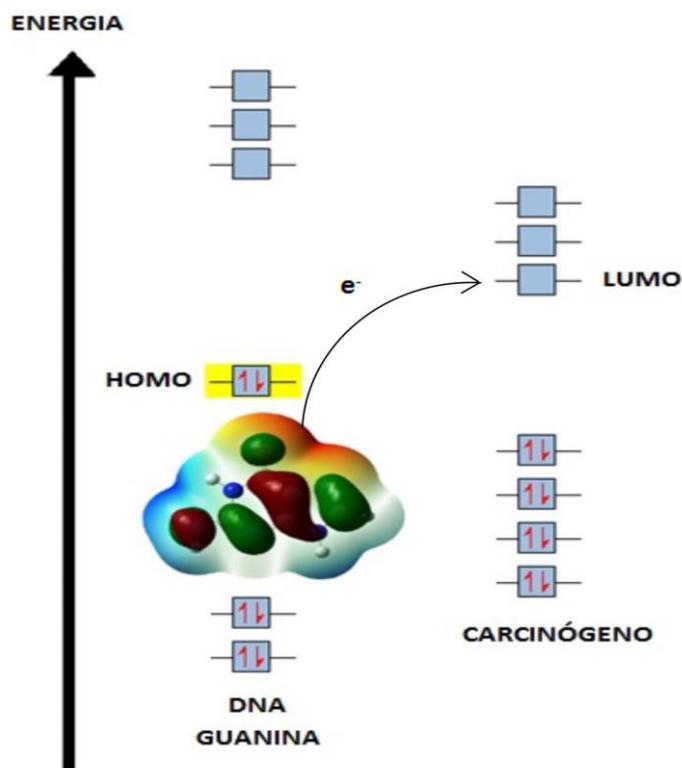


1.3 A ligação com a base nitrogenada do DNA

De acordo com o modelo desenvolvido por Pavão e Leão (LEÃO,2005, PAVÃO, 2001) acerca da interação entre os orbitais moleculares de fronteira das espécies químicas reagentes, HOMO (DNA) – LUMO (Carcinógeno), ressalta-se a ocorrência desta reação por meio da transferência de elétrons do HOMO do DNA para o LUMO do agente carcinógeno. A interação entre as espécies reagentes, DNA-carcinógeno, terá como preferência uma das bases do DNA. Por isso, se faz necessário um estudo sobre qual das bases apresenta maior disponibilidade para doar elétrons. Dentre as bases nucleotídicas,

Adenina, Citosina, Timina, e Guanina, a que apresentar maior valor para o HOMO terá mais facilidade em doar elétrons.

Figura 3. Modelo de transferência de elétron DNA/Guanina (HOMO) à Carcinógeno (LUMO) (SILVA,2014)



1.4 A eficácia da cisplatina

Mesmo com o sucesso dos complexos de platina, estes não estão livres de incomodos semelhantes a outro utilizados em quimioterapia. A resistencia celular, confere diversas situações adversas surgidas durante o tratamento, e uma das mais preocupantes é a toxicidade, em suas variadas apresentações, tais como: nefrotoxicidade, neurotoxicidade, ototoxicidade, náuseas e vômitos. Sua atividade no tratamento é reconhecida para uma variedade de canceres como: os de bexiga, esôfago, vesícula e cabeça. A Cisplatina é um dos mais utilizados agentes terapêuticos contra o câncer

metastático ovariano, metastático testicular e de pescoço. Sendo sua eficácia também reconhecida como coadjuvante no tratamento do câncer de pulmão (MIRANDA,1998).

1.4.1 Mecanismo de ação da cisplatina

A cisplatina se liga ao DNA (ácido desoxirribonucleico) após sofrer hidrólise, o que ocasiona a morte celular por apoptose. As interações com DNA resultam na atividade anticancerígena do complexo. A toxicidade celular, é determinada pela formação dos adutos Pt-DNA, em ligações com o nitrogênio N7. Em teoria, o DNA pode interagir com a platina em qualquer posição onde exista um par de elétrons livres. Entretanto, as ligações com os átomos de oxigênio da pentose (desoxirribose) têm sido observadas raramente em nucleotídeos e nucleosídeos, e a interação com os oxigênios dos grupos fosfato, que foi apontada (BOSE et al,1986), parece só ocorrer em mononucleotídeos (REILLY et al, 1986). Estudos demonstraram que, em uma mesma série de compostos de platina , os isômeros cis apresentavam atividade, enquanto os mesmos isômeros trans eram inativos (REILLY et al, 1986, CONNORS et al,1972). Assim, a pesquisa concentrou-se em compostos com configuração cis.

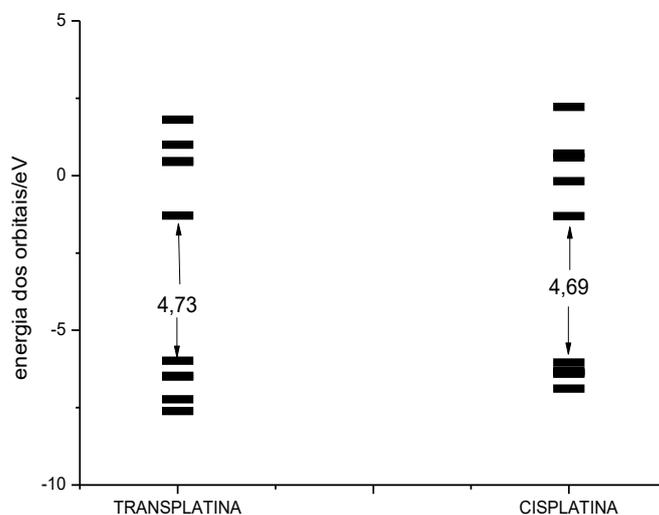
Esta primeira condição para atividade antitumoral tem sido largamente utilizado para o direcionamento das sínteses e, já são encontrados na literatura específicos trabalhos sobre os complexos trans que apresentam atividade. Exemplos incluem compostos contendo ligantes com estrutura plana como a piridina (VAN BENSICHEM et al,1992, FARREL et al,1992) e derivados de iminas (COLLUCIA et al,1993). Ainda assim, a grande maioria dos complexos de platina sintetizados e submetidos a testes biológicos apresentam configuração cis.

A formação dos adutos Pt-DNA, ocorre posteriormente a hidrólise da cisplatina, ou seja, a molécula interage com moléculas de água, em reações sucessivas, originando

estruturas mono e diaqua. Essa interação, ocasiona um satisfatório aumento no intervalo HOMO-LUMO, em relação a cisplatina desidratada. Neste caso podemos dizer que a hidratação da molécula de Cisplatina aumenta a reatividade da molécula.

Estudos iniciais demonstraram que, em uma mesma série, os isômeros cis apresentavam atividade, enquanto os mesmos isômeros trans eram inativos (REILLY et al, 1986, CONNORS et al,1972). Assim, a pesquisa concentrou-se em compostos com configuração cis. Na Figura 4 é apresentado o intervalo existente entre os orbitais HOMO e LUMO da Transplatina e da Cisplatina. Mesmo possuindo um maior valor de gap a Cisplatina mostrou-se mais reativa do que a Transplatina

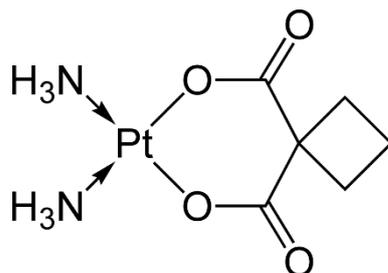
Figura 4. Intervalo HOMO-LUMO de energia entre MO da cisplatina e transplatina



1.5 A Carboplatina

Nos últimos anos, a influência de agentes quimioterápicos na função auditiva, especialmente a cisplatina e carboplatina, foram estudadas por Bornia et al a partir das manifestações de sintomas auditivos como o zumbidos e alterações da sensibilidade auditiva por alguns indivíduos em tratamento (BORNIA et al,2006)

Figura 5. Formula estrutural da Carboplatina



Em casos onde o paciente deve fazer o uso de quimioterápicos por um período longo tempo, opta-se pelo uso da carboplatina (cis diamina-1,1'-ciclobutanodicarboxilato platina(II)) mesmo quando o composto apresenta atividade antitumoral menor que a cisplatina. A Carboplatina apresenta menor toxicidade além de possuir a capacidade de diminuir a nefrotoxicidade. Esta propriedade da carboplatina foi atribuída à maior estabilidade farmacocinética do seu ligante 1,1 ciclobutanodicarboxilato que torna o complexo mais hidrossolúvel facilitando a administração e eliminação pelo organismo, tornando-o conseqüentemente menos tóxico que a cisplatina (DU VIGNEAUD et al, 1941).

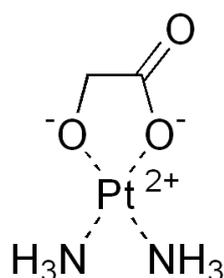
Comparando com a cisplatina, trata-se de um composto mais complexo, com um ligante 1,1' ciclobutanodicarboxilato. Sua ativação é mais lenta, porém, com aplicação clínica semelhante. Eficácia clínica comparável, embora menor para alguns tipos de câncer. É mais fácil de utilizar em associação com outros agentes citotóxicos. Toxicidade

não-hematológica (renal, emética e neurotoxicidade) menor que a cisplatina, enquanto a toxicidade hematológica (mielossupressão, trombocitopenia) é maior que a mesma.

1.6 A Nedaplatina

A nedaplatina (cis-diamino-glicolato-O,O-platina (II)) , apresenta o mesmo grupamento amina que a carboplatina, mas em lugar dos grupos cloreto abandonantes , a molécula possui um anel glicolato que atua como ligante bidentado (MONK et al,1998) . Em relação a Cisplatina, o composto apresenta uma atividade tumoral similar, entretanto, com uma considerável diminuição no efeito nefrotóxico com uma solubilidade em água maior que a da Cisplatina.

Figura 6. Formula estrutural da Nedaplatina

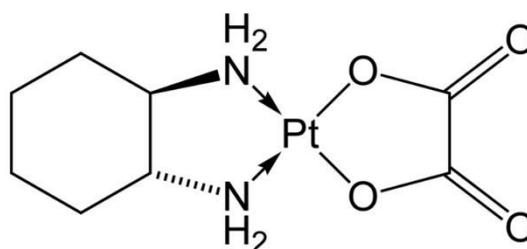


1.7 A Oxaliplatina

A oxaliplatina também conhecida como trans-L-diaminociclohexano-oxalato platina (II) apresentou uma grande eficácia em estudos in vivo, possuindo uma menor toxicidade que cisplatina bem como uma ausência de resistência cruzada com a mesma. A Oxaliplatina é um composto que um grupo diaminociclohexano, que possui uma maior

atividade antitumoral, ligado a grupo oxalato que possui uma maior solubilidade. Esse composto forma cross-links intracatenários com o DNA. A formação dos cross-links é 50 vezes mais rápida que a ocorrida com a Cisplatina. Trata-se de um composto trans, o que justifica seu baixo *gap*, logo menor reatividade entre os compostos em uso na terapia antitumoral.

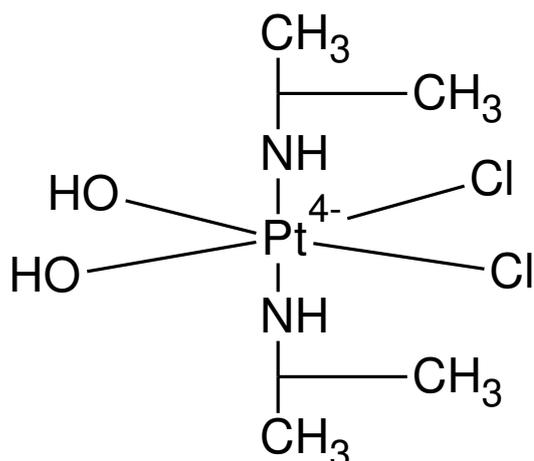
Figura 7. Formula estrutural da Oxaliplatina



1.8 A Iproplatina

Com o objetivo de auxiliar a terapêutica anti-câncer, compostos de platina (IV) foram sintetizados, como alternativa à cisplatina. Alguns exemplos, como a iproplatina (KASHYAP,1981,BONDI,1964) A iproplatina, (*cis*-dicloro-transdihidroxo-bispropilaminoplatina (IV)), foi recentemente descontinuada na fase III de testes clínicos (BONDI, 1964).

Figura 8. Estrutura da iproplatina



2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho de pesquisa tem como objetivo principal realizar um estudo teórico, com base na Teoria do Funcional da Densidade (DFT), das propriedades moleculares e espectroscópicas de complexos de platina com atividade farmacológica antitumoral, bem como as suas reações e interações com fragmentos de DNA.

2.2. Objetivos específicos

- Otimizar as geometrias das estruturas e calcular as energias de ligação, distribuição de cargas, frequências vibracionais e as energias dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO) de complexos de platina com atividade antitumoral;
- Estudar as reações de hidrólise dos complexos de platina e correlacionar as propriedades geométricas, eletrônicas e espectroscópicas dos intermediários das reações;
- Estudar as diferentes formas de interações entre complexos de platina e fragmentos de DNA para verificar as geometrias mais estáveis dos adutos;

d) Correlacionar os parâmetros geométricos, eletrônicos e espectroscópicos dos adutos (complexos de Pt + Fragmentos de DNA), para compreender as transferências de carga e os orbitais envolvidos nas transferências eletrônicas.

3. ESTUDO TEÓRICO

Foram realizados cálculos e otimizações de estruturas de platina, bem como seus análogos, utilizando o programa GAUSSIAN 9.0. A elaboração das estruturas, bem como a coleta de dados, foi também realizada pelo programa GAUSS VIEW 5.0. As bases para as otimizações foram obtidas a partir do banco de dados EMSL BASIS SET EXCHANGE.

3.1 Metodologia

O estudo teórico foi conduzido por meio de cálculos *ab initio* da estrutura eletrônica. A otimização das geometrias das estruturas, os cálculos de energia de ligação, a distribuição de cargas e frequências vibracionais dos complexos de platina cis e trans, bem como suas interações reações de hidrólise e interações com fragmentos de DNA, foram realizadas com a utilização dos programas GAUSSIAN 09 (POPLE,2009). Foram empregados cálculos baseados na teoria do funcional da densidade (DFT), utilizando o funcional híbrido de três parâmetros de Becke com as correções de gradiente fornecidas pelos funcionais de Lee, Yang e Parr (B3LYP) (POPLE,2009). A função de base Pt-mDZP (usadas para o átomo Pt), 6-31G*(d,p) (C, N, O, S, P e H) foram utilizadas para otimização das estruturas, análise dos orbitais e descrição das frequências vibracionais. Na análise de cargas atômicas foram empregados dois tipos: O primeiro foram as cargas GAPT (Generalized Atomic Polar Tensor) (CIOSLOWSKI,1989) que foram baseadas no

traço do tensor atômico polar e são extraídas diretamente dos cálculos de frequência vibracional, conforme listados no arquivo de saída do programa GAUSSIAN. O segundo são as cargas MK (Merz-Singh-Kollman Scheme) (BESLER et al, 1990) que são ajustadas para reproduzirem o potencial eletrostático molecular em vários pontos em torno da molécula.

4. TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE

4.1. Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Ao longo do tempo diversas pesquisas vem sendo feitas para se determinar de forma precisa as propriedades de sistemas atômicos e moleculares. Estas são obtidas por meio da solução da equação de Schrodinger. No entanto, sua resolução só é possível para sistemas monoelétrônicos, ou seja, os átomos hidrogenóides. Sendo assim, para sistemas poli-elétrônicos, a solução dessa equação torna-se impossível sem fazer aproximações, como por exemplo, a aproximação de Born e Oppenheimer (MCWEENY, 1969). Desse modo, essas aproximações permitem resolver a equação de Schrodinger desacoplando o movimento eletrônico do movimento nuclear, reduzindo, assim, o problema de muitos corpos a um problema de partículas independentes. Porém, essa solução ainda só é possível e exata para sistemas pequenos de átomos e moléculas e torna-se inviável para sistemas grandes.

Neste sentido, Thomas-Fermi (LIEB, 1977) propuseram um método para resolver problemas de muitos elétrons, sendo este baseado no modelo de Fermi-Dirac (UEHLING, 1933) para um gás de elétrons livres. Sua importância para a formulação da DFT se deve ao fato de que foi neste método que, pela primeira vez, a energia de um sistema foi

descrita em termos da densidade eletrônica, porém, não obteve sucesso pois a teoria não leva em conta o uso da autoconsistência no cálculo de energia total.

O conceito moderno da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) possibilitou melhores acordos para estudos de sistemas moderadamente grandes ($N_{\text{átomos}} \geq 20$) com dados experimentais disponíveis. Pois, tal método faz uso da densidade eletrônica – $\rho(r)$ – como variável básica, sendo rigorosamente legitimada com a publicação dos teoremas de Hohenberg e Kohn, em 1964 (HOHENBERG, 1964). Neste contexto, foi possível obter conceitos importantes na descrição química, tais como potencial químico, maciez e dureza, além da equalização da eletronegatividade.

Ademais, o desenvolvimento do DFT foi impulsionado pela criação de funcionais de troca-correlação mais precisos e de algoritmos eficientes de integração numérica. Então, o estudo de problemas de interesse químico, usando DFT, se deu principalmente pela implementação deste método em vários pacotes de cálculos de estrutura eletrônica – GAMES, NWECHM, SIESTA, GAUSSIAN, dentre outros. Por outro lado, em 1965, Kohn e Sham (KOHN, 1965) estabeleceram uma forma de controlar o problema de se encontrar o funcional de energia cinética, portanto, o método Kohn-Sham (KS), como ficou conhecido, permitiu realizar cálculos de DFT.

Dessa forma, diferentemente de outros métodos, como métodos semi-empíricos, que tentam, tanto quanto possível, se aproximar do método Hartree-Fock, o DFT relaciona-se com a solução exata do problema de muitos elétrons.

4.4. O Teorema de Hohenberg e Kohn

O trabalho de Hohenberg & Kohn (HOHENBERG, 1964) mostra, por meio de dois teoremas, que a partir da densidade eletrônica do sistema no estado fundamental é possível obter a energia do estado fundamental de maneira exata. O primeiro teorema estabelece que a densidade de carga $\rho(r)$ do estado fundamental de um sistema de muitos elétrons é determinada de maneira unívoca, a menos de uma constante aditiva, a partir $v_{ext}(r)$ do potencial externo.

Para provar este teorema é necessário supor o contrário, que dois potenciais externos $v(r)$ e $v'(r)$ resultam na mesma densidade $\rho(r)$ para o estado fundamental. Dois hamiltonianos H e H' são definidos pelos dois potenciais $v(r)$ e $v'(r)$, associando-se a eles duas funções de onda φ e φ' , respectivamente.

Assim, temos:

$$\begin{aligned}\langle \varphi | H | \varphi \rangle &= E_0 < \langle \varphi' | H | \varphi' \rangle = \langle \varphi' | H' - V' + V | \varphi' \rangle = \langle \varphi' | H' + V - V' | \varphi' \rangle \\ E_0 < \langle \varphi' | H' + V - V' | \varphi' \rangle &= E'_0 + \int \rho(r) [v(r) - v'(r)] dr \\ E_0 < E'_0 + \int \rho(r) [v(r) - v'(r)] dr &\end{aligned}\tag{2.13}$$

De forma semelhante, podemos fazer:

$$\begin{aligned}\langle \varphi' | H' | \varphi' \rangle &= E'_0 < \langle \varphi | H | \varphi \rangle = \langle \varphi | H - V + V' | \varphi \rangle = \langle \varphi | H + (V - V') | \varphi \rangle \\ E'_0 < \langle \varphi | H + (V - V') | \varphi \rangle &= E_0 + \int \rho(r) [v(r) - v'(r)] dr \\ E'_0 < E - \int \rho(r) [v(r) - v'(r)] dr &\end{aligned}\tag{2.14}$$

Somando-se a eq. (5) com a eq. (6):

$$E_0 + E'_0 < E'_0 + E_0\tag{2.15}$$

Portanto, a suposição inicial de que os potenciais externos $v(r)$ e $v'(r)$ resultavam na mesma densidade $\rho(r)$ para o estado fundamental não é verdadeira. Assim, existe uma correspondência única entre a densidade $\rho(r)$ do estado fundamental e o potencial externo $v_{ext}(r)$.

O segundo Teorema diz que a energia do estado fundamental corresponde ao mínimo do funcional de energia $E_0[\rho_0(r)]$, obtido a partir da densidade exata do estado fundamental $[\rho_0(r)]$. Qualquer densidade diferente $\rho'(r) \neq \rho_0(r)$ conduzirá a uma energia $E_0[\rho_0(r)]$ maior do que a energia do estado fundamental, $E[\rho'(r)] \neq E_0[\rho_0(r)]$.

Este teorema torna possível o uso do princípio variacional para encontrar a densidade do estado fundamental. Existem muitas possibilidades para a densidade eletrônica, porém o problema é resolvido por minimização. Ao encontrar a densidade para a qual a energia é mínima, encontrou-se a densidade do estado fundamental.

4.5. O método de Kohn – Sham

A equação de Kohn-Sham pode ser vista como sendo a equação de Schrödinger para um sistema fictício composto de partículas não interagentes, tal que a densidade eletrônica gerada seja a mesma do sistema real original composto pelas partículas reais interagentes. A equação de Kohn-Sham é definida por um potencial externo efetivo $v_{eff}(r)$ no qual as partículas não interagentes se movem.

$$\hat{H}_{KS}\psi_i = \left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + v_{eff}(r) \right] \psi_i(r) = \varepsilon_i \psi_i(r) \quad (2.16)$$

Onde as funções $\psi_i(r)$ são as autofunções da equação de Kohn-Sham e o potencial externo efetivo $v_{eff}(r)$ é dado por:

$$v_{eff}(r) = v(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} dr' + v_{xc}(r) \quad (2.17)$$

A eq. (2.10) foi a solução proposta por Kohn & Sham (1965) para representar a densidade de carga:

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(r)|^2 \quad (2.18)$$

A energia total do estado fundamental da eq. (2.12) pode ser reescrita como:

$$E[\rho] = T[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} drdr' \quad (2.19)$$

Na aproximação de Kohn-Sham, $T[\rho]$ é separada em duas componentes. Uma das componentes corresponde à energia cinética de um gás de elétrons não interagentes $T_s[\rho]$ e, a outra componente inclui as interações eletrônicas e a correção da energia cinética no termo de troca e correlação $E_{xc}[\rho]$. Assim, a eq. (2.11) se torna:

$$E[\rho] = T_s[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} drdr' + E_{xc}[\rho] \quad (2.20)$$

Isolando $v(r)$ da eq. (9) e substituindo na eq. (12), teremos:

$$E[\rho] = T_s[\rho] + \int \rho(r)v_{eff}(r)dr + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} drdr' - \int \rho(r)v_{xc}(r)dr$$

$$+ \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr dr' + E_{xc}[\rho] \quad (2.21)$$

O somatório dos autovalores ε_i da eq. (2.8) corresponde aos dois primeiros termos do lado direito da eq. (2.13).

$$\sum_i \varepsilon_i = T_S[\rho] + \int \rho(r) v_{eff}(r) dr \quad (2.22)$$

Portanto, a forma final para a energia total do estado fundamental na aproximação de Kohn-Sham é dada por

$$E[\rho] = \sum_i \varepsilon_i - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r)\rho(r')}{|r-r'|} dr dr' - \int \rho(r) v_{xc}(r) dr + E_{xc}[\rho] \quad (2.23)$$

Onde $v_{xc}(r)$ é o potencial de troca e correlação e sua definição formal vem da seguinte derivada funcional:

$$v_{xc}(r) = \frac{\partial E_{xc}[\rho]}{\partial \rho(r)} \quad (2.24)$$

4.6. Aproximações dos Potenciais de Troca e Correlação

A expressão exata do funcional da energia de troca e correlação $E_{xc}[\rho]$ não é conhecida. Assim, para que seja possível utilizar as Equações de Kohn-Sham é necessário determinar uma boa aproximação para o termo de troca e correlação, que é o termo de interpretação física mais difícil da DFT. Entre as aproximações mais utilizadas para este termo desconhecido estão a Aproximação da Densidade Local (do inglês: “*Local Density Approximation*” – LDA) e um aperfeiçoamento chamado de Aproximação do Gradiente Generalizado (do inglês: “*Generalized Gradient Approximation*” –GGA).

4.7. Aproximação de Densidade Local (LDA)

A energia de troca e correlação na Aproximação da Densidade Local (LDA) é escrita como:

$$E_{xc}[\rho(r)] = \int \rho(r) e_{xc}[\rho(r)] dr \quad (2.25)$$

Onde $\rho(r)$ é a densidade eletrônica no ponto r e $e_{xc}[\rho(r)]$ é a energia de troca e correlação por partícula de um gás homogêneo de elétrons com densidade ρ .

Na LDA o termo de troca e correlação é subdividido em:

$$e_{xc}^{LDA}(\rho) = e_x(\rho) + e_c(\rho) \quad (2.26)$$

Onde a energia de troca $e_x(\rho)$ por partícula é dada por:

$$e_x(\rho) = -\frac{0,458}{r_s} \quad (2.27)$$

E o termo referente à correlação eletrônica $e_c(\rho)$ foi estimado por Ceperley e Alder (1980):

$$e_c(\rho) = -\frac{0,44}{r_s + 7,8} \quad (2.28)$$

Onde r_s é o raio da esfera cujo volume é igual ao volume por elétron de condução:

$$r_s = \left[\left(\frac{4\pi}{3} \right) \rho \right]^{-\frac{1}{3}} \quad (2.29)$$

A LDA é adequada para descrever bem sistemas onde a densidade eletrônica é aproximadamente uniforme. Se a densidade eletrônica for fortemente não uniforme, será necessário utilizar a Aproximação do Gradiente Generalizado.

4.8. Aproximação de Gradiente Generalizado (GGA)

A aproximação do Gradiente Generalizado (GGA) considera, além da densidade eletrônica (ρ) no ponto r , o gradiente da densidade eletrônica $\nabla\rho(r)$ neste ponto, onde a densidade de energia de troca e correlação está sendo calculada. Assim, o termo de troca e correlação é escrito como:

$$E_{xc}^{GGA}[\rho(r)] = \int e_{xc}[\rho(r), \nabla\rho(r)] dr \quad (2.30)$$

Ao contrário da aproximação LDA, onde existe um único $e_{xc}[\rho(r)]$ correto, na aproximação GGA existem diferentes parametrizações para $e_{xc}[\rho(r), \nabla\rho(r)]$ que originam funcionais diferentes. Existem várias propostas reportadas na literatura para o funcional $E_{xc}^{GGA}[\rho(r)]$. Atualmente as mais utilizadas são baseadas nos trabalhos desenvolvidos por: a) Perdew (P86), (PERDEW, 1986); b) Perdew e Wang (PW91), (PERDEW, 1991) [133]; c) Perdew, Burke e Ernzerhof (PBE), (PERDEW, 1996); d) Becke (B88), (BECKE, 1988); e e) Lee, Yang e Parr (LYP), (LEE, 1988), no mesmo ano.

Uma outra forma de se realizar a aproximação é utilizando o termo de troca exato do método Hartree-Fock misturado com a aproximação GGA. A forma como esta mistura das duas aproximações é realizada dá origem ao conjunto de funcionais híbridos. O funcional B3LYP (BECKE, 1997) inclui três parâmetros empíricos ao funcional BLYP (B é o funcional de troca de Becke (BECKE, 1988) e LYP é o funcional de correlação de Lee, Yang e Parr (LEE, 1988)). Cabe frisar que o fato de a DFT ser considerada puramente *ab initio* dependerá do funcional de troca e correlação (VIANNA, 2004).

Assim, o funcional híbrido B3LYP é definido da seguinte forma:

$$E_{xc}^{GGA} = (1 - a_0 - a_x)E_x^{LSDA} + a_0E_x^{HF} + a_xE_x^{B88} + (1 - a_c)E_c^{VWN} + a_cE_c^{LYP} \quad (2.31)$$

Onde o termo E_x^{LSDA} denota o funcional de troca baseado no método do gás uniforme de elétrons, com o efeito de spin, E_x^{HF} é o termo de troca nas equações Hartree-Fock, o termo E_x^{B88} é o funcional de Becke (BECKE, 1988), E_c^{VWN} denota o funcional de correlação desenvolvido por Vosko-Wilk-Nusair (VOSKO,1980) e E_c^{LYP} utiliza o funcional de correlação de Lee-Yang-Parr ((LEE,1988). Os valores das constantes obtidas pelos ajustes com valores experimentais das energias de atomizações moleculares são: $a_0 = 0,20$; $a_x = 0,72$ e $a_c = 0,81$ (LEVINE,1991). O B3LYP tem sido o funcional de maior uso em cálculos de química quântica nos últimos anos (SUN, 2011; STRICKLAND, 2006; CHARKIN, 2008; CHEN, 2012; ALI, 2012). Logo, o B3LYP foi o funcional escolhido para realização do estudo teórico abordado nesta dissertação.

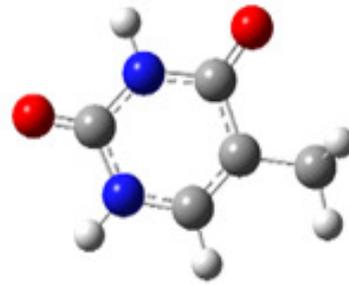
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Fig. 8 são apresentadas, respectivamente, as estruturas otimizadas das bases nitrogenadas do DNA e na tabela 1 mostrados os orbitais HOMO e LUMO. Esse estudo foi realizado para a constatação acerca do intervalo HOMO-LUMO, que serviria para a escolha, da base de melhor interação. Neste caso, a melhor interação entre o fármaco e o DNA, ocorrerá para a base de maior intervalo HOMO-LUMO (ZHANG, 2007).

Figura 8. Estruturas das bases Nitrogenadas do Ácido Desoxirribonucleico (DNA)



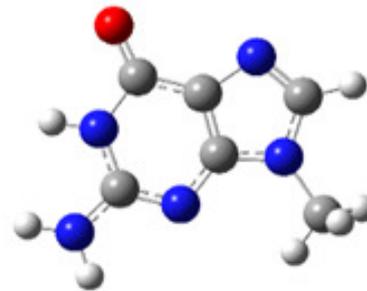
ADENINA



TIMINA



CITOSINA



GUANINA

Tabela 1. Estruturas Homo-Lumo das bases Nitrogenadas do Ácido Desoxirribonucleico

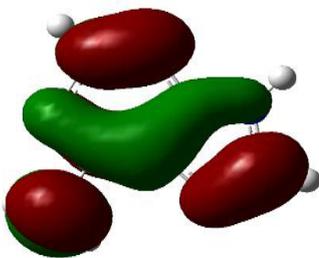
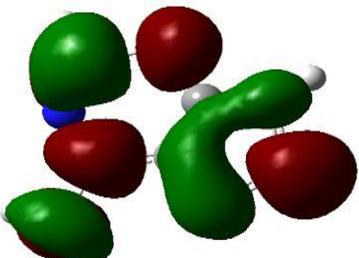
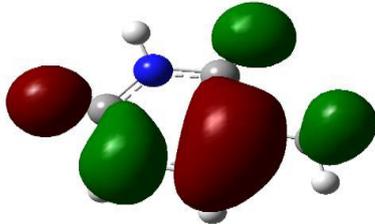
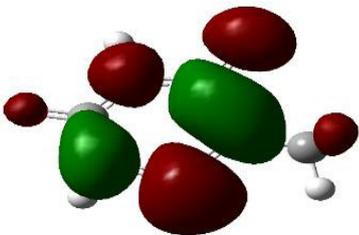
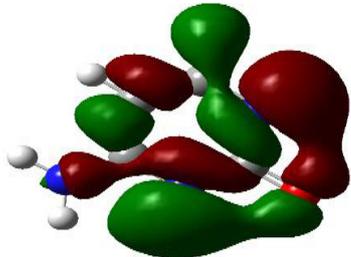
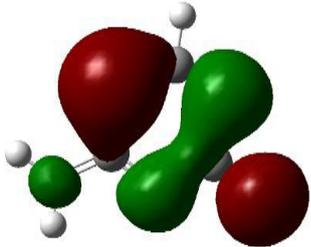
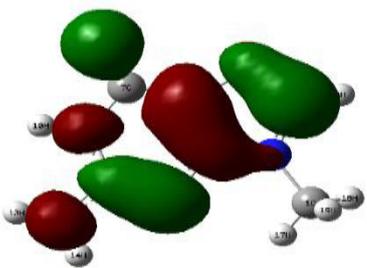
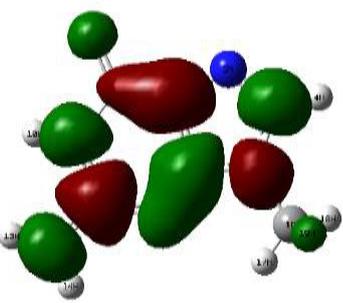
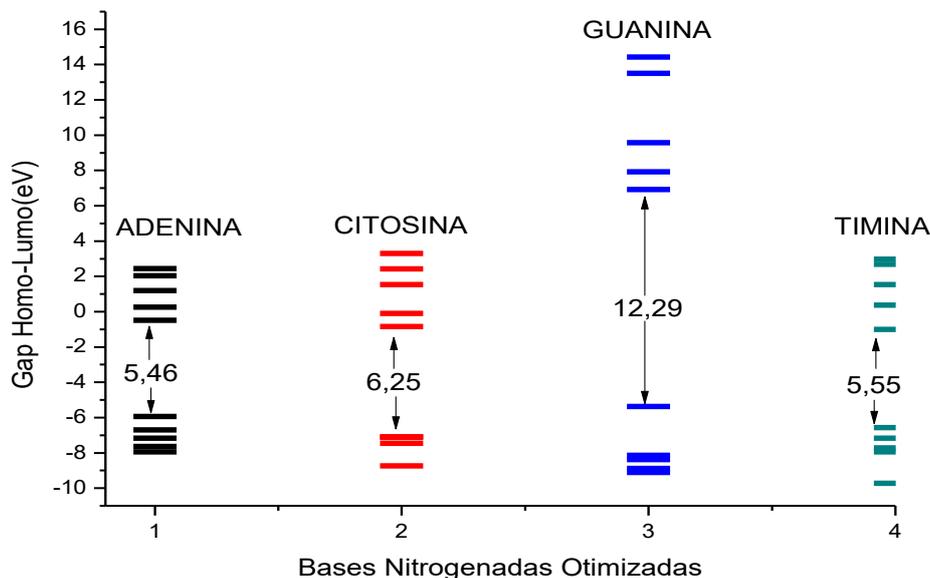
BASES	HOMO	LUMO
ADENINA		
TIMINA		
CITOSINA		
GUANINA		

Figura 9. Otimização das bases nitrogenadas do Ácido Desoxirribonucleico (DNA)



Com base nos resultados teóricos obtidos da Fig.6 foi observado que a base Guanina apresentou o maior intervalo HOMO-LUMO (12,29) eV. Esse valor dá a base Guanina uma maior estabilidade diante da interação com o fármaco. Já a base Adenina possui um menor valor de gap (5,46 eV) entre as bases estudadas o que dá a essa base uma menor estabilidade frente a interação com o Fármaco. Já a melhor possibilidade de de ligação encontra-se situada no Nitrogênio (N7) da base Guanina. Como mostra a tabela abaixo os valores obtidos para a distribuição de Mulliken e para NBO (*natural bond orbitals*) para esta base são bastante próximas.

Tabela 2. Cargas encontradas no nitrogênio da base

CARGA	MULLIKEN	NBO
N7	-6,8 eV	-6,48 eV

Afim de se obter mais informações a respeito da base Guanina foram realizados cálculos para calcular a entalpia, energia de Gibbs comprimentos e ângulos de ligações entre os átomos de Nitrogênio e Carbono da base nitrogenada de Guanina. Os resultados para esses dados são apresentados nas tabelas 2 e 3 respectivamente.

Tabela 3. Propriedades termodinâmicas da Guanina

PROPRIEDADE	HARTREE	kJ / mol
ENTALPIA	0,173	454.212
ENERGIA DE GIBBS	0,13	341.32

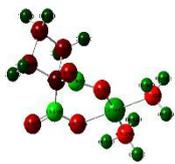
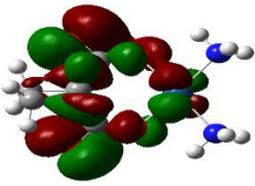
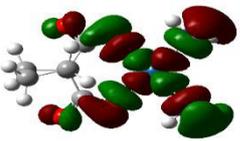
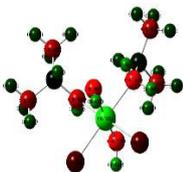
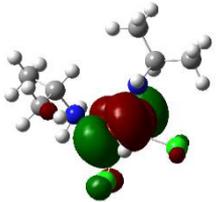
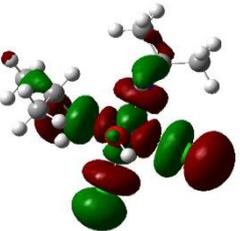
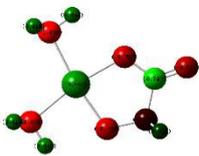
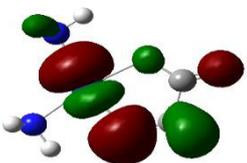
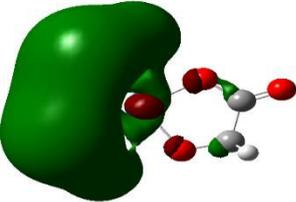
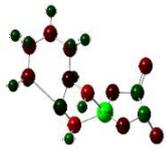
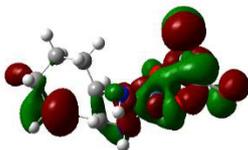
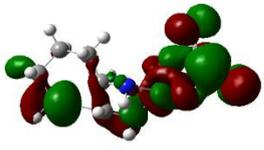
Tabela 4. Características das ligações do nitrogênio mais reativas da base

Ligação	Comprimento de ligação (Å)	Ângulo
N - C	1,39	-
N = C	1,31	-
C - N = C	-	103,9°

5.1 OS DERIVADOS DA CISPLATINA USADOS NA TERAPIA ANTI-CANCER

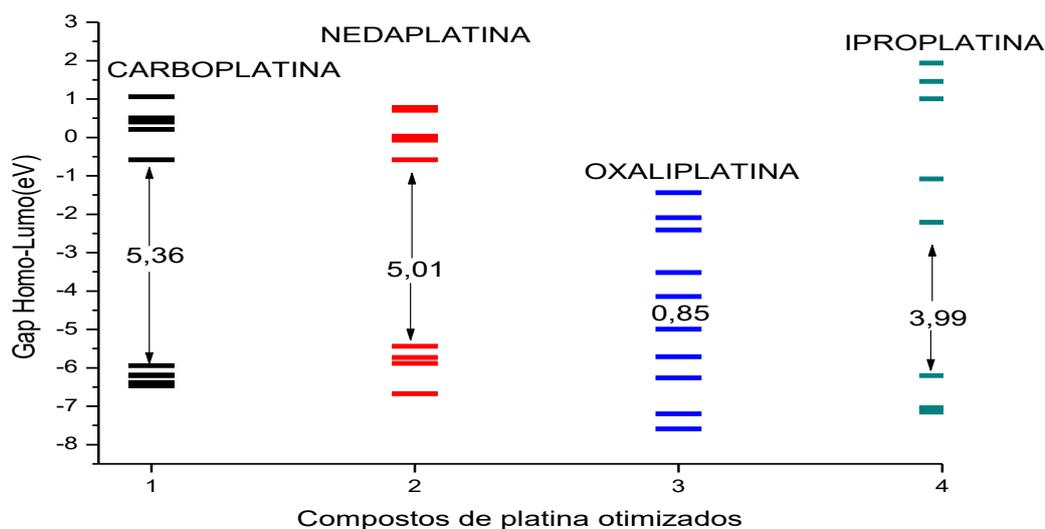
No tratamento dos diversos tipos de câncer são utilizados diferentes compostos de oriundos da Cisplatina que são: A Carboplatina, a Iproplatina, a Nedaplatina e a Oxaplatina. Assim, para obter maiores dados de como esses compostos interagem com a tumor canceroso além da toxicidade inerente ao tratamento em pacientes, esses principais fármacos tiveram suas estruturas otimizadas. Os resultados dessas otimizações, são apresentadas na tabela 5.

Tabela 5. Estruturas otimizadas e orbitais Homo-Lumo dos fármacos de Cisplatina

MOLÉCULA	ESTRUTURA OTIMIZADA	HOMO	LUMO
CARBOPLATINA			
IPROPLATINA			
NEDAPLATINA			
OXALIPLATINA			

Com a otimização das estruturas, foi possível avaliar o intervalo Homo-Lumo, de cada molécula, fazendo então uma comparação de estabilidade entres as moléculas. Esta análise é apresentada na Fig. 10 abaixo:

Figura 10. Intervalo HOMO-LUMO dos fármacos otimizados



Os resultados da Fig. 10 nos revelam que dos Fármacos utilizados a Carboplatina possui o maior gap entre os orbitais (5,36 eV) e, o de menor valor está relacionado a Oxaliplatina (0,85 eV). Assim podemos dizer que dos fármacos utilizados, a Carboplatina possui uma maior capacidade de interagir com as células cancerosas já a Oxaplatina uma menor capacidade de interação entre eles. Essas informações são extremamente importantes para a eficiência do fármaco no tratamento do paciente.

Para que um fármaco interaja com a célula cancerosa e conseqüentemente a sua interação com o DNA é necessário que o mesmo reaja primeiro com moléculas de água por meio de uma reação de Hidrólise. As reações propostas para as hidrólises para cada um dos fármacos são apresentadas a seguir:

Figura 11. Reação de hidrólise da Carboplatina

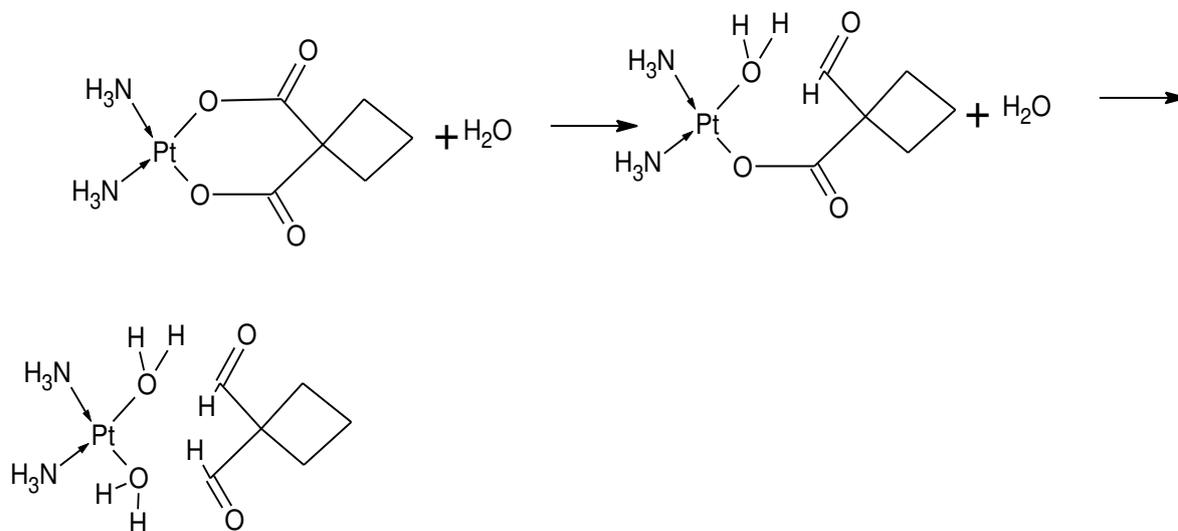


Figura 12. Reação de hidrólise da nedaplatina

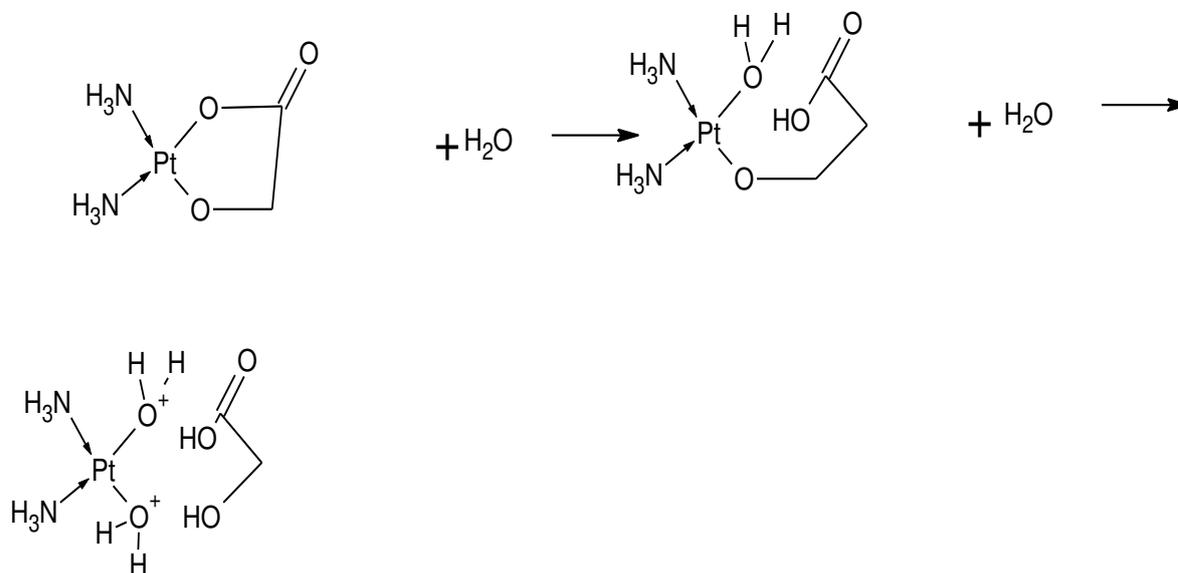


Figura 13. Reação de hidrólise da Iproplatina

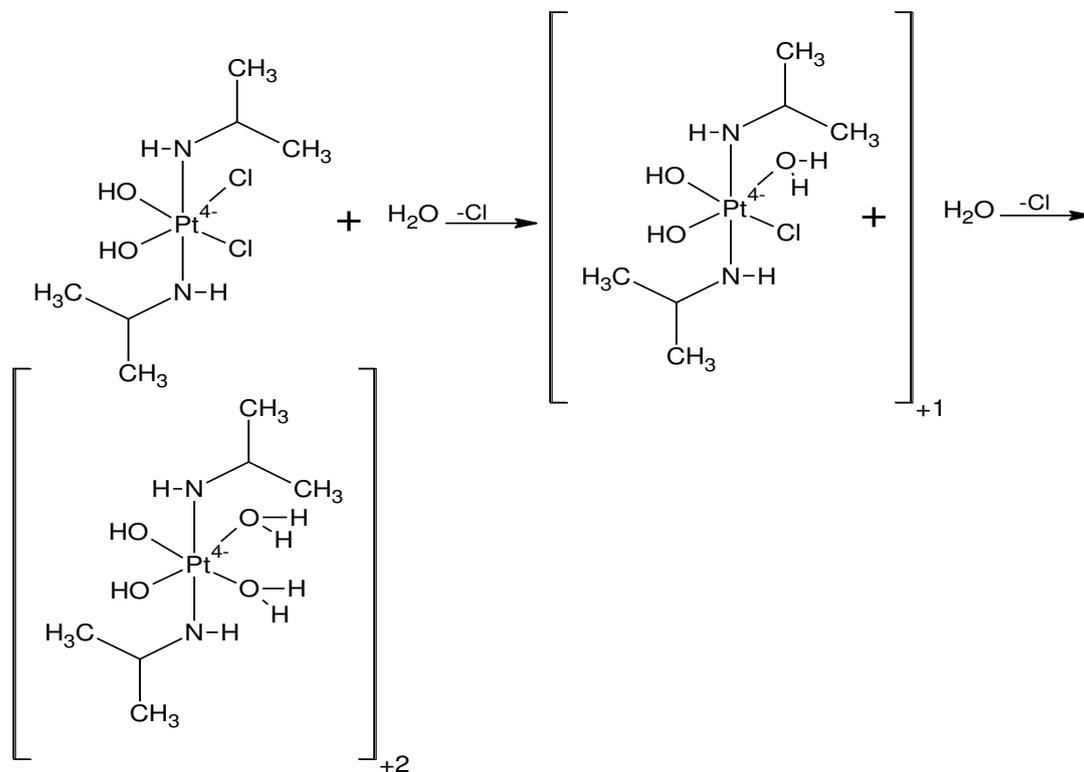
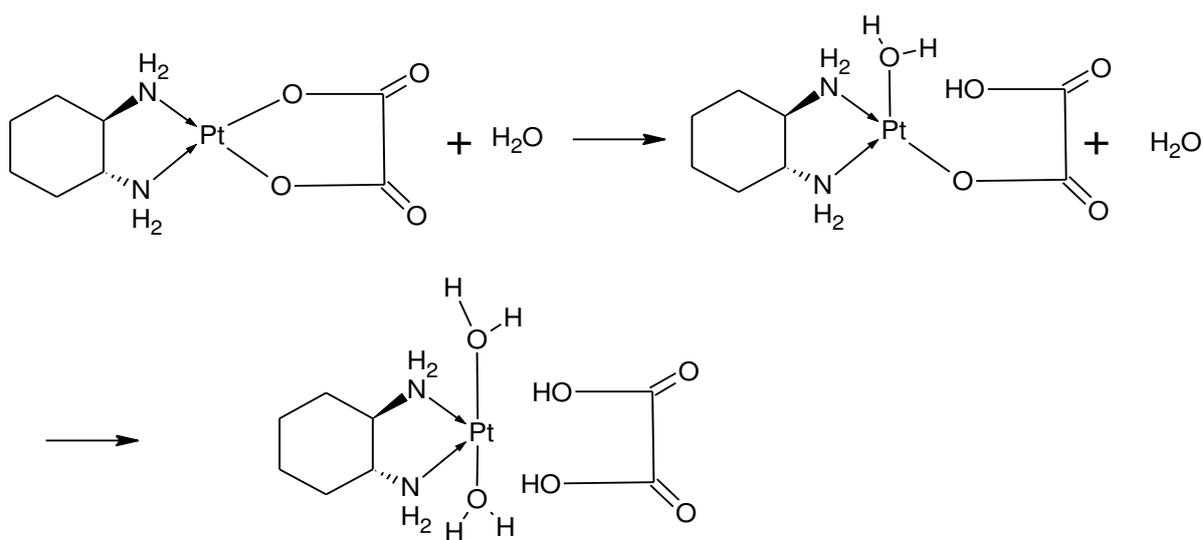
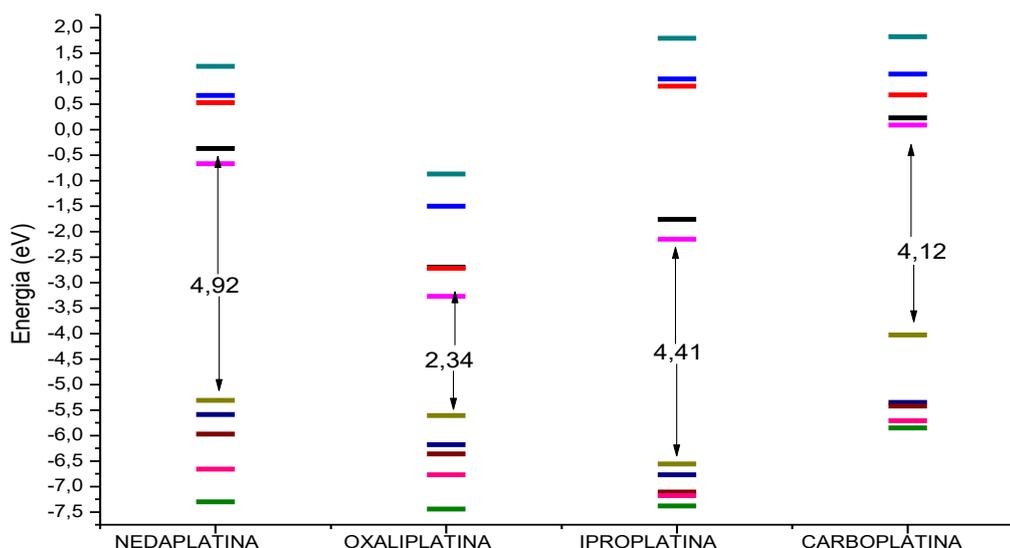


Figura 14. Reação de hidrólise da oxaliplatina



A hidrólise das moléculas ocorre de maneira parcial, ou seja, cada molécula de água interage individualmente com o fármaco. Realizou-se então a otimização das moléculas, após a primeira hidrólise, obtendo os seguintes intervalos Homo-Lumo, apresentados na figura 15, abaixo:

Figura 15. Intervalo HOMO-LUMO, das estruturas otimizadas após a primeira hidrólise



Com a proposta da reação de hidrólise para cada composto foi calculado a variação da energia de Gibbs para as mesmas o resultado comparado com a do composto antes de cada hidrólise, os resultados desses dados termodinâmicos são apresentados nas tabelas 6 e 7

Tabela 6. Determinação da energia de Gibbs, após a primeira hidrólise, das moléculas otimizadas

MOLÉCULA	ΔG (reação) kJ/mol	ΔG (hidrolisada) kJ/mol	ΔG (água) kJ/mol	ΔG (complexo) kJ/mol
CARBOPLATINA	-200369,2864	-47.321.720	-237,1	-47121113,27
NEDAPLATINA	-200265,3297	-46.717.757	-237,1	-46517254,9
OXALIPLATINA	-203918,2748	-47.521.580	-237,1	-47317424,78
IPROPLATINA	1008559,609	-48.145.146	-237,1	-49153468,81

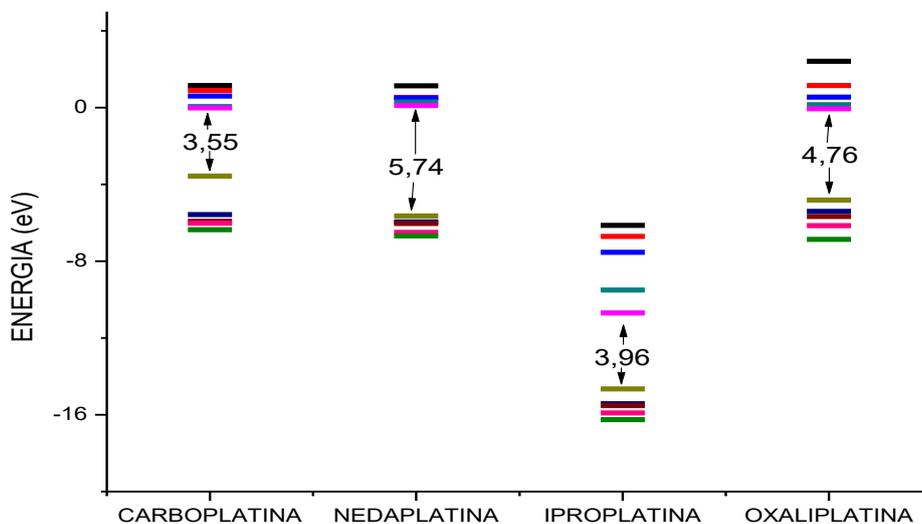
Tabela 7. Determinação da energia de Gibbs, após a segunda hidrólise, das moléculas otimizadas

MOLÉCULA	$\Delta G(\text{reação})$ kJ/mol	$\Delta G(\text{hidrolisada})$ kJ/mol	$\Delta G(\text{água})$ kJ/mol	$\Delta G(\text{complexo})$ kJ/mol
CARBOPLATINA	-400.365	-47.521.716	-237,1	-47121113,27
NEDAPLATINA	-200.333	-46717825,13	-237,1	-46517254,9
OXALIPLATINA	585.548	-46732113,97	-237,1	-47317424,78
IPROPLATINA	1.008.560	-48145146,3	-237,1	-49153468,81

Os resultados teóricos da variação da energia de Gibbs (ΔG) nos fornece o quão espontâneo pode ocorrer um processo químico, quanto maior a energia de Gibbs maior será a espontaneidade do processo. Embora os valores sejam bem próximos, podemos observar pelos dados da energia de Gibbs do complexo dos compostos estudados que a reação de Hidrólise se dá de forma mais espontânea com a Iproplatina e de forma menos espontânea para a Nedaplatina.

Tomando ainda como base as reações de hidrólise para os compostos mostrados na Fig. 7, realizou-se a otimização das mesmas para se calcular os valores de *gap* para os orbitais HOMO e LUMO das moléculas após a segunda hidrólise. Este resultado visou encontrar o quão estável ficou a molécula após a reação de hidrólise. Os resultados são apresentados na Fig. 16.

Figura 16. Intervalo HOMO-LUMO, das estruturas otimizadas após a segunda hidrólise.



Como mostra a Fig.11 dos quatro compostos estudados a Carboplatina ficou com o menor *gap* (3,55 eV) entre os orbitais HOMO-LUMO e a Nedaplatina com o maior (5,74 eV). O intervalo de *gap* HOMO-LUMO, é usado para avaliar a estabilidade da molécula, ou seja, quanto maior o *gap*, maior a estabilidade, conseqüentemente, uma menor reatividade. O gráfico acima mostra, portanto, que após a reação de Hidrólise a estabilidade da Nedaplatina aumentou, tornando-a menos reativa, enquanto a reatividade da Carboplatina com um menor *gap* entre os compostos aumenta.

Com as hidrólises realizadas, otimizadas e avaliadas, o passo seguinte foi a interação com o DNA, para avaliar, a ação do fármaco dentro da célula, ou seja, a formação dos adutos. Procedeu-se então a interação das moléculas hidrolisadas, apresentadas na tabela 7 abaixo:

Tabela 8. Representação das moléculas interagidas com o DNA, e os respectivos gap's HOMO-LUMO

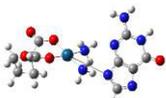
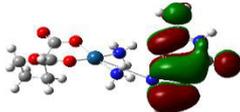
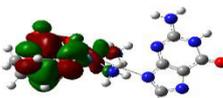
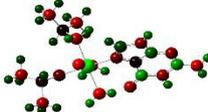
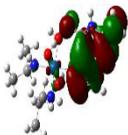
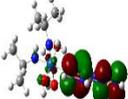
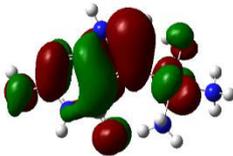
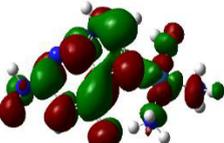
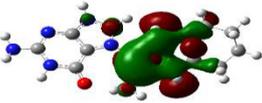
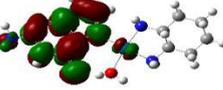
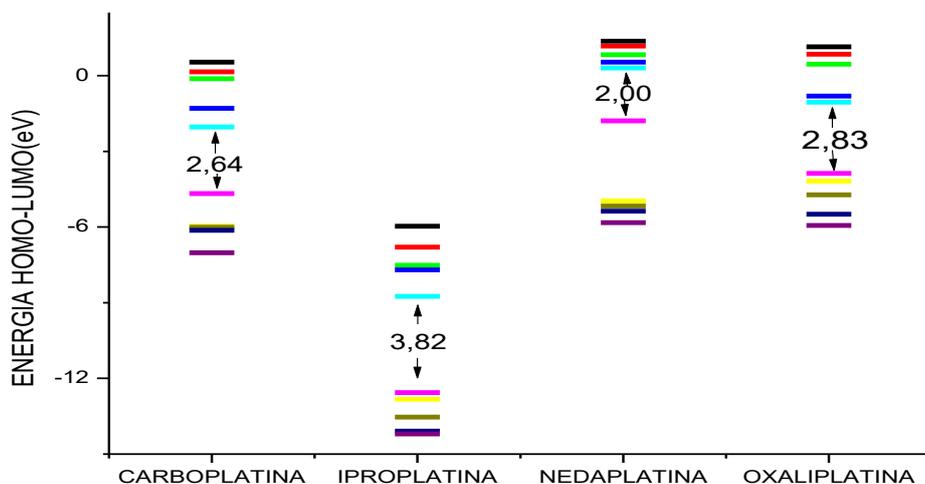
MOLÉCULA INTERAGIDA	ESTRUTURA	HOMO	LUMO
CARBOPLATINA			
IPROPLATINA			
NEDAPLATINA			
OXALIPLATINA			

Figura 17. O gap HOMO-LUMO demonstrado acima, mostrou o aumento da capacidade reativa da Nedaplatina, enquanto a Iproplatina mostrou-se mais estável.



O resultado observado por meio da Fig.17 nos mostra que dos compostos estudados Nedaplatina apresentou menor *gap* entre os orbitais moleculares HOMO-LUMO (2,0 eV) o que torna este composto mais reativo, por outro lado, a Iproplatina apresentou o maior *gap* (3,82 eV) entre os orbitais tornando esse composto menos reativo.

Nas moléculas estudadas, a platina forma uma ângulo estrutural com átomos de nitrogênio. Esta propriedade geométrica sofre também influencia das ações ocorridas, ou seja, tanto as hidrolises quanto as interações com o DNA. Mediu-se também a distancia atômica entre Pt-N. A carboplatina apresenta maior distancia interatomica, sendo também a molécula que sofre maior distensão angular, quando submetida a primeira hidrolise, ou seja, é o intermediário de reação com maior ângulo entre átomos Pt-N. A nedaplatina apresentou menor distancia entre átomos e sofre a menor distensão angular durante a segunda hidrolise. Os dados são apresentados na tabela abaixo:

Tabela 9. Distancias entre átomos de Pt-N e ângulos formados entre N-Pt-N

PROPRIEDADES GEOMÉTRICAS	IPROPLATINA	NEDAPLATINA	OXALIPLATINA	CARBOPLATINA
DISTANCIA ENTRE Pt-N(DNA) Angstrom	2,08218	2,05183	2,08797	3,89578
Ângulo entre N-Pt-N (complexo)	43,7°	37,7°	82,2°	37,8°
Ângulo entre N-Pt-N (1ª hidrólise)	41,7°	45,8°	45,6°	109,7°
Ângulo entre N-Pt-N (2ª hidrólise)	45,6°	37,7°	46,5°	42,5°
Ângulo entre N-Pt-N (interação)	44,2°	39,4°	46,9°	89,1°

Outro parâmetro analisado foi a energia vibracional das ligações. A platina dos compostos estudados, liga-se ao nitrogênio, seja do composto, seja na interação com o fragmento de DNA. Esse parâmetro foi usado para medir a estabilidade e reatividade nas ligações. A energia foi obtida pela otimização das moléculas, bem como na formação do primeiro aduto de hidrólise, do aduto de segunda hidrólise, bem como após a interação com o fragmento de DNA. Em seguida foi comparada com os resultados de gap HOMO-LUMO, obtidos em todos os processos. Quanto maior o gap, mais estável e menos reativo, gerando um aduto mais estável. A análise vibracional é apresentada na tabela 10, abaixo:

Tabela 10. Dados obtidos das frequências vibracionais

vib(Pt-N) (cm^{-1})	COMPLEXO	ADUTO 1	ADUTO 2	INTERAGIDO COM DNA
CARBOPLATINA	446,48	458,24	458,46	972,82
IPROPLATINA	626,67	667,22	702,24	990,5
NEDAPLATINA	444,69	445,07	447,82	941,37
OXALIPLATINA	449,82	636,23	654,55	982,5

Ainda sobre o efeito das hidrólises, na formação dos adutos, bem como na interação com os fragmentos de DNA, foram avaliadas as energias de ligação. Esta avaliação verificou a ocorrência de processos endotérmicos e exotérmicos, em

diferentes etapas, ou seja, durante a primeira hidrólise, segunda hidrólise e a consequente interação com o DNA.

Os átomos estabelecem ligações entre si para atingir sua estabilidade eletrônica, isto é, eles saem de uma situação de maior energia para outra de menor energia. Com isso, podemos afirmar que, quando a ligação entre átomos é formada, ocorre liberação de energia; portanto, conseqüentemente, a sua quebra depende de absorção de energia. Se entendemos que o rompimento (quebra) de uma ligação química ocorre quando é fornecida a ela uma quantidade de energia, concluímos que se trata de um processo endotérmico. Em contrapartida, a formação de uma ligação envolverá a liberação da mesma quantidade de energia, sendo, então, um processo exotérmico. Podemos utilizar o conhecimento das energias de ligação das moléculas dos reagentes e dos produtos para determinar a variação da energia (ΔH) do processo químico e, em seguida, classificá-lo. As energias necessárias para quebrar ligações e formar novas, estão demonstradas nas tabelas 11, 12 e 13, abaixo:

Tabela 11. Dados das energias de ligação, gerados pela primeira hidrólise

COMPOSTO	ENERGIA DE LIGAÇÃO (kJ/mol)	ENERGIA ADUTO 1 (kJ/mol)	ENERGIA COMPLEXO (kJ/mol)	ENERGIA ÁGUA (kJ/mol)
CARBOPLATINA	1,8619,E+12	-4,7123,E+15	-4,7122,E+15	-2,0060,E+12
IPROPLATINA	-4,3210,E+15	-4,8146,E+15	-4,9154,E+14	-2,0060,E+12
NEDAPLATINA	-1,8058,E+13	-4,6718,E+15	-4,6517,E+15	-2,0060,E+12
OXALIPLATINA	4,2606,E+15	-4,7319,E+14	-4,7318,E+15	-2,0060,E+12

Tabela 12. Dados de energia de ligação, obtidos na formação da segunda hidrólise

COMPOSTO	ENERGIA DE LIGAÇÃO (kJ/mol)	ENERGIA ADUTO 2 (kJ/mol)	ENERGIA ADUTO 1 (kJ/mol)	ENERGIA ÁGUA (kJ/mol)
CARBOPLATINA	4,2391,E+15	-4,7523,E+14	-4,7123,E+15	-2,0060,E+12
IPROPLATINA	4,3452,E+15	-4,7137,E+14	-4,8146,E+15	-2,0060,E+12
NEDAPLATINA	-1,8062,E+13	-4,6919,E+15	-4,6718,E+15	-2,0060,E+12
OXALIPLATINA	-4,1981,E+15	-4,6733,E+15	-4,7319,E+14	-2,0060,E+12

Tabela 13. Dados de energia de ligação, gerados na interação com o DNA

COMPOSTO	ENERGIA DE LIGAÇÃO (kJ/mol)	ENERGIA INTERAÇÃO (kJ/mol)	ENERGIA ADUTO 2 (kJ/mol)	ENERGIA GUANINA (kJ/mol)
CARBOPLATINA	-4,3779,E+15	-4,8546,E+15	-4,7523,E+14	-1,4992,E+12
IPROPLATINA	-4,3633,E+15	-4,8361,E+15	-4,7137,E+14	-1,4992,E+12
NEDAPLATINA	-4,1132,E+13	-4,7345,E+15	-4,6919,E+15	-1,4992,E+12
OXALIPLATINA	-1,2089,E+14	-4,7957,E+15	-4,6733,E+15	-1,4992,E+12

A partir das geometrias otimizadas, da primeira e segunda hidrólise, bem como das interações com o fragmento de DNA foi realizado o estudo de transferência de densidade de carga eletrônica pelos métodos: NBO (Natural Bond Orbital). Esse estudo, foi então correlacionado com os referidos gap's HOMO-LUMO, para determinar a relação entre a densidade de cargas, estabilidade e reatividade das moléculas. Esta correlação, esta apresentada na tabela 14, abaixo:

Tabela 14. Análises de cargas NBO, correlacionadas com gap's HOMO-LUMO, ocorridos ao longo do estudo das moléculas platínicas

cargas(Nbo) Pt	Gap HOMO-LUMO	1^a HIDROLISE	Gap HOMO-LUMO	2^a HIDROLISE	Gap HOMO-LUMO	INTERAGIDO	Gap HOMO-LUMO	
Iproplatina	0,768	3,99	0,933	4,41	0,738	3,96	1,111	3,82
Carboplatina	0,6	5,36	0,328	4,12	0,474	3,55	0,665	2,64
Nedaplatina	0,542	5,01	0,572	4,92	0,572	5,74	-0,593	2
Oxaliplatina	1,298	0,85	1,007	2,34	0,477	4,76	0,481	2,83

Os resultados para os orbitais aceitadores de deslocalização associados a cada NBO doador podem ser visualizados na tabela 8. Os resultados apresentados nesta tabela de dados permite identificar rapidamente os principais orbitais aceitadores de deslocalização associados a cada NBO doador e a sua relação topológica com esta NBO, isto é, se está ligada ao mesmo átomo³⁷.

Tabela 15. Representação das moléculas interagidas com o DNA

Análise das cargas NBO/Deslocalização principal/CISPLATINA	Ocupação	Energia
1. BD (1) Pt 1 -Cl 2	1,88607	-0,50035
2. BD (1) Pt 1 -Cl 3	1,88607	-0,50035
3. BD (1) Pt 1 - N 4	1,93236	-0,53976
4. BD (1) Pt 1 - N 7	1,93236	-0,53976
Análise das cargas NBO/Deslocalização principal /CARBOPLATINA	Ocupação	Energia

1. BD (1) Pt 1 - N 2	1,91507	-0,58538
2. BD (1) Pt 1 - N 3	1,91645	-0,58539
3. BD (1) Pt 1 - O 4	1,88732	-0,5854
4. BD (1) Pt 1 - O 5	1,88754	-0,58541

Análise das cargas NBO/Deslocalização principal /NEDAPLATINA	Ocupação	Energia
1. BD (1) N 1 -Pt 12	1,92488	-0,56532
2. BD (1) N 4 -Pt 12	1,92050	-0,57351
3. BD (1) Pt 12 - O 13	1,88682	-0,48838
4. BD (1) Pt 12 – O 14	1,86969	-0,45984

Análise das cargas NBO/Deslocalização principal /OXALIPLATINA	Ocupação	Energia
1. BD (1)Pt 3 - N 4	1,79974	-0,55833
2. BD (1)Pt 3 - N 6	1,64825	-0,47697
3. BD (1)Pt 3 - O 23	1,84270	-1,08845
4. BD (1)Pt 3 - O 24	1,84971	-1,08339

Análise das cargas NBO/Deslocalização principal /IPROPLATINA	Ocupação	Energia
1. BD (1)Pt 1 -Cl 2	0,93229	-0,57222
2. BD (1)Pt 1 -Cl 3	0,94847	-0,56947
3. BD (1)Pt 1 - O 4	0,93659	-0,54979
4. BD (1)Pt 1 - O 6	0,93867	-0,55165
5. BD (1)Pt 1 - N 8	0,94272	-0,56158

6. CONCLUSÃO

A análise das bases nitrogenadas do DNA, confirmou a guanina como sendo a base de melhor ligação aos fármacos de platina, por apresentar maior intervalo HOMO-LUMO. Foram realizadas otimizações de cada molécula, obtendo-se assim, a melhor conformação molecular. Em seguida reações de hidrólise seguidas de interações das moléculas com a base guanina do DNA. Dessa interação, observou-se a maior estabilidade do fármaco Iproplatina, o que pode justificar a maior toxicidade deste referido fármaco, bem como a razão de sua descontinuação como opção terapêutica. A análise de fármacos análogos a cisplatina constata a tentativa de melhorar sua captação celular, através do aumento de sua solubilidade, reduzindo ou alterando os aspectos tóxicos mais representativos. A análise do intervalo de interação HOMO-LUMO, como fator de aumento da interação ou aumento da disponibilidade de interação, foi comprovada nesse estudo, bem como a já avaliada significância da estrutura *cis*, como sendo a de melhor reatividade. As propriedades geométricas como distancia interatomica, e ângulo entre átomos, foram avaliados e relacionados, com a ação sofrida pela molécula nas hidrólises e interações. As frequências vibracionais, foram relacionadas com gap HOMO-LUMO, reforçando a conclusão para estabilidade em função do maior gap.

7. REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde; Mensagem aos médicos. Câncer Fundamentos, Secretária de Assistência Médica-Divisão Nacional de Câncer; Brasília, 1971, p. 7-47.
2. <http://www.inca.org.br/cancer>, acessada em Junho 2003.
3. Rosenberg, B.; van Camp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, H.V.; Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents Nature 1969, 222, 385.
4. Rosenberg, B.; van Camp, L.; The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. Cancer Res. 1970, 30, 1799.
5. Furst, A.; Haro, R. T.; Progress in Experimental Tumour Research 1969, 12, 120.
6. Higby, D. J.; Wallace, H. G.; Holland, J. F.; COMPOSTOS DE PLATINA EM QUIMIOTERAPIA DO CÂNCER Cancer Chemother. Rep. 1973, 57, 459.
7. Wallace, H. J.; Higby, D. J.; Recent Results in Cancer Research: Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy; Connors, T. A.; Roberts, J. J., Eds.; Springer-Verlag, New York, 1974, p. 167.
8. Wiltshaw, E.; Carr, B.; Recent Results in Cancer Research Platinum Coordination Complexes in Cancer Chemotherapy; T. A.; Roberts, J. J., Eds.; Springer-Verlag, New York, 1974, p. 178.
9. Cvitkovic, E.; Spaulding, J.; Bethune, V.; Martin, J.; Whitmore, W. F.; Improvement of cis-dichlorodiammineplatinum (NSC 119875): therapeutic index in an animal model. Cancer 1977, 39, 1357.

10. De Lena, M.; Lorusso, V.; Paradiso, A.; Tommasi, S.; Compostos de platina em quimioterapia do câncer *Inorg. Chim. Acta* 1987, 137, 91.
11. Sixth International Symposium on Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy, San Diego, 1991, p. 185 a 270.
12. Howell, B., *Platinum and other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy*, Ed.; Plenum Press, New York, 1991.
13. Leão, M. B. C.; Pavão, A. C.; Espinoza, V. A. A.; Taft, C. A.; Bulnes, E. P.; J. A multivariate model of chemical carcinogenesis *Mol. Struct.: THEOCHEM* 2005, 710, 129.
- 14 . Pavão, A. C.; Taft, C. A.; Guimarães, T. C. F.; Leão, M. B. C.; Mohallem, J. R.; Lester, W. A.; J. Carcinogenicidade do carbendazim e seus metabólitos *Phys. Chem. A* 2001, 105, 5.
15. Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A., Jr.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.;

Challacombe, M.; Gill, P.M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. **Gaussian 09, Revision A.1**; Gaussian, Inc.: Pittsburgh PA, 2009.

16. POPLE, J.A.; HEAD-GORDON, M.; RAGHAVACHARI, K. J., Quadratic configuration interaction. A general technique for determining electron correlation energies, *Journal of Chemical Physics*, v.87, p. 5968-5976, 1987.

17. BECKE, A.D.; Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, *Journal of Physical Chemistry*, v.98, 1993, p.5648.

18. LEE, C.; YANG, W.; PARR, R.G.; Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Physical Review B*, v.37, 1988, p.785-789.

19. Kelland, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer* 2007, 7, 573. [CrossRef] [PubMed]

20. Bose, R. N.; Cornelius, R. D.; Viola, R. E.; Multinuclear NMR studies and kinetics for formation of platinum (II)-adenine nucleotide complexes *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 4403.

21. Reilly, M. D.; Marzilli, L. G.; Novel, definitive NMR evidence for N(7), .alpha.PO4 chelation of 6-oxopurine nucleotide monophosphates to platinum anticancer drugs *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 8299.

22. Connors, T. A.; Jones, M.; Ross, W. C. J.; Braddock, P. D.; Khokhar, A. R.; Tobe, M. L.; Cisplatin: Current Status and New Developments *Chem.-Biol. Interact.* 1972, 5, 415.

23. Braddock, P. D.; Connors, T. A.; Jones, M.; Khokhar, A. R.; Melzack, D. H.; Tobe, M. L.; Structure and activity relationships of platinum complexes with anti-tumour activity *Chem.-Biol. Interact.* 1975, 11, 145.
26. van Bensichem, M.; Farrell, N.; *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in medicine* *Inorg. Chem.* 1992, 31, 634.
27. Farrell, N.; Kelland, L. R., Roberts, J. D.; van Bensichem, M.; Activation of the trans Geometry in Platinum Antitumor Complexes: A Survey of the Cytotoxicity of trans Complexes Containing Planar Ligands in Murine L1210 and Human Tumor Panels and Studies on Their Mechanism of Action *Cancer Res.* 1992, 52, 5065.
28. Coluccia, M.; Nassi, A.; Lobeto, F.; Boccarelli, A.; Mariggio, M. A.; Giordano, D.; Intini, F. P.; Caputo, P.; Natili, G.; A trans-platinum complex showing higher antitumor activity than the cis congeners *J. Med. Chem.* 1993, 36, 510.
29. Cioslowski, A. New population analysis based on atomic polar tensors. *Journal of the American Chemical Society*, v. 111, p. 8333-8336, 1989.
30. Besler, B.H.; Merz, K.M.; Kollman, P.A. Atomic charges derived from semiempirical methods, *Journal of Computational Chemistry*, v. 11, p. 431-439, 1990.
31. Silva, Renato César da. Avaliação do potencial carcinogênico do carbendazim e seus metabólitos / Renato César da Silva. – Recife: O Autor, 2014. 106 f.: fig., tab.
32. Miranda, J. L; Felcman, J. ; Soto, C. T. . Study Of Cr(III), Zn(II) And Ni(II) Guanidinoacetic Complexes. In: IX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry, 1998. Abstracts. Angra dos Reis, RJ, Brasil. v. 1. p. 169-170.

33. Du Vigneaud, V.; Cohn, M.; Chandler, J. P.; Scheneck, J. R.; Simmonds, S. The Biological Action of Substances Related to Thyroxine. *J. Biol. Chem.*, 1941,140, 625.
34. Monk, B.J. , et al., In vitro phase II comparison of the cytotoxicity of a novel platinum analog, nedaplatin (254-S), with that of cisplatin and carboplatin against fresh, human cervical cancer. *Gynecol. Oncol.*, 1998. 71(2): p. 308-312.
35. Kashyap, S. C. Microwave apparatus for heating liquid in a closed plastic container. *Electronics Letters* **1981**, 17, 713-714.
36. Bondi, A. van der Waals Volumes and Radii *Journal of Physical Chemistry* **1964**, 68, 441-448.
37. Santos, Daniela Barsotti, Vieira, Elisabeth Meloni, Imagem corporal de mulheres com câncer de mama: uma revisão sistemática da literatura *Ciência & Saúde Coletiva* [en linea] 2011, 16 .
38. Bornia Jacob, Lilian Cassia, Pavia Aguiar, Fabrina, Tomiasi, Aline Aparecida, Tschoeke, Samira Natacha, Fava de Bitencourt, Raquel, Monitoramento auditivo na ototoxicidade .*Brazilian Journal of Otorhinolaryngology* [en linea] 2006, 72
39. LIEB, E. H.; SIMON, B. The Thomas-Fermi Theory of Atoms, Molecules and Solids.*Adv. Math*, v. 23, p. 22-116, 1977.
40. MCWEENY, R.; SUTCLIFFE, B.T. *Methods of molecular quantum mechanics*. p. 690, London: Academic Press, 1969.
41. UEHLING, E. A.; UHLENBECK, G. E. Transport Phenomena in Einstein-Bose and Fermi-Dirac Gases. *Phys. Rev*, v. 43, p. 552-561, 1933.

42. Hohenberg and W. Kohn, Physical Review B, Vol. 136, 1964, pp. 864-871.
doi:10.1103/PhysRev.136.B864
43. KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including Exchange and correlation effects. Phys. Ver, v.140, p. 1133-1138, 1965.
44. ZHANG, G.; MUSGRAVE, C.B.; Comparison of DFT Methods for Molecular Orbital Eigenvalue Calculations, J. Phys. Chem. A. 111, 1554-1561. 2007.