

*secretaria*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE FÍSICO-QUÍMICA

“ESTUDO DAS RELAÇÕES ENTRE ESTRUTURA-  
ATIVIDADE DE PROGESTOGÊNIOS CONTRACEPTIVOS,  
ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-  
QUÍMICOS CALCULADOS E MÉTODOS DE  
RECONHECIMENTO DE PADRÃO”

Rosana Vendrame

Prof. orientador : Dr. Yuji Takahata

Campinas - SP

1.998



200101367

UNIDADE	ICQ		
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP		
	V553a		
V.	Ex.		
TOMBO BC/	43505		
PROC.	16-292/01		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00		
DATA	30/02/01		
N.º CPD			

CM-00153976-9

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP**

Vendrame, Rosana

V553e      Estudo das relações entre estrutura-atividade de progestogênios contraceptivos, através da utilização de parâmetros físico-químicos calculados e métodos de reconhecimento de padrão. / Rosana Vendrame. Campinas, [SP : s.n.], 1998.

Orientador: Yuji Takahata.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.

I. Semi-empírico. I. Takahata, Yuji. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE FÍSICO-QUÍMICA**

**“ESTUDO DAS RELAÇÕES ENTRE ESTRUTURA-ATIVIDADE DE  
PROGESTOGÊNIOS CONTRACEPTIVOS, ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE  
PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS CALCULADOS E MÉTODOS DE  
RECONHECIMENTO DE PADRÃO”**

**Rosana Vendrame**

**Tese apresentada ao Instituto de Química  
da Unicamp como requisito para obtenção  
do título de Doutor em Ciências na área  
de Físico-Química**

**Banca Examinadora**

**Presidente: Prof. Dr. Yuji Takahata**  
**2º Examinador: Prof. Dr. Alberto dos Santos Marques (DQ-UFPB)**  
**3º Examinador: Profa. Dra. Antônia Tavares do Amaral (IQ-USP)**  
**4º Examinador: Prof. Dr. Nelson Henrique Morgon (IQ-Unicamp)**  
**5º Examinador: Prof. Dr. Fred Yukio Fujiwara (IQ-Unicamp)**

**Ao Sérgio e**

**Thaís e Diego**

**“estaremos, porém, satisfeitos com  
todos estes resultados?**

**Não! Mil vezes não!**

**Deus nos livre dos homens satisfeitos  
com o que já realizaram.**

**É o começo da decadência.**

**A característica do homem de consciência,  
como a do artista, é a insatisfação  
e a ânsia do aperfeiçoamento”.**

**(Zeferino Vaz)**

## **AGRADECIMENTOS**

- Ao Prof. Dr. Yuji Takahata, pela sugestão do tema deste trabalho, pelas discussões sempre oportunas, pela amizade e pela grandiosidade pessoal, condições que facilitaram e viabilizaram este projeto.
- Ao Prof. Dr. Yushiuki Hase pela orientação ao substituir o Prof. Dr. Yuji Takahata durante sua viagem.
- À Profa. Dra. Márcia M. C. Ferreira pelos ensinamentos sobre o manuseio do programa Pirouette.
- Ao corpo docente do IQ pelos muitos ensinamentos no decorrer deste curso.
- Ao Centro Nacional de Computação de Alto Desempenho - CENAPAD – Unicamp pela utilização de seus ambientes computacionais.
- Aos amigos do Instituto de Química – Unicamp Aline Thais Bruni, Anderson C. Gaudio, Edilson Grünheidt Borges, Lucicleide Ribeiro Cirino, Maria Cristina A. Costa e Ignez Marone.
- Ao meu esposo Sérgio e aos meus filhos Thais e Diego pela compreensão, ajuda e incentivo ao longo destes anos.
- À todos que, de alguma forma, colaboraram para a execução deste trabalho.
- À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP pelo suporte financeiro deste projeto.

## ÍNDICE ANALÍTICO

<b>CAPÍTULO I – Introdução.....</b>	<b>1</b>
I.1 – Motivação do Projeto.....	1
I.2 – O que são esteróides.....	14
I.3 – Breve histórico sobre contraceptivos orais.....	18
I.4 – Mecanismo de Ação de Hormônios Esteroidais.....	27
<b>CAPÍTULO II – Compostos Estudados, Atividades de Interesse, Objetivos e Metodologia Empregada.....</b>	<b>34</b>
II.1 – Atividade Biológica e Efeitos Farmacológicos dos progestogênios.....	34
II.2 – Compostos Estudados.....	37
II.3 – Atividades Biológicas e Efeitos Farmacológicos de interesse neste trabalho...	46
II.4 – Objetivos.....	54
II.5 – Métodos Teóricos.....	57
II.6 – Análise dos Dados.....	61
II.7 – Conformação de esteróides.....	62
II.8 – Atividade Biológica.....	66
<b>CAPÍTULO III – Metodologia .....</b>	<b>68</b>
III.1 – Estudos das correlações estrutura-atividade.....	68
III.1.1 – Parâmetros Moleculares.....	70
III.1.1.a – Parâmetros químicos baseados na estrutura molecular 3D.....	71
III.1.1.b – Parâmetros químicos baseados em propriedades físico-químicas moleculares.....	72
III.1.1.c - Parâmetros químicos baseados na representação da molécula, usando dados de espectroscopia e “química computacional”.....	77
III.1.1.d – Parâmetros físico-químicos empregados em nossos estudos.....	78
III.1.2 – Análise Estatística.....	83
III.1.3 – O Modelo.....	85

<b>CAPÍTULO IV – Receptores de Hormônios Esteroidais.....</b>	<b>114</b>
IV.1 – Descrição.....	114
IV.2 – Mecanismo de Ação dos Hormônios Esteroidais com seus Receptores.....	122
<b>CAPÍTULO V – Atividade Contraceptiva Oral e Atividade Androgênica de Progesterogênios Utilizados Atualmente em Formulações de Contraceptivos Orais Combinados.....</b>	<b>89</b>
V.1 – Atividade Contraceptiva Oral.....	135
V.1.a – Interações fármaco-receptor.....	159
V.2 – Atividade Androgênica.....	162
V.2.a - Interações fármaco-receptor.....	177
<b>CAPÍTULO VI – Atividade Progestacional oral de uma série de 17<math>\alpha</math>-acetoxiprogesteronas substituídas.....</b>	<b>181</b>
VI.1 – Atividade progestacional oral de 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	181
VI.1.a - Interações fármaco-receptor.....	202
VI.2 – Análise preditiva para os três novos progesterogênios através de PCA.....	206
VI.3 – Análise preditiva para o subconjunto de 14 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas através de PCA.....	209
VI.4 – SAR através da utilização da rede neural para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	216
VI.4.1 – Aplicação de rede neural para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, utilizando 11 parâmetros físico-químicos.....	216
VI.4.2 – SAR através da utilização de rede neural para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, utilizando 4 parâmetros físico-químicos.....	227
VI.5 – QSAR através da utilização da rede neural para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	238
<b>CAPÍTULO VII – Afinidade de Ligação por Receptores de Progesterona e Afinidade de Ligação por Receptores de Androgênio.....</b>	<b>245</b>
VII.1 – Afinidade de Ligação por Receptores de Progesterona.....	245

VII.1.a – Interação entre fármaco-receptor.....	260
VII.2 – Afinidade de Ligação por Receptores de Androgênio.....	263
VII.2.a - Interação entre fármaco-receptor.....	275
<b>CAPÍTULO VIII - Afinidade de Ligação Relativa por SHBG (Sex Hormone Binding Globulin) Humano in vitro.....</b>	<b>278</b>
VIII.1 - Afinidade de Ligação por SHBG humano in vitro de determinado grupo de progestogênios.....	278
VIII.1.a - Interação entre fármaco-receptor.....	291
VIII.2 - Afinidade de Ligação por SHBG de um outro grupo de progestogênios....	294
VIII.2.a - Interação entre fármaco-receptor.....	302
<b>CAPÍTULO IX – Considerações Finais.....</b>	<b>306</b>
IX.1 – Sumário dos Resultados.....	306
IX.2 – Conclusões.....	317
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>325</b>
<b>Estruturas Moleculares obtidas com o programa Molden.....</b>	<b>335</b>
<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>370</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

Figura I.1 – Sistema de anéis de um esteróide com a numeração empregada internacionalmente para esteróides.....	15
Figura I.2 – Estrutura molecular da progesterona e dos três estrogênios naturais: estradiol, estriol e estrona.....	17
Figura I.3 – Localização das principais glândulas endócrinas do homem responsáveis pela produção dos hormônios citados ou incluídos em nosso estudo.....	18
Figura I.4 – Estrutura molecular da testosterona.....	19
Figura I.5 – Estruturas moleculares de noretindrona e noretinodrel.....	21
Figura I.6 – Estruturas moleculares: etinilestradiol, 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona e 19-nortestosterona.....	24
Figura I.7 – Estruturas moleculares: desogestrel, gestodene e norgestimato.....	26
Figura I.8 – Organização Hierárquica da regulação endócrina sob o comando do hipotálamo.....	28
Figura I.9 – Folículo liberando um óvulo na superfície do ovário.....	31

### CAPÍTULO II

Figura II.1 – Nascimento de um novo medicamento.....	55
--	----

### CAPÍTULO III

Figura III.1 – Esquema geral para estudo de correlação estrutura-atividade.....	69
Figura III.2 – Diagrama de blocos sistemático para análise estatística em QSAR e SAR....	84
Figura III.3 a – Matriz de dados, X.....	99
Figura III.3.b – Representação gráfica dos pontos relativos à k-ésima e à j-ésima amostras, com variáveis (1,2...i...p).....	101
Figura III.3.c – Representação dos dados X num espaço tridimensional e do ponto central X'.....	104

Figura III.3.d - Representação da primeira componente principal.....	105
Figura III.3.e - Representação das duas primeiras componentes principais.....	106
Figura III.3.f - Três camadas da rede neural.....	108

## **CAPÍTULO IV**

Figura IV.1 – Representação esquemática dos RP's do tipo A e B.....	117
Figura IV.2 – Sequência de aminoácidos dos receptores humanos de progestogênios do tipo B.....	118
Figura IV.3 – Seis regiões (A-F) dos receptores hormonais nucleares.....	119
Figura IV.4 - Representação esquemática de um receptor nuclear de esteróides.....	119
Figura IV.5 - Representação esquemática de RP's e RA's.....	120
Figura IV.6 - Representação esquemática de RP presente em células de coelhos e em células humanas.....	120
Figura IV.7 – Três regiões dos RP's: uma amino-terminal, outra que se liga ao DNA e a terceira carboxil-terminal.....	121
Figura IV.8 – Modelo da interação entre o receptor de esteróide e o esteróide.....	123
Figura IV.9 – Outra representação hipotética do modelo de interação entre o receptor de esteróide e o esteróide.....	124
Figura IV.10 – Esquema sumário da fosforilação de RP.....	126
Figura IV.11 – O processo cíclico de fosforilação.....	129
Figura IV.12 – Estrutura da serina fosforilada (fosfoserina).....	131
Figura IV.13 – A estrutura de um resíduo serina na proteína.....	133

## **CAPÍTULO V**

Figura V.1 – Atividade Contraceptiva Oral de progestogênios utilizados atualmente em COCs.....	135
Figura V.2 – Seis progestogênios: (I)Progesterona, (II)Noretisterona, (III)Norgestimato, (IV)Levonorgestrel, (V)Desogestrel e (VI)Gestodene.....	137

Figura V.3 – Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando três parâmetros físico-químicos.....	138
Figura V.4 – Gráfico dos loadings, utilizando três parâmetros físico-químicos.....	139
Figura V.5 – Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	140
Figura V.6 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando quatro parâmetros físico-químicos.....	145
Figura V.7 - Gráfico dos loadings, utilizando quatro parâmetros físico-químicos.....	146
Figura V.8 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	147
Figura V.9 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando cinco parâmetros físico-químicos.....	149
Figura V.10 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos.....	150
Figura V.11 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	151
Figura V.12 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando seis parâmetros físico-químicos.....	156
Figura V.13 - Gráfico dos loadings, utilizando seis parâmetros físico-químicos.....	157
Figura V.14 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	158
Figura V.15 - Modelo de interação do progestogênio com o receptor de progesterona.....	161
Figura V.16 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando três parâmetros físico-químicos.....	163
Figura V.17 - Gráfico dos loadings, utilizando três parâmetros físico-químicos.....	164
Figura V.18 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	165
Figura V.19 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando cinco parâmetros físico-químicos.....	168
Figura V.20 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos.....	169
Figura V.21 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	170
Figura V.22 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando sete parâmetros físico-químicos.....	172
Figura V.23 - Gráfico dos loadings, utilizando sete parâmetros físico-químicos.....	173
Figura V.24 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	174
Figura V.25 - Interação proposta entre progestogênio e reagente eletrofilico na posição 9 do EET.....	179

Figura V.26 - Interação proposta do progestogênio com reagentes radicalares nas posições 7 e 9 do EET.....	179
--	-----

## CAPÍTULO VI

Figura VI.1 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando onze parâmetros fisico-químicos.....	183
Figura VI.2 - Gráfico dos loadings, utilizando onze parâmetros fisico-químicos.....	184
Figura VI.3 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	185
Figura VI.4 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando onze parâmetros fisico-químicos.....	187
Figura VI.5 - Gráfico dos loadings, utilizando onze parâmetros fisico-químicos.....	188
Figura VI.6 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	189
Figura VI.7 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando onze parâmetros fisico-químicos.....	193
Figura VI.8 - Gráfico dos loadings, utilizando onze parâmetros fisico-químicos.....	194
Figura VI.9 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	195
Figura VI.10 - Modelo representativo das interações entre as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas e o receptor de progesterona.....	205
Figura VI.11 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando onze parâmetros fisico-químicos.....	207
Figura VI.12 - Gráfico dos escores das componentes principais(PCs), no qual a molécula XVIII foi omitida .....	212
Figura VI.13 - Gráfico dos escores das componentes principais(PCs), no qual a molécula XVIII foi repostada .....	213
Figura VI.14 - Gráfico dos escores das componentes principais(PCs), no qual a molécula IV foi omitida .....	214
Figura VI.15 - Gráfico dos escores das componentes principais(PCs), no qual a molécula IV foi repostada .....	215

## **CAPÍTULO VII**

Figura VII.1 - Afinidade de ligação relativa por receptores de progesterona.....	247
Figura VII.2 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando seis parâmetros físico-químicos.....	249
Figura VII.3 - Gráfico dos loadings, utilizando seis parâmetros físico-químicos.....	250
Figura VII.4 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	251
Figura VII.5 - Modelo de interação entre progestogênio e receptor de progesterona.....	260
Figura VII.6 - Interação proposta entre progestogênio e reagente nucleofílico nas posições 4 e/ou 5 do EET.....	262
Figura VII.7 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando seis parâmetros físico-químicos.....	265
Figura VII.8 - Gráfico dos loadings, utilizando seis parâmetros físico-químicos.....	266
Figura VII.9 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	267
Figura VII.10 - Interações propostas entre progestogênios e receptores de androgênio.....	276

## **CAPÍTULO VIII**

Figura VIII.1 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando cinco parâmetros físico-químicos.....	282
Figura VIII.2 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos.....	283
Figura VIII.3 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	284
Figura VIII.4 - Modelo de interação do esteróide com SHBG.....	292
Figura VIII.5- Afinidade de ligação relativa por SHBG.....	295
Figura VIII.6 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando cinco parâmetros físico-químicos.....	296
Figura VIII.7 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos.....	297
Figura VIII.8 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico(Hier).....	298
Figura VIII.9 - Modelo da interação entre as moléculas estudadas e o sítio receptor do SHBG.....	304

## ÍNDICE DE TABELAS

### CAPÍTULO II

Tabela II.1 – Progestogênios sintéticos utilizados atualmente em formulações de COCs e alguns de seus metabólitos.....	39
Tabela II.2 – Outros esteróides.....	40
Tabela II.3 – Progesterona, Testosterona e derivados.....	41
Tabela II.4 - 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona (17 $\alpha$ AP) e alguns de seus derivados.....	42
Tabela II.5 – Outros derivados de 17 $\alpha$ AP.....	43
Tabela II.6 – Outros derivados de 17 $\alpha$ AP.....	44
Tabela II.7 - Outros derivados de 17 $\alpha$ AP.....	45
Tabela II.8 – Atividade Biológica (log 1/IC) para progestogênios usados atualmente em formulações de contraceptivos orais.....	47
Tabela II.9 – Efeito Androgênico relativo para a mesma série de moléculas.....	47
Tabela II.10 – Atividade biológica progestacional de 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	49
Tabela II.11 – Afinidade de ligação relativa de progestogênios contraceptivos por receptores de progesterona e receptores de androgênios.....	51
Tabela II.12 – Afinidade de ligação relativa por SHBG humano in vitro.....	53
Tabela II.13 – Afinidade de ligação por SHBG em porcentagem de progestogênios na forma ligada ao mesmo.....	53

### CAPÍTULO V

Tabela V.1 – Cargas atômicas na posição 17 (CA17) para as moléculas II, III, IV, V e VI.....	141
Tabela V.2 – Potenciais de Ionização (PIs) para as moléculas I, II, III, IV, V e VI.....	148
Tabela V.3 – Eletronegatividade de Mulliken ( $\chi$ ) para as moléculas I, II, III, IV, V e VI.....	152
Tabela V.4 – Afinidades Eletrônicas (AE) para as moléculas I, II, III, IV, V e VI.....	154

Tabela V.5 – Densidade do elétron de fronteira nas posições 7, 9 e 10 do EET, densidade do orbital de fronteira na posição 9 do EET e densidade do radical de fronteira nas posições 7, 9 e 10 do EET.....	176
--	-----

## CAPÍTULO VI

Tabela VI.1 – Intervalo de variação dos parâmetros selecionados por PCA para as moléculas mais e menos ativas.....	201
Tabela VI.2 – Predição de categorias para o subconjunto das 14 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	211
Tabela VI.3 – Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 14 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	218
Tabela VI.4 – Resultados da predição em categorias obtidos, com o método de rede neural, para as sete 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas adicionadas.....	221
Tabela VI.5 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 21 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	223
Tabela VI.6 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	225
Tabela VI.7 – Percentual de acerto na classificação molecular, através de modelo não preditivo, utilizando PCA e ReNe, para o subconjunto das 14 e 21 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas e para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	226
Tabela VI.8 - Percentual de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo, utilizando PCA e ReNe, para o subconjunto das 14 e 21 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas e para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	227
Tabela VI.9 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 14 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	229
Tabela VI.10 - Percentual de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo e não preditivo de rede neural, utilizando 11 e 4 parâmetros físico-químicos, para o subconjunto das 14 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	230

Tabela VI.11 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 21 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	231
Tabela VI.12 - Percentual de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo e não preditivo de rede neural, utilizando 11 e 4 parâmetros físico-químicos, para o subconjunto das 21 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	233
Tabela VI.13 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	234
Tabela VI.14 - Percentual de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo e não preditivo de rede neural, utilizando 11 e 4 parâmetros físico-químicos, para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.....	235
Tabela VI.15 – Percentual de acerto na classificação molecular para os subconjuntos de 14 e 21 moléculas e conjunto de 23 moléculas, usando 11 e 4 parâmetros. Modelo preditivo.....	237
Tabela VI.16 - Percentual de acerto na classificação molecular para os subconjuntos de 14 e 21 moléculas e conjunto de 23 moléculas, usando 11 e 4 parâmetros. Modelo não preditivo.....	237
Tabela VI.17 – Análise QSAR para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. No. neurônios 2 <sup>a</sup> camada igual a 22.....	240
Tabela VI.18 - Análise QSAR para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. No. neurônios 2 <sup>a</sup> camada igual a 44.....	242
Tabela VI.19 - Análise QSAR para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. No. neurônios 2 <sup>a</sup> camada igual a 22. $\epsilon$ igual a 0,2.....	243

## CAPÍTULO VII

Tabela VII.1 – Densidade do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET.....	256
Tabela VII.2 – Ordem crescente de afinidade de ligação por RAs e parâmetros físico-químicos selecionados pelos métodos de PCA e Hier.....	269

## **CAPÍTULO VIII**

Tabela VIII.1 – Ordem crescente de afinidade de ligação relativa ao SHBG e parâmetros físico-químicos selecionados pelos métodos de PCA e Hier.....	286
Tabela VIII.2 - Ordem decrescente de afinidade de ligação por SHBG e parâmetros físico-químicos selecionados pelos métodos de PCA e Hier.....	300

## Abreviações

- AE - Afinidade Eletrônica  
ABs - Atividades Biológicas  
Ac - Acre  
Al - Alagoas  
Am - Amazonas  
AM - Área Molecular  
Ap - Amapá  
ANGM - 17-acetil-norgestimato  
AP - Acetoxiprogesterona  
Ba - Bahia  
Ban - Bangladeche  
Br - Brasil  
Can - Canadá  
CE - Carga elétrica  
Ce - Ceará  
CDSG - 3-ceto-desogestrel  
Ch - China  
CNGM - 3-ceto-norgestimato  
COs - Contraceptivos Orais  
COCs - Contraceptivos Orais Combinados  
Da - Dalton - representa a massa molecular de uma partícula; um dalton é definido como 1/12 da massa do átomo de  $^{12}\text{C}$  ou 1u.m.a.  
DF - Distrito Federal  
DHT - dihidrotestosterona  
DSG - Desogestrel  
EE - Etinilestradiol  
EET - Esqueleto Esteroidal  
ES - Espírito Santo  
ET - 17 $\alpha$ -etinil testosterona  
EU - Estados Unidos  
 $F_k^e$  - Densidade Eletrônica de Fronteira do k-ésimo átomo  
FSH - (Follicle- Stimulating Hormone)- Hormônio Foliculo- Estimulante  
 $F_k^o$  - Densidade do Orbital de Fronteira do k-ésimo átomo  
 $F_k^r$  - Densidade do Radical de Fronteira do k-ésimo átomo  
G-Bi - Guiné-Bissau  
GnHR - (Gonadotropin Releasing Hormone)-Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

Go - Goiás  
GSD - Gestodene  
Hier -(Hierarchical Clustering Method)-Método do Agrupamento Hierárquico  
hRP - Receptor de Progesterona humano  
In - Índia  
Ind - Indonésia  
IC - Concentração Molar diária de droga para inibir a ovulação  
Jap - Japão  
LH - (Luteinizing Hormone)- Hormônio Luteinizante  
LNG - Levonorgestrel  
LP - coeficiente de partição molecular octanol/água (Log P)  
M - Moléculas  
Ma - Maranhão  
MG - Minas Gerais  
MS - Mato Grosso do Sul  
MT - Mato Grosso  
NET - Noretisterona  
NGM - Norgestimato  
Nig - Nigéria  
 $\eta$  - Dureza Molecular  
ONU - Organização das Nações Unidas  
P - Progesterona  
Pa - Pará  
Paq - Paquistão  
Pb - Paraíba  
Pe - Pernambuco  
Pi - Piauí  
PI - Potencial de Ionização  
Pr - Paraná  
PR - Parâmetros  
PCA - (Principal Component Analysis) - Análise dos Componentes Principais  
PC - Componente Principal  
RA - Receptor de Androgênio  
RBA - (Relative Binding Affinity) - Afinidade de Ligação Relativa  
RE - Receptor de Estrogênio  
ReNe - Rede Neural  
RI - Receptor Intracelular  
RJ - Rio de Janeiro  
RMN - Ressonância Magnética Nuclear

RN - Rio Grande do Norte  
Ro - Rondônia  
RP - Receptor de Progesterona  
Rr - Roraima  
RS - Rio Grande do Sul  
Rus - Rússia  
SAR - (Structure- Activity Relationships) - Relação Estrutura-Atividade  
SC - Santa Catarina  
Se - Sergipe  
SHBG-(Sex Hormone-Binding Globulin)-Hormônio Sexual Ligado à Globulina  
SP - São Paulo  
Sue - Suécia  
T- testosterona  
To - Tocantins  
Ug - Uganda  
VM- Volume Molecular  
WT - Washington  
 $\chi$  - Eletronegatividade de Mulliken

## RESUMO

Geometrias moleculares de 23  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas e demais 11 esteróides foram calculadas com o método semi-empírico AM1. Propriedades moleculares foram calculadas a partir de funções de onda geradas pelo AM1 e outros métodos computacionais. As propriedades moleculares podem ser classificadas como: eletrônicas, estéricas e hidrofóbicas. Estes parâmetros foram analisados pelos métodos de Análise de Componentes Principais (PCA), Diagrama Hierárquico e Rede Neural, na tentativa de relacioná-los às suas atividades biológicas e efeitos farmacológicos: atividade contraceptiva oral, efeito androgênico, atividade progesterônica, afinidade de ligação por Receptores de Progesterona, afinidade de ligação por Receptores de Androgênio e afinidade de ligação por SHBG.

Boas correlações entre os parâmetros calculados e atividade biológica foram obtidas para os grupos moleculares estudados, tanto por PCA como por rede neural. Porém, o método da Rede Neural mostrou-se pouco mais vantajoso que Análise de Componentes Principais, no modelo de classificação. PCA foi efetivo na escolha de parâmetros úteis.

Parâmetros como potencial de ionização, dureza molecular, carga atômica na posição 13 do esqueleto esteroide (EET), densidade do elétron de fronteira nas posições 10 e 13 do EET, densidade do orbital de fronteira na posição 4 do EET, densidade do orbital de fronteira na posição 5 do EET, densidade do orbital de fronteira na posição 9 do EET e densidade do radical de fronteira na posição 10 do EET possuem faixas ótimas de variação que favorecem determinadas atividades ou efeitos farmacológicos.

Ficou constatada a natureza oposta entre receptores de progesterona e androgênio.

## **ABSTRACT**

Molecular geometries of 23  $17\alpha$ -acetoxyprogesterones substituted and other 11 steroids were calculated with the semi-empirical method AM1. Molecular properties were calculated using the wave functions generated by AM1 as well as other computational methods. The molecular properties can be classified as: electronic, steric and hydrophobic. These parameters were analyzed by the methods of Principals Components Analysis (PCA), Hierarchical Diagram and Neural Network, in the attempt of relating them to its biological activities and pharmacological effects: oral contraceptive activity, androgenic effect, progestational activity, binding affinity for Progesterone Receptors, binding affinity for Androgenic Receptors and binding affinity for SHBG.

Good correlations between the calculated parameters and the biological activities were obtained for the studied molecular groups, with PCA as well as neural network. However, the neural network method was shown to be slightly more advantageous than Principals Components Analysis, in the classification model. PCA was found to be effective in choosing useful parameters.

Parameters such ionization potential, molecular hardness, atomic charge in the position 13 of the steroidal skeleton (EET), density of the frontier electron in the positions 10 and 13 of EET, density of the frontier orbital in the position 4 of EET, density of the frontier orbital in the position 5 of EET, density of the frontier orbital in the position 9 of EET and density of the frontier radical in the position 10 of EET possesses optimum range of variation that favor certain activities or pharmacological effects.

The opposite nature between progesterone and androgen receptors was verified.

## **CAPÍTULO I - Introdução**

### **I.1 – Motivação do projeto**

Há 1.000 anos atrás, quando a espécie humana entrou no 2º milênio, a população mundial não excedia 300 milhões de pessoas, e a expectativa de vida era provavelmente similar as dos países como Angola e Gâmbia nos anos de 1.950: cerca de 30 anos.

Em 1.950, a população global era cerca de 2.500 milhões, e a expectativa média de vida cerca de 46 anos.

Daqui há 2 anos, no ano 2.000, quando a espécie humana entrar no 3º milênio, a população mundial excederá 6.200 milhões, e a expectativa média de vida será cerca de 68 anos. A raça humana está crescendo e envelhecendo rapidamente... (1).

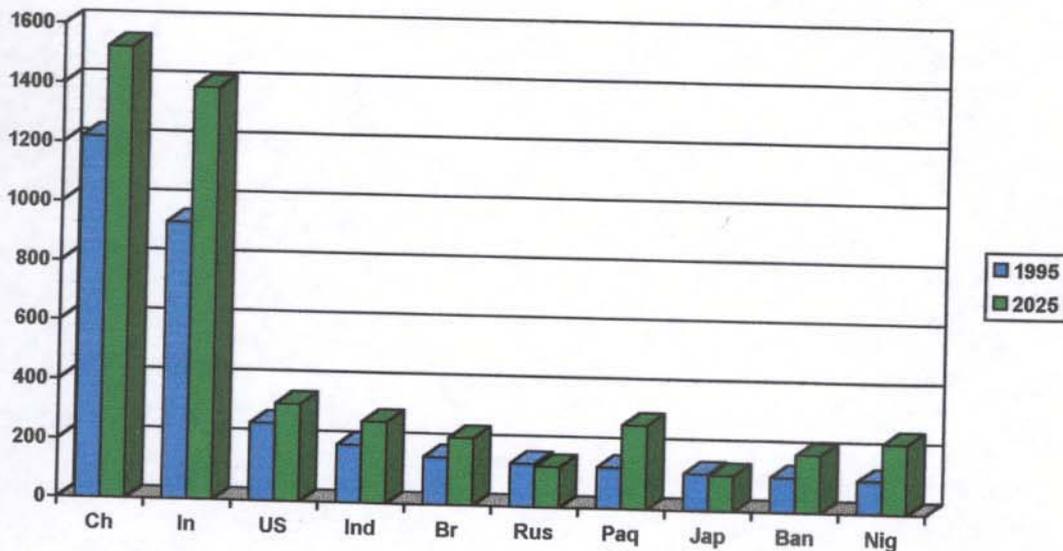
Em 1.996, a população do mundo totalizou 5.800 milhões de habitantes, segundo a Organização das Nações Unidas (ONU). O continente mais povoado é a Ásia, com 3.506,2 milhões de habitantes, seguido da América (781,9 milhões), África (747,9 milhões), Europa (745,4 milhões) e Oceania (28,7 milhões).

O século XX é marcado por um crescimento populacional sem precedentes na história da humanidade. Desde os primórdios da história até cerca de 1.800, a população do mundo cresce vagarosamente, atingindo, nessa época, 1 bilhão de pessoas. O segundo bilhão, no entanto, é alcançado cerca de 125 anos mais tarde e o terceiro bilhão, em 33 anos, por volta de 1.960. Para se chegar ao quarto bilhão, foram necessários apenas 14 anos (1.974), e ao quinto, 13 anos (1.987). Estimativas da ONU apontam que o próximo bilhão será completado até 1.998.

Segundo a ONU, a cada ano somam-se 86 milhões de novos habitantes ao planeta, projeção feita para o período de 1.996-2.015. A mesma organização estima entre 7.100 milhões e 7.830 milhões o número de habitantes do mundo em 2.015. Se o total for de 7.100 milhões, a população do mundo terá crescido 1,3 bilhão em 20 anos, o equivalente à população atual da Europa e África juntas (2).

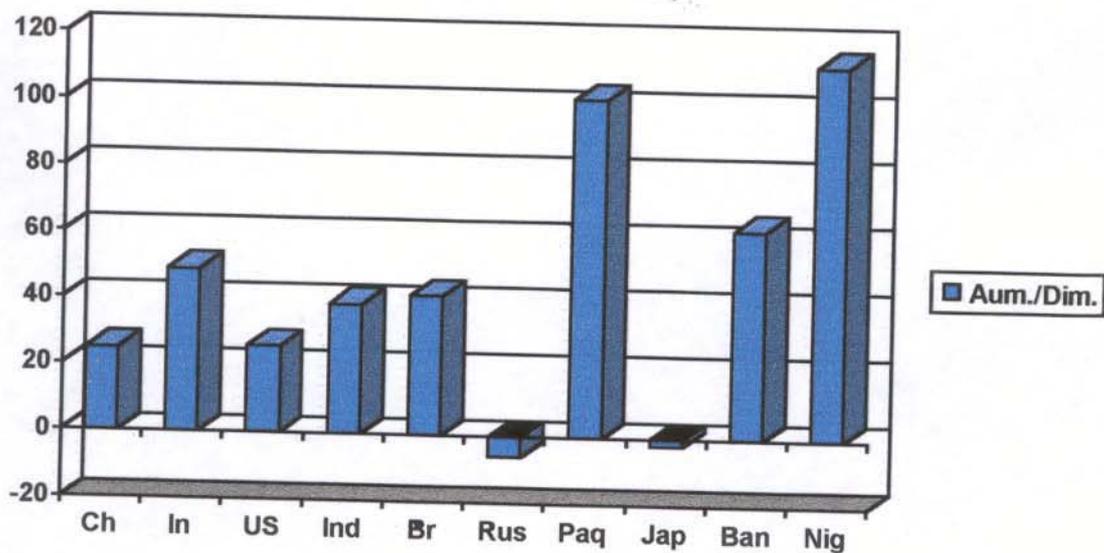
As diferentes taxas de crescimento populacional terão um efeito marcante no tamanho da população de muitos países, particularmente nos 10 mais populosos do mundo, como mostrado nos Gráficos 1 e 2.

Gráfico 1 - Estimativas e projeções do tamanho populacional ( milhões de pessoas) nos 10 países mais populosos do mundo em 1.995 e 2.025.



Fonte: UNFPA;1.995.

Gráfico 2- Estimativa do aumento ou diminuição (%) da população nos 10 países mais populosos, de 1.995 à 2.025.

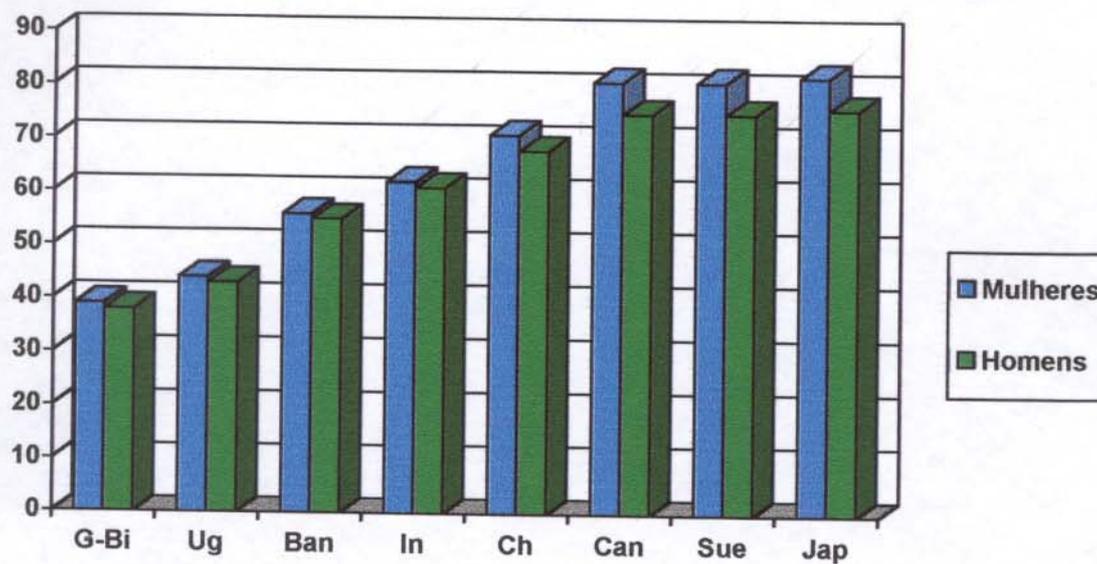


Fonte: UNFPA;1.995.

Enquanto as populações do Japão e da Rússia decrescerão, as populações do Paquistão e Nigéria, no mínimo, dobrarão. O crescimento populacional esperado da Nigéria é um bom indicador da tendência futura da África, pois muitos outros países desta região como Etiópia, Quênia, Tanzânia, Uganda, Zaire, etc, também esperam um aumento de mais de 100% em suas populações entre 1.995 e 2.025. A população da África atualmente de 0,7 bilhões é estimada chegar à 1,6 bilhões no ano 2.025, enquanto a produção de alimento *per capita* tem caído consideravelmente desde 1.960.

Interessante observar também que, durante a segunda metade do século XX, a expectativa de vida aumentou substancialmente. Uma comparação da expectativa de vida das mulheres, entre 1950 e 1992, revela um aumento de 29 anos na China, de 24 anos na Índia e Indonésia, de 21 anos em Bangladesh e 16 anos no Brasil. Como podemos observar no gráfico 3, em 1.992, havia uma diferença de 43 anos na expectativa de vida de uma mulher que vivia na Guiné-Bissau e uma mulher que vivia no Japão. O gráfico 3 também mostra que existe uma diferença na expectativa de vida entre homens e mulheres; sendo somente de 1 ano na Índia, e de 6 anos em alguns países desenvolvidos, como Canadá, Japão ou Suécia.

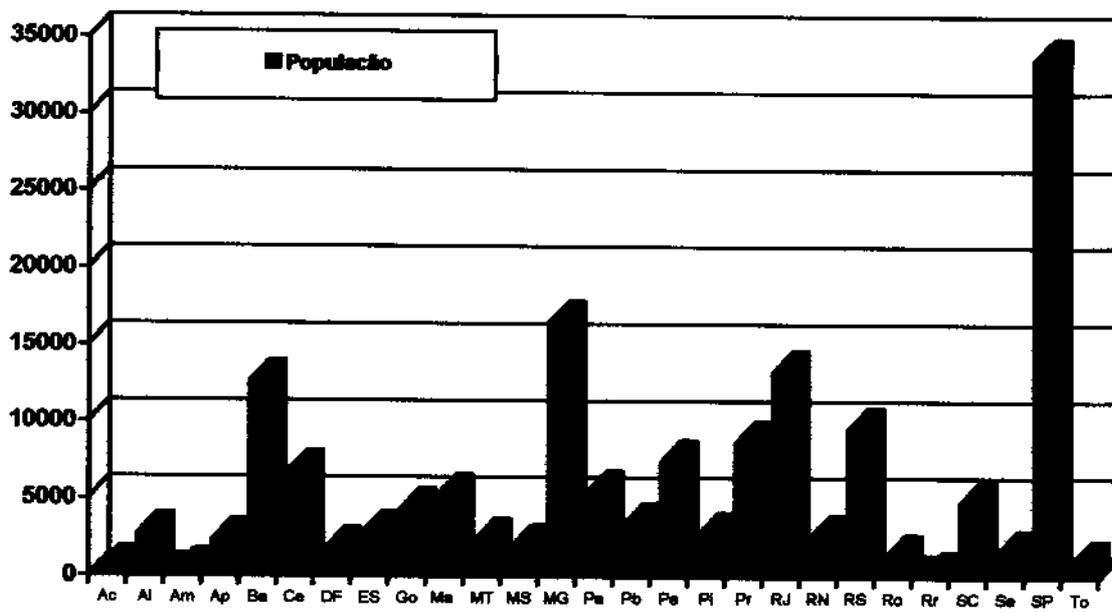
Gráfico 3 - Expectativa de vida (anos) em 1.992, em alguns países.



Fonte: World Development Report; 1.994 (1).

A população brasileira é de 155.822.440 habitantes, segundo as estimativas do IBGE para 1.995. Esta população encontra-se distribuída nos estados como no gráfico 4, a seguir:

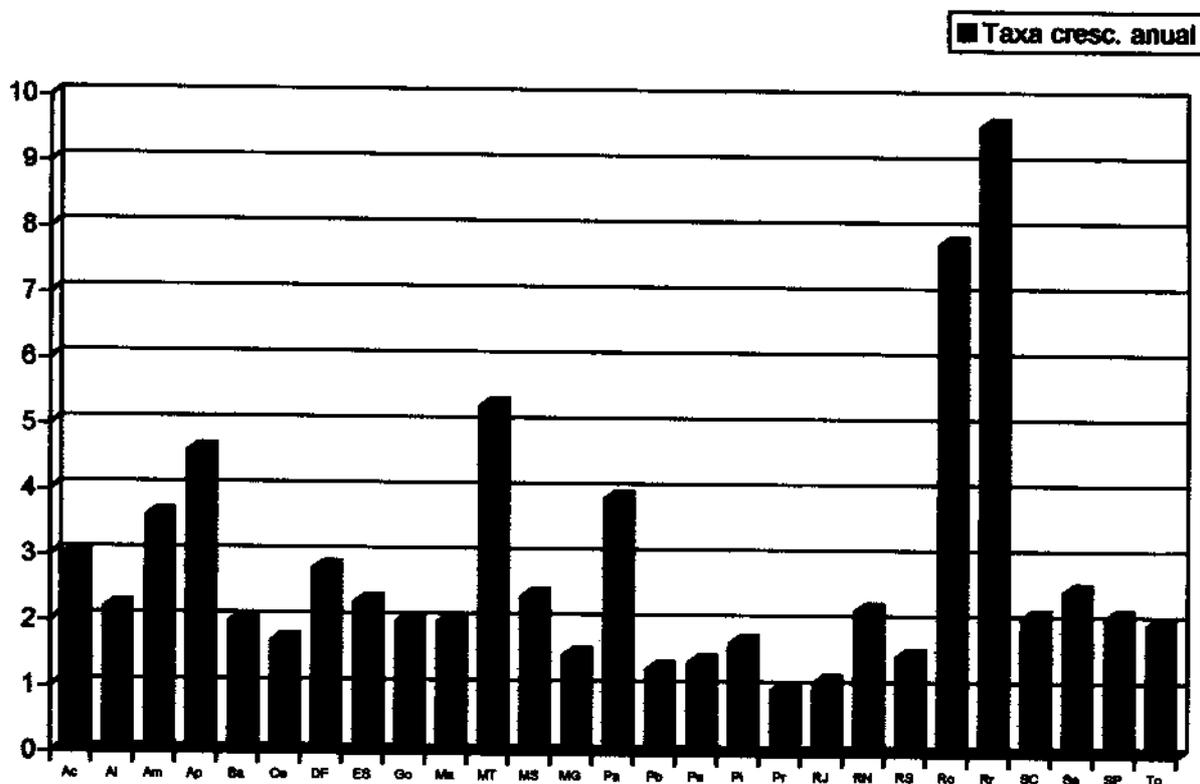
Gráfico 4 - Estimativa da população (em mil habitantes) até o ano de 1.995 nos diferentes Estados Brasileiros.



Fonte IBGE- 1.991

O gráfico 5 mostra a estimativa da taxa de crescimento anual (%) dos Estados Brasileiros até 1.995.

Gráfico 5 - Estimativa da taxa de crescimento anual (%) dos Estados Brasileiros até 1.995.



Fonte IBGE- 1.991

A taxa de crescimento populacional anual média do Brasil é de 1,93%.  
 Se fizermos uma estimativa da população brasileira, daqui há , por exemplo, 50 anos, veremos que a mesma chegará em torno de 400 milhões de pessoas.

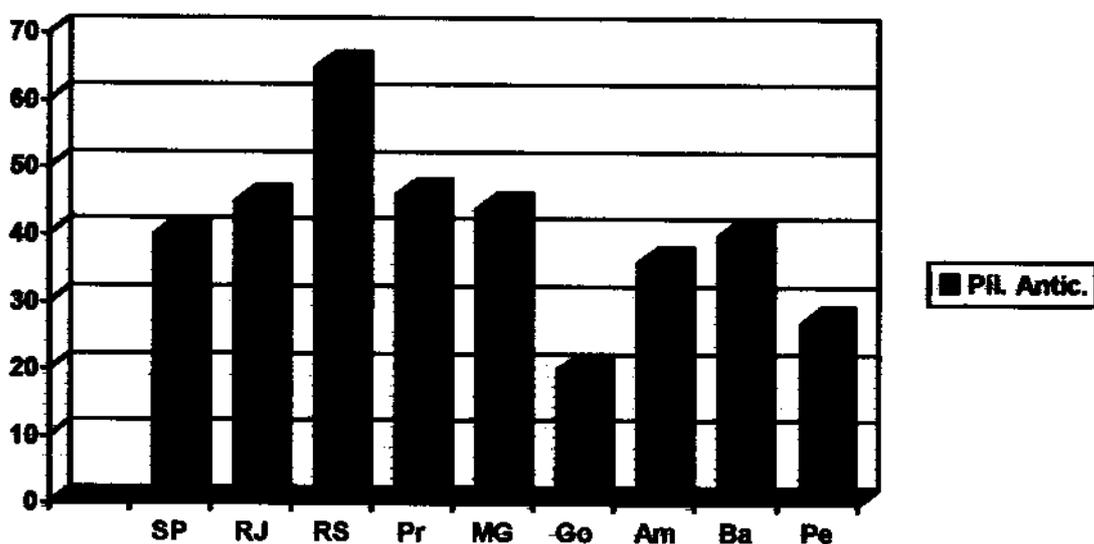
Daqui a 100 anos, deverá ultrapassar 1 bilhão de pessoas. O estado de São Paulo deverá conter aproximadamente 100 milhões de pessoas em 50 anos e 280 milhões em 100 anos (2).

Para frear o crescimento populacional, os governos e entidades civis em todo o mundo têm adotado programas de planejamento familiar que auxiliam as mulheres a terem menos gestações. A família desempenha uma função insubstituível na sociedade, como primeira escola de virtudes, valores humanos e cívicos que levam essa mesma sociedade ao desenvolvimento econômico acompanhado de perspectivas de progresso para toda a população, traduzidas em melhores condições de saúde e bem-estar (3). Nas últimas três décadas, o número de mulheres e homens que usam algum método anticoncepcional moderno excede 1 bilhão. Nos países em desenvolvimento, cerca da metade dos 760 milhões de casais em idade reprodutiva está usando métodos anticoncepcionais. Na Europa, América do Norte, Austrália e Japão, de 65% a 80% dos casais, usam métodos anticoncepcionais. A família média tem menos de 2 filhos.

O uso de pílulas anticoncepcionais representa uma das alternativas mais utilizadas para se realizar o planejamento familiar. No Brasil, o uso de pílulas anticoncepcionais por mulheres entre 15 a 54 anos, dos 71% de mulheres que

usam algum tipo de anticoncepcional, pode ser representado como no gráfico a seguir:

Gráfico 6 - Uso de anticoncepcionais por mulheres de 15 a 54 anos (% de mulheres que usam pílulas anticoncepcionais) de um total de 71% de mulheres que usam algum tipo de método anticoncepcional.



FONTE:IBGE -1.986

A média, no Brasil, é de 41% de usuárias de pílulas anticoncepcionais das 71% que utilizam algum tipo de método anticoncepcional (4).

A ONU realizou em 1.994 a Conferência Internacional sobre População e Desenvolvimento (CIPD), reunindo 180 países, na qual discutiram um

programa de ação de 20 anos para reduzir o ritmo de crescimento da população. Para a CIPD, diminuir o ritmo de crescimento populacional, reduzir a pobreza, atingir progresso econômico, melhorar a proteção ambiental e mudar padrões insustentáveis de produção e consumo são metas interligadas.

O crescimento populacional sem controle acarreta dilapidação dos recursos básicos: países com pouco ou nenhum desenvolvimento técnico poluem água ou arrasam florestas porque não têm como limpar rios e lagos, nem outra fonte de energia que não seja a lenha, por exemplo.

Padrões de consumo e desperdício dos EUA ou da Europa são insustentáveis, mesmo no Primeiro Mundo, cujo ritmo de crescimento populacional é pequeno. É necessário mudar comportamentos, se se quiser mudar essa perspectiva.

O mundo está preocupado com o futuro esgotamento das reservas de petróleo, estimadas por alguns como suficientes para abastecer o consumo por mais 50 anos e por outros por mais de um século. Todavia, os homens estão expostos a um risco muito maior e raramente se dão conta do perigo. Ocorre que as reservas de água potável do Planeta, que não são tão abundantes quanto geralmente se pensa, estão se exaurindo, se constituindo em mais uma das tantas ameaças para a vida. A Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) lançou em fevereiro de 1.994, um dramático

apelo ao mundo inteiro, para que esse recurso, cada vez mais escasso, seja utilizado com prudência. Levantamento das Nações Unidas comprovam que cerca de 232 milhões de pessoas, de 26 países, já sofrem periodicamente com a falta de água. A ONU prevê, que no futuro, essa escassez será fonte de conflitos entre nações, que podem desembocar em guerras. A FAO documentou a situação atual das reservas hídricas mundiais no livro “O estado mundial da agricultura”, reservando à questão um capítulo com 70 páginas. A FAO lembra que a agricultura é o setor que mais consome água no mundo. Quase metade da humanidade, 2,4 bilhões de pessoas, dependem do cultivo de irrigação para seu trabalho, alimentação e renda. Portanto, a água é, não somente um produto essencial ao organismo humano, dos animais e das plantas, mas um importante fator econômico (5).

Problemas dessa natureza ocorrem bem próximo a nós, como é o caso do Rio Atibaia, responsável pelo abastecimento de água de 90% do um milhão de moradores de Campinas e 10 milhões de moradores da Grande São Paulo e região de Campinas. Em decorrência, principalmente, do lançamento dos esgotos urbanos sem tratamento e dos efluentes industriais clandestinos, o Rio Atibaia foi se poluindo e, uma das consequências de sua degradação, foi o surgimento de florações de certo tipo de algas, que conferem à água mau cheiro e gosto de podridão. Em agosto de 1.997, a cidade de Campinas, por três dias,

recebeu em suas torneiras água fétida e com gosto de peixe podre. Hospitais suspenderam tratamentos de hemodiálise, os estoques de água mineral foram rapidamente consumidos. O descaso com este importante patrimônio pode conduzir à consequências desastrosas. Se este fato continuar a ser ignorado, brevemente a região mais rica do País se defrontará com o problema de falta de água (6).

No limiar do ano 2.000, a economia mundial, principalmente a dos países em desenvolvimento, se defrontará com um desafio alarmante: como criar 600 milhões de novos empregos? O alerta foi dado pela Organização Internacional do Trabalho (OIT), uma das agências setoriais da ONU, que leva em conta a situação de países como o Brasil, onde a economia não cresce há uma década e as variações demográficas continuam implacáveis. Só no Brasil, quase 2,5 milhões de brasileiros engrossam a oferta de mão-de -obra, anualmente (7).

Um balanço da Unicef (Fundo das Nações Unidas para a Infância), divulgou em dezembro de 1.993, em Paris, o quadro econômico/social da situação mundial: um em cada cinco habitantes da Terra sobrevive no mais completo desamparo, 14 milhões de menores morrem anualmente de moléstias evitáveis, 2 bilhões de seres humanos carecem de água potável. Além disso, 770 milhões passam fome, 900 milhões são analfabetos, 100 milhões deixam seus países em busca de trabalho. Em seu informe, divulgado pela Agência

France Presse, o Unicef resume esses fenômenos em um esquema simples: a “espiral PPM” (pobreza-pressão demográfica-meio ambiente). E continua: “Foram necessários milhares de anos para que a população da Terra chegasse a bilhões de habitantes. Porém, agora, o crescimento é cada vez mais rápido. Por causa das suas desastrosas consequências (desnutrição, desemprego, crescente pressão sobre os recursos naturais, aumento das necessidades em saúde e educação), a superpopulação toma características dramáticas no Terceiro Mundo, que carece de infra-estrutura e capitais (8).

É preciso que o planejamento familiar se estenda para maior número de familiares. Hoje 51% das famílias do mundo planejam os filhos que vão ter. Esse número precisaria crescer para 59% até o ano 2.000, levando o planejamento para mais 1,5 bilhão de homens e mulheres nos próximos 10 anos. Para isso, será necessário gastar anualmente 9 bilhões de dólares em campanhas de informação. Em 1.991 foram investidos apenas 675 milhões de dólares em programas de planejamento familiar (9).

Em 1.798, Thomas Robert Malthus concluiu que “o poder da população é infinitamente maior que a capacidade na terra de se produzir alimentos”, uma “desigualdade natural” que algum dia surgiria “insuperável no sentido da perfeição da sociedade”. Hoje, sabemos que o aumento populacional pressiona a capacidade da terra em produzir alimento, energia e matérias-primas. Os

progressos na medicina e saúde pública levaram a uma redução importante na taxa de mortalidade e a um aumento na expectativa de vida. Assim, a ciência médica começou a assumir uma parcela de responsabilidade pela superpopulação. Por fim, drogas sob a forma de hormônios e seus análogos foram desenvolvidos para controlar a fertilidade humana (10).

A pílula contraceptiva combinada estrogênio-progestogênio foi a principal fonte de controle de fertilidade por mais que três décadas (11) e espera-se que tenham importante participação no controle da explosão populacional do mundo. A pequena, mas concreta, incidência de efeitos colaterais que ocorrem como resultado desses agentes deve ser levada em consideração em relação a algumas das consequências do crescimento populacional descontrolado (10).

## **I.2 - O que são esteróides**

Como os progestogênios empregados, no presente estudo, pertencem à classe de compostos denominada esteróides, alguns conhecimentos a cerca dos mesmos torna-se oportuno. Os esteróides formam uma importante classe de compostos biologicamente ativos. Mais que 150 esteróides foram registrados e

usados em terapia. No presente, estima-se que cerca de 50 drogas esteroidais experimentais estão passando por testes clínicos e/ou de segurança (12).

Três classes de esteróides foram identificadas, baseadas em suas funções biológicas. São elas: esteróides adrenais (cortisol e aldosterona), esteróides sexuais (estrogênio, progesterona e testosterona) e calcitriol (o metabólito da vitamina D<sub>3</sub>, 1 $\alpha$ ,25-dihidroxicolecalciferol). Os esteróides adrenais controlam o metabolismo de carboidratos, promovem a retenção de água e sódio no corpo, facilitam a excreção de potássio entre muitas outras funções. Os hormônios sexuais são responsáveis pelo desenvolvimento embrionário e pela aquisição de características sexuais secundárias. Calcitriol é necessário para o metabolismo de cálcio (13).

Os esteróides constituem uma classe de compostos muito abundante e importante que possuem uma estrutura básica comum (esqueleto) de 4 anéis designada (per-hidro-ciclo-pentano-fenantreno):

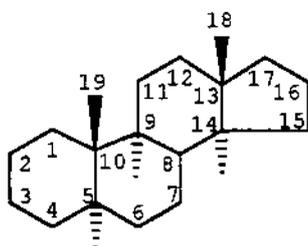
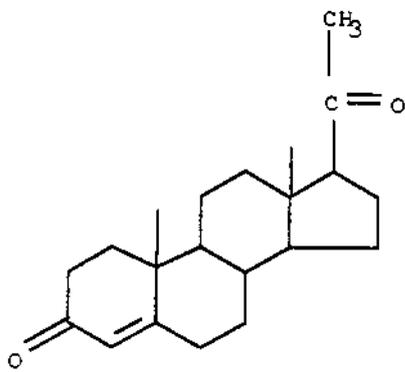


Figura I.1 - Sistema de anéis de um esteróide com a numeração empregada internacionalmente para esteróides.

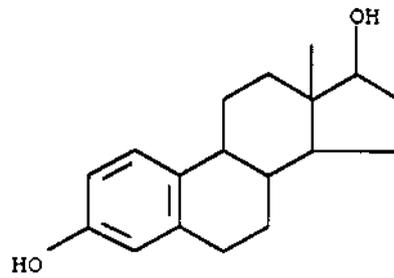
A numeração mostrada na figura I.1 será a mesma utilizada para todas as moléculas incluídas em nosso estudo.

Esteróides são moléculas aproximadamente planas e inflexíveis. Seu esqueleto básico é relativamente rígido. Os substituintes situados acima do plano do papel são ditos em configuração  $\beta$ , enquanto os substituintes situados abaixo do plano do papel são ditos em configuração  $\alpha$  (14).

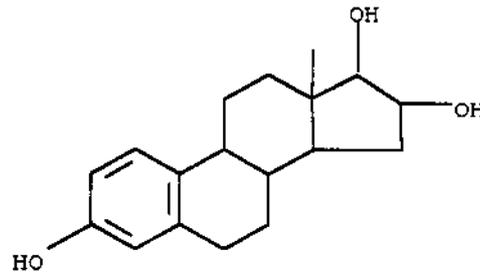
É oportuno lembrar que os esteróides de nosso interesse são os esteróides sexuais, mais precisamente os progestogênios que ligam-se aos receptores de progesterona. Estes compostos são também chamados de hormônios esteroidais. Os hormônios são substâncias produzidas em pequenas quantidades por glândulas endócrinas variadas. Servem como mensageiros químicos que são levados pelo sangue a órgãos-alvo diversos, onde regulam inúmeras atividades metabólicas e fisiológicas nos vertebrados. A formação cíclica e controlada de estrogênios e progesterona, os dois tipos distintos de hormônios sexuais femininos, é função peculiar do ovário. Na figura I.2, a seguir, podemos observar a estrutura molecular da progesterona e dos três estrogênios humanos naturais: o estradiol, o estriol e a estrona.



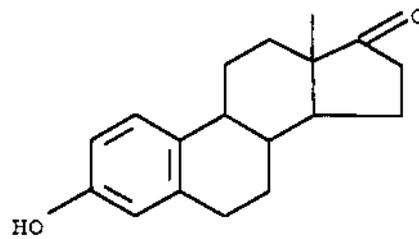
Progesterona



Estradiol



Estriol



Estrona

Fig.I.2 - Estrutura molecular da progesterona e dos três estrogênios naturais: estradiol, estriol e estrona.

Na figura I.3, está representada a localização das principais glândulas endócrinas, que produzem os hormônios incluídos ou citados, em nosso estudo.

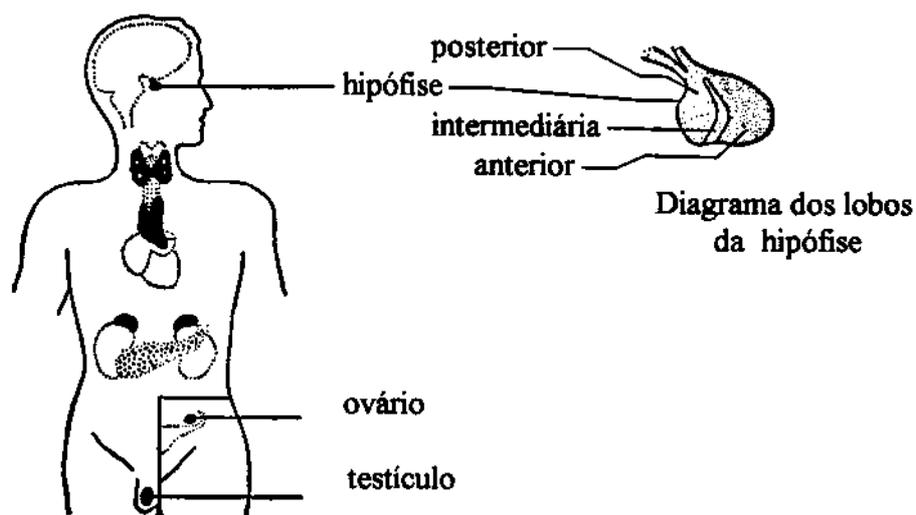


Figura I.3 - Localização das principais glândulas endócrinas no homem responsáveis pela produção dos hormônios citados ou incluídos em nosso estudo.

### **I.3 - Breve histórico sobre contraceptivos orais**

A história da contracepção hormonal inicia-se em 1921, quando Haberlandt obtém esterilidade temporária pelo transplante de ovário de animal prenhe a outro da mesma espécie. Foram identificados, posteriormente, como

bloqueadores da ovulação o estrogênio, a progesterona (ver fig. I.2, item I.2) e a testosterona (Fig. I.4).

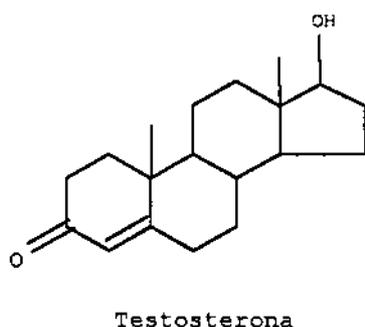


Fig. I.4 - Estrutura molecular da testosterona.

A supressão temporária da ovulação com estrogênios e androgênios exigia doses elevadas na década de 40. Efeitos colaterais para o fígado e o temor de ação cancerígena motivaram os pesquisadores a trabalhar com os progestogênios.

Um estudo abrangente da inibição da ovulação pelo uso dos agentes progestacionais foi iniciado por Rock, Pincus e Garcia. O estudo mostrou que a ovulação podia ser abolida como desejada por tanto tempo quanto se pretendesse e com grande regularidade (15). A primeira síntese de um componente ativo da pílula, foi efetuada a 15 de outubro de 1.951 em Syntex na Cidade do México. A atividade progestacional oral prévia foi estabelecida

por uma endocrinologista, Elva G. Shipley, de um laboratório comercial (Endocrine Laboratories, Madison, Washington). Até então em 1.951, Syntex não tinha as facilidades de realizar testes biológicos. Estes resultados preliminares, obtidos em 1.951, encorajou os pesquisadores a submeter o progestogênio sintético , noretindrona (19-nor-17 $\alpha$ -etinilttestosterona, fig.I.5), a pesquisadores “de fora” para testes biológicos minuciosos. Os primeiros resultados detalhados em **guinea pigs** e primatas foram publicados por Hertz e colaboradores em 1.954, demonstrando que noretindrona era, de longe, o mais potente esteróide progestacional efetivo oralmente conhecido até o momento, enquanto os primeiros experimentos clínicos com noretindrona em humanos foram registrados por Edward Tyler (1.954, 1.955) de Los Angeles Planned Parenthood Center.

Depois de 18 meses da primeira publicação sobre a síntese e atividade progestacional de noretindrona, Frank Colton, da G.D.Searle & Co., propôs o procedimento de síntese do análogo da noretindrona,  $\beta,\gamma$ -insaturado, noretinodrel (Fig.I.5).

Noretinodrel, juntamente com muitos outros esteróides sintetizados nos laboratórios Searle, assim como a noretindrona de Syntex, foram examinados por Pincus e colaboradores na inibição da ovulação em animais e humanos. Seus resultados foram divulgados em duas publicações históricas na *Science*,

brevemente a FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou em 1.957 o uso clínico de ambos noretindrona (Park-Davis sob licença da Syntex) e noretinodrel (G.D.Searle) para o tratamento de problemas de infertilidade e desordens menstruais. Pelo meio dos anos 60, o contraceptivo oral, utilizando noretindrona em sua composição (comercializado pela Ortho, Syntex e Parke-Davis), ganhou a maior parte do mercado; mesmo agora mais de 40 anos depois da síntese de noretindrona na cidade do México, milhões de mulheres ainda estão usando pílulas que contêm noretindrona. Noretinodrel foi retirado do mercado anos atrás. A fig. I.5 mostra as estruturas moleculares de noretindrona e noretinodrel.

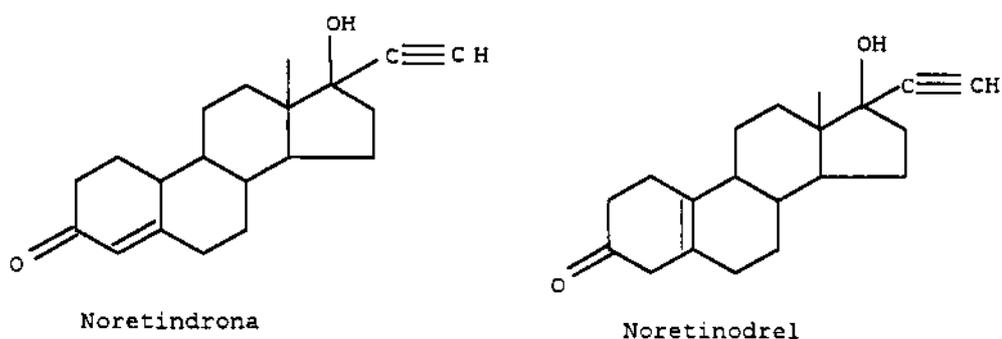


Fig. I.5 - Estruturas moleculares de noretindrona e noretinodrel.

As pesquisas de campo iniciadas no ano de 1.955, em San Juan de Porto Rico, sob a direção de Pincus e colaboradores no Family Planning Center,

seguiram-se por muito tempo. O sucesso destes estudos provocou muitos outros, e os resultados amplos, quase mundiais, seguiram-se. Gregory Pincus faleceu em 1.967, porém seus colaboradores deram continuidade aos estudos.

Pode se dizer que nos anos 60, a pílula ajudou a atingir o alvo almejado pelas líderes intelectuais do movimento feminista, tal como Simone de Beauvoir: “uma mulher liberada deve estar no controle de sua própria fertilidade”. A revolução sexual dos anos 60 teve uma íntima relação causa e efeito com a pílula: a introdução da contracepção oral facilitou a libertação sexual (16).

Entre os primeiros esteróides orais ativos, usados como contraceptivos, alguns possuíam atividade estrogênica inerente e algumas preparações de progestogênios estavam contaminadas com estrogênios, como se descobriu depois. Este fato mostrou que o estrogênio aumentava o efeito supressor do progestogênio, levando ao uso geral de uma mistura dos dois. Iniciando assim a nova era da anticoncepção hormonal.

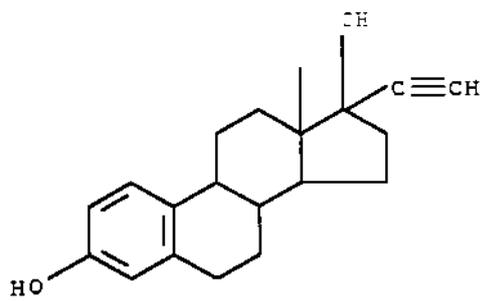
Doses de progestogênios e estrogênios estão sendo diminuídas, ao longo dos anos, a fim de minimizar a **incidência e intensidade** de efeitos colaterais, ao mesmo tempo que mantém a eficácia anticoncepcional.

Atualmente, o tipo mais comum de anticoncepcional oral é a preparação combinada que contém um estrogênio e um progestogênio. Aproximadamente 60 milhões de mulheres, em todo o mundo, utilizam tais drogas (15).

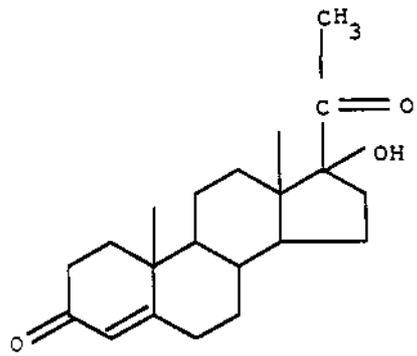
A dose de estrogênio, atualmente exclusivamente o etinilestradiol (EE), ver fig. I.6, foi progressivamente reduzida, cerca de 1/5 de seu teor original por pílula. Foi estabelecido que a dose de EE não poderia ser reduzida abaixo de 30 $\mu$ g por pílula, mas recentemente formulações com somente 20 $\mu$ g por pílula foram usadas com sucesso. Similarmente, a dose de progestogênio foi reduzida a menos que 1/10 de seu nível original, mas ainda recentemente, permanece relativamente alta em algumas formulações, por exemplo, noretisterona e seu acetato (0,5mg ou 1,0mg) (16).

A eficácia contraceptiva desses hormônios é derivada primariamente da ação dos progestogênios (17).

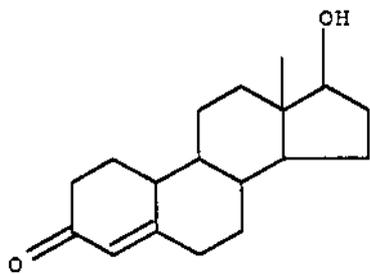
Progestogênios sintéticos são utilizados em contraceptivos orais devido sua capacidade de inibir ovulação. Todos progestogênios sintéticos são derivados da 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona (fig. I.6), isolada em 1.940 das glândulas adrenais, ou 19-nortestosterona (ver fig. I.6). Atualmente, somente derivados da 19-nortestosterona são utilizados nas preparações de contraceptivos orais.



Ethinilestradiol



17alfa-hidroxiprogesterona



19nor-testosterona

Fig. I.6 - Estruturas moleculares: etinilestradiol, 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona  
19-nortestosterona.

Uma nova geração , mais precisamente 3ª geração, de contraceptivos orais, marca a introdução de três componentes progestacionais: desogestrel (DSG), gestodene (GSD) e norgestimato (NGM) (ver fig. I.7). Combinações que contém esses novos progestogênios são apropriadamente classificados de baixa-dose (18) combinados com EE estes novos progestogênios encontram-se disponíveis mundialmente (16). Apesar de seu baixo conteúdo esteroidal, todas provaram ser altamente efetivas (18). Alguns estudos sugerem que os novos progestogênios são menos androgênicos que os mais velhos já estabelecidos agentes (19).

Baseado principalmente em evidências farmacológicas, os mais novos contraceptivos orais são um aperfeiçoamento sobre as mais antigas formulações de baixa-dose e claramente preferíveis às primeiras combinações de alta-dose. Os efeitos colaterais dos novos Contraceptivos Orais Combinados (COCs) são geralmente menores que 6%, na maioria dos casos, para o número total de pessoas testadas (16). Embora a porcentagem de efeitos colaterais seja pequena, continua ainda o desejo por melhora. Ainda não se chegou ao contraceptivo ideal. O contraceptivo ideal deve ser altamente efetivo, seguro, de longa- ação, mas prontamente reversível e virtualmente livre de efeitos colaterais (20). Os efeitos colaterais mais comuns, ainda presentes, mesmo nos mais modernos COCs são: cefaléia, depressão do humor, náusea, fadiga fácil,

tontura, nervosismo e são considerados um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardíacas. Podem causar intolerância aos carboidratos, com elevações nas concentrações de glicose e insulina no plasma.

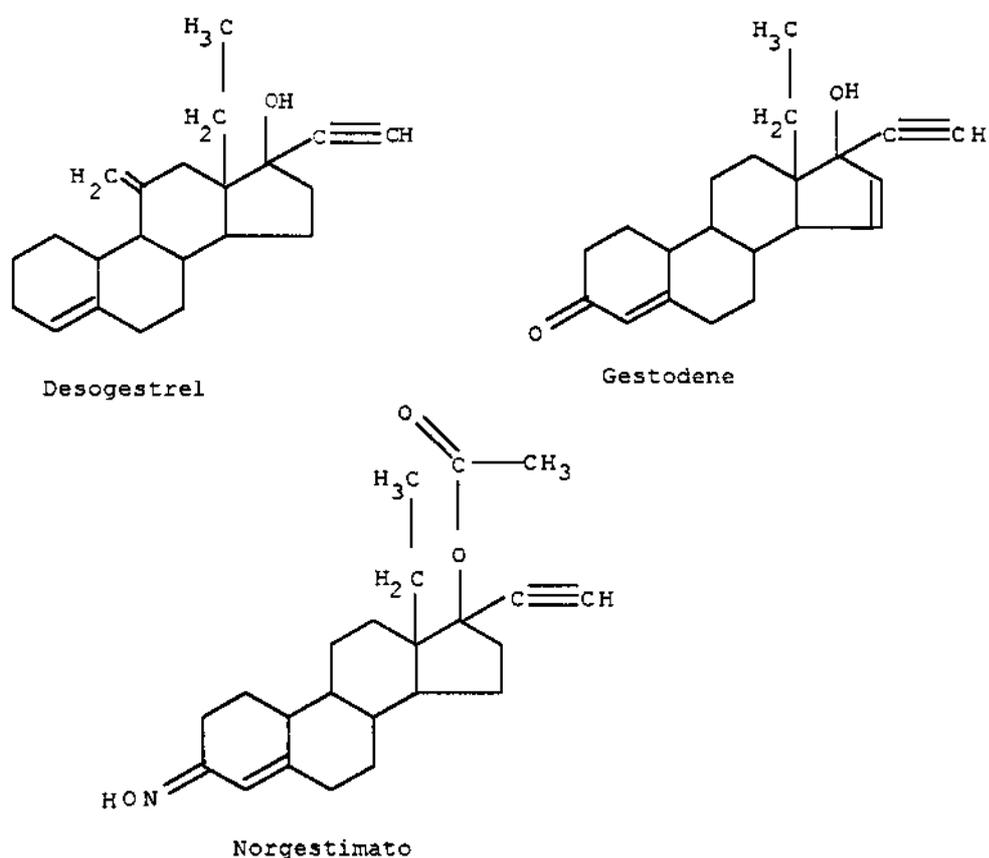


Fig. I.7 - Estruturas moleculares: desogestrel, gestodene e norgestimato.

#### I.4 - Mecanismo de Ação de Hormônios Esteroidais

Quando o hipotálamo, situado na base do cérebro, recebe mensagens neurais específicas, secreta quantidades diminutas de hormônios chamados fatores de liberação, que são transportados pelas fibras nervosas e, depois, pelo sistema porta-hipofisário, até a hipófise anterior. Aí, cada fator de liberação pode desencadear a síntese ou secreção de um hormônio específico pela hipófise anterior. As secreções no ovário ocorrem devido a secreção sequencial e temporal precisa de gonadotrofinas da hipófise. Existe um hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH-*gonadotropin releasing hormone*); este hormônio aumenta a secreção hipofisária tanto do LH (hormônio luteinizante-*luteinizing hormone*) como do FSH (hormônio folículo-estimulante-*follicle-stimulating hormone*). Os hormônios LH e FSH vão reger a produção de progesterona e estrogênio, respectivamente, pelo ovário. Efeitos de *feedback* de esteróides sexuais (estrogênio e progesterona) influenciam a secreção e ação do GnRH na hipófise e hipotálamo. Nos contraceptivos orais, à nível do hipotálamo, o efeito do estrogênio é inibir a secreção de FSH, enquanto a progesterona inibe a liberação de LH. Dessa forma a ovulação é inibida. A ovulação pode ser abolida pela administração de estrogênio ou progesterona isolado.

Na figura I.8, temos a organização hierárquica da regulação endócrina sob o comando do hipotálamo.



Figura I.8 - Organização hierárquica da regulação endócrina sob o comando do hipotálamo.

A maneira como GnRH age, produzindo LH e então a ovulação é controvertida (21).

O mecanismo de ação dos hormônios esteroidais está intimamente relacionado ao funcionamento do sistema reprodutivo humano.

Até o presente momento, está claro que o funcionamento do sistema reprodutivo humano é o resultado de interações complexas e diversas e é regido pelo princípio de “feedback” entre o eixo hipotálamo-hipófise e as unidades periféricas (ovários). Como mencionado anteriormente, isto ocorre através da ação estimulante direta de gonadotrofinas da hipófise na produção de progesterona e estrogênios nos órgãos endócrinos periféricos - os ovários - e sua ação no complexo hipotálamo -hipofisário. Agindo sob o sinal do hipotálamo, a hipófise secreta o hormônio folículo-estimulante (FSH), que estimula o processo de maturação de ovócitos. Aproximadamente no meio do ciclo menstrual, a secreção do hormônio luteinizante (LH) abruptamente aumenta; ao mesmo tempo a secreção de FSH diminui. Sob a influência do LH a ovulação ocorre, o folículo desintegra, o óvulo é liberado e entra no tubo de falópio e, posteriormente, no útero. No espaço vazio do folículo é formado o então chamado corpo lúteo, sendo que a sua principal função é a síntese de progesterona. Sob sua influência (e dos estrogênios), a proliferação do endométrio uterino toma lugar e o útero se prepara para a implantação do ovo fertilizado. Mais tarde, se o ovo for alojado no útero, inicia a produção de progesterona pela placenta, que é responsável pela segurança do embrião. Se a

fertilização não ocorre, o corpo lúteo regride e o endométrio degenera devido a ausência de quantidades suficientes de progesterona e estrogênio.

As principais funções biológicas da progesterona são: a preparação (junto com os estrogênios) do útero para a implantação do ovo fertilizado (a proliferação do endométrio) e a manutenção do embrião implantado.

Logo após a descoberta em 1.934 da progesterona sua função dual foi observada: na sua ausência, a gestação é impossível (ou não ocorre a implantação do embrião no útero ou o embrião é abortado); por outro lado, a gestação não ocorre quando grandes doses de progesterona são reintroduzidas.

A ação contraceptiva de combinações estrogênio-progestogênio (chamadas “pílulas”) pode ser atribuída às interações complexas estrogênio-progestogênio, em particular, pela inibição da secreção do LH e, conseqüentemente, inibição da ovulação, similar ao que ocorre durante a gestação. Este aspecto da ação biológica dos progestogênios ganhou grande aceitação nos últimos 20-25 anos como um método reversível de confiança de controle de fertilidade (22).

Estudos mais recentes, mostram que a progesterona, age também à nível do ovário, regulando o ciclo ovariano pela inibição da emergência de um novo folículo via seu efeito intraovariano. O efeito inibitório da progesterona no crescimento folicular tem sido utilizado no *design* de progestogênios

unicamente contraceptivos, onde a administração assistida de progestogênios resulta na supressão do crescimento folicular e inibição da ovulação. Muitas evidências sugerem que o hipotálamo é o principal sítio de ação da progesterona , onde age controlando a produção de gonadotrofinas (23). Embora seja bem conhecido os efeitos da progesterona (P) na secreção de GnRH, pouco se sabe sobre os efeitos da P na biossíntese de GnRH (24). Porém, os progestogênios exercem suas ações contraceptivas de maneira dependente da dose no sistema reprodutivo.

Na figura I.9, podemos observar um folículo liberando um óvulo na superfície do ovário (25).

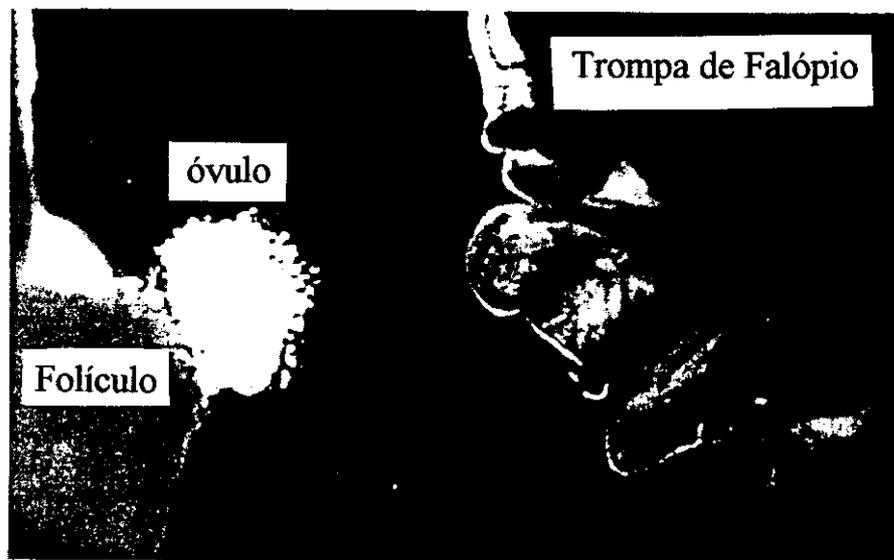


Figura I.9 - Folículo liberando um óvulo na superfície do ovário.

O mecanismo de ação dos hormônios esteroidais tem sido exaustivamente estudado nos últimos 25 anos. Os hormônios esteroidais, que têm esqueletos de anéis fundidos, variam estruturalmente com a posição de duplas ligações e com a forma de ligação entre suas cadeias. Diferenças significativas na atividade biológica destas moléculas devem-se às suas interações com receptores específicos capazes de distinguir menores diferenças em suas estruturas químicas (26). Interações de hormônios esteroidais com seus receptores serão discutidos no capítulo III.

Vale salientar ainda que inibidores, que suspendem a produção de FSH na hipófise, foram isolados em 1.985 e foram caracterizados como glicoproteínas heterodiméricas de aproximadamente 32kDa (27).

Sumarizando o que foi dito, podemos dizer que os hormônios esteroidais podem agir à nível do hipotálamo ou hipófise para controlar a produção de gonadotrofinas e há evidências de atuação também a nível ovariano.

A progesterona pode reprimir ou ativar a produção de GnRH em diferentes circunstâncias fisiológicas. Sabe-se que o efeito inibitório da progesterona sobre as secreções de gonadotrofinas é dependente da dose e/ou tempo de administração (28,29).

O mecanismo de repressão da produção de GnRH por progesterona não é completamente elucidado (30).

Este item foca na janela do ciclo reprodutivo que é controlado pela pílula; isto é, a supressão do LH surge e, conseqüentemente, a ausência de ovulação e luteinização. O surgimento do LH é único para as fêmeas (de animais placentários) e tem sido o principal alvo da pesquisa sobre contraceptivos orais.

Um dos principais eventos estimulados pelo LH é a ovulação, porém a cascata bioquímica que leva a eventual ruptura física de um folículo é desconhecida.

## **CAPÍTULO II – Compostos Estudados, Atividades de Interesse e** **Objetivos**

### **II.1- Atividade Biológica e Efeitos Farmacológicos dos progestogênios**

O efeito biológico desejável dos progestogênios usados nos COs é a atividade progesterônica. Propriedades farmacológicas indesejáveis, como atividade androgênica, não são necessárias para a contracepção e aumentam o potencial de efeitos adversos.

Progestogênios ativos oralmente não são puramente progesterônicos, a maioria exibe atividade androgênica. Atividade androgênica aumenta o potencial de efeitos colaterais como, por exemplo, acne, hirsutismo, aumento de peso, alterações no metabolismo de carboidratos e lipoproteínas e hipertensão.

A afinidade relativa de uma substância por um receptor particular é somente uma determinação de seu efeito farmacológico. A resposta biológica para tal agente é também afetada por suas propriedades farmacocinéticas. Por exemplo, um progestogênio que se liga fortemente aos receptores de

progesterona, mas se é pouco absorvido ou rapidamente inativado é um progestogênio “fraco” relativamente a outros agentes e requerirá grandes doses orais para se alcançar o efeito desejado. Muitos estudos de ligação com receptor comparam os novos progestogênios seletivos com os progestogênios menos seletivos usados nos Estados Unidos (31,32,33).

Um progestogênio seletivo tem efeitos progesteracionais à concentrações (ou doses) relativamente baixas e efeitos androgênicos à concentrações (ou doses) relativamente altas.

O grau pelo qual a atividade progesteracional é maximizada e a atividade androgênica é minimizada é a medida da *seletividade* do progestogênio.

A razão entre sua afinidade por receptores de progesterona e sua afinidade por receptores de androgênio é chamada *índice de seletividade*. Um progestogênio que apresenta alto valor de índice de seletividade ou razão androgênio/progesterona demonstra uma separação maior entre a dose necessária para encontrar o efeito progesteracional desejado e a dose associada com o efeito androgênico indesejado.

Para minimizar os efeitos colaterais androgênicos associados com os mais velhos progestogênios, as doses usadas nos COs têm sido reduzidas ao longo dos anos. Porém, estas reduções nas doses diminuem os efeitos

androgênicos indesejáveis em potencial, mas também afetam negativamente o efeito progestacional desejável.

Os três novos progestogênios, norgestimato, desogestrel e gestodene (ver fig. I.7, item I.3), têm relativamente maior afinidade por receptores de progesterona que por receptores de androgênios quando comparados com os mais velhos agentes, permitindo uma redução nos efeitos colaterais androgênicos sem a necessidade de redução de suas doses. Estudos de ligação com receptor e estudos farmacológicos em animais documentam os mais altos índices de seletividade destes novos progestogênios.

Para um progestogênio exercer seu efeito progestacional, ele deve primeiro ligar-se a um receptor de progesterona. Similarmente, para um progestogênio induzir uma resposta androgênica, ele deve primeiro ligar-se a um receptor de androgênio. Estudos de ligação com o receptor medem a *afinidade* de um esteróide particular por um receptor. Para este propósito, receptores de progesterona e androgênios podem ser isolados de tecidos humanos e animais. Ao colocar-se estes receptores em contato com um esteróide de referência conhecido (p.e. 5alfa-dihidrotestosterona) e a substância-teste de interesse, a afinidade relativa da substância-teste e o composto de referência pelo receptor pode ser determinada.

Além dos progestogênios ligarem-se à receptores de androgênios, produzindo uma resposta androgênica direta, um progestogênio pode também causar efeitos colaterais androgênicos indiretamente pela ligação ao SHBG (Sex Hormone Binding Globulin).

Estudos evidenciam que um progestogênio possa exercer efeitos androgênicos deslocando testosterona do SHBG, aumentando os níveis de testosterona ativa livre circulante no sangue.

As atividades biológicas contraceptiva , progestacional e androgênica, assim como os efeitos farmacológicos como afinidade de ligação por receptores de progesterona, receptores de androgênio e SHBG humano serão objeto de nosso estudo para grupos de progestogênios específicos.

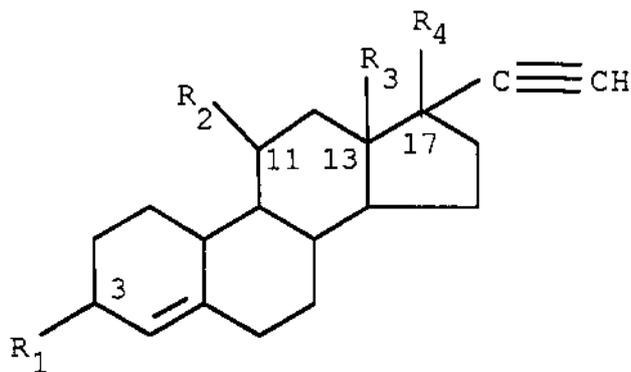
## **II.2- Compostos Estudados**

O desenvolvimento de bases científicas para a síntese direcionada de preparações altamente ativas e específicas requer o conhecimento de correlações entre a estrutura de compostos biologicamente ativos e sua atividade. O pré-requisito para estabelecer tais correlações é, antes de qualquer coisa, a disponibilidade de um conjunto sistemático de compostos que diferem um do outro por modificações mínimas estruturais, de modo que seus centros

ativos não sejam afetados; em segundo lugar é necessário o conhecimento da estrutura geométrica dos compostos e, em terceiro lugar, o conhecimento de suas atividades biológicas (22).

Os compostos, que fazem parte de nosso estudo, encontram-se listados nas tabelas II.1 a II.7. Os esqueletos dos mesmos são mostrados acima das tabelas, com a numeração dos substituintes em evidência. O número correspondente ao esqueleto molecular será mantido ao longo deste trabalho.

Tabela II.1- Progestogênios sintéticos utilizados atualmente em formulações de COs e alguns de seus metabólitos.



Número	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	Nome do composto
I	=O	H	CH <sub>3</sub>	OH	Noretisterona (NET)
II	=O	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	Levonorgestrel (LNG)
III	H	=CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	Desogestrel (DSG)
IV	=N-OH	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OC=O(CH <sub>3</sub> )	Norgestimato (NGM)
V	=O	=CH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	3-cetodesogestrel(CDSG)
VI	=O	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OC=O(CH <sub>3</sub> )	3-cetonorgestimato(CNGM)
VII	=N-OH	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	17-acetilnorgestimato(ANGM)

Tabela II.2- Outros esteróides.

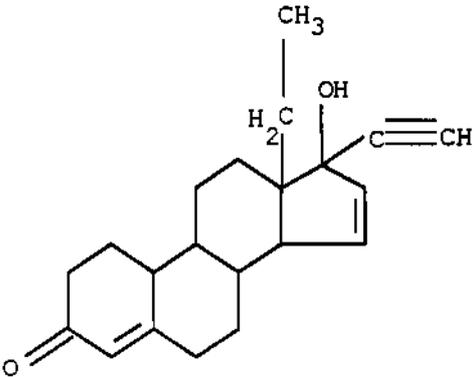
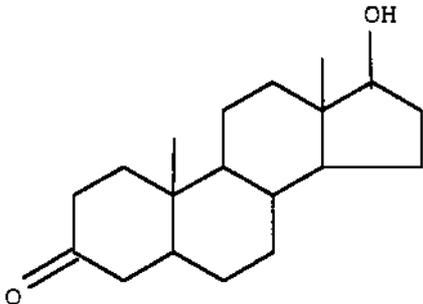
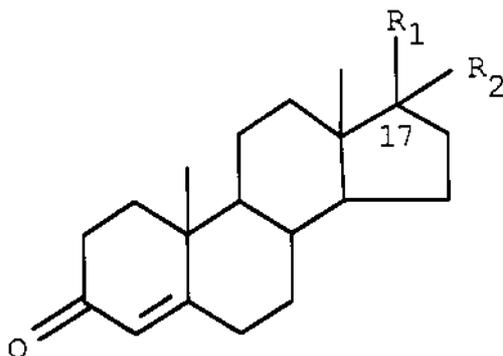
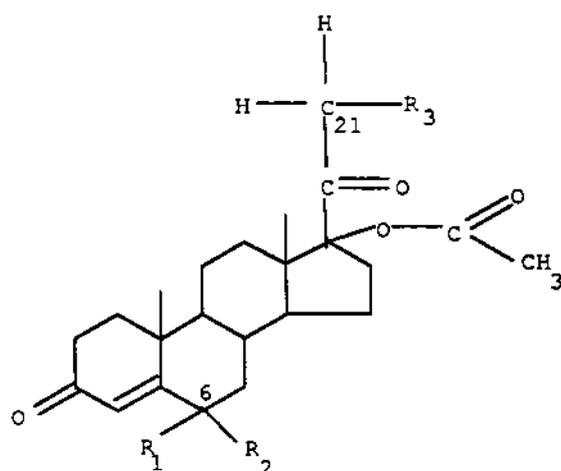
Número	Composto	Nome do composto
VIII		gestodene(GSD)
IX		Dihidro - testosterona (DHT)

Tabela II.3- Progesterona , testosterona e derivado.



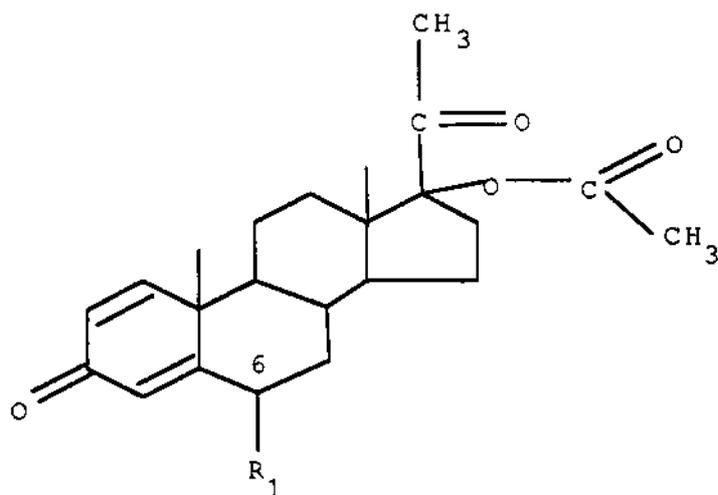
Número	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Nome do composto
X	C=O(CH <sub>3</sub> )	H	Progesterona(P)
XI	OH	H	testosterona(T)
XII	OH	C≡CH	17 $\alpha$ -etinil testosterona(ET)

Tabela II.4- 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona (17 $\alpha$ AP) e alguns de seus derivados.



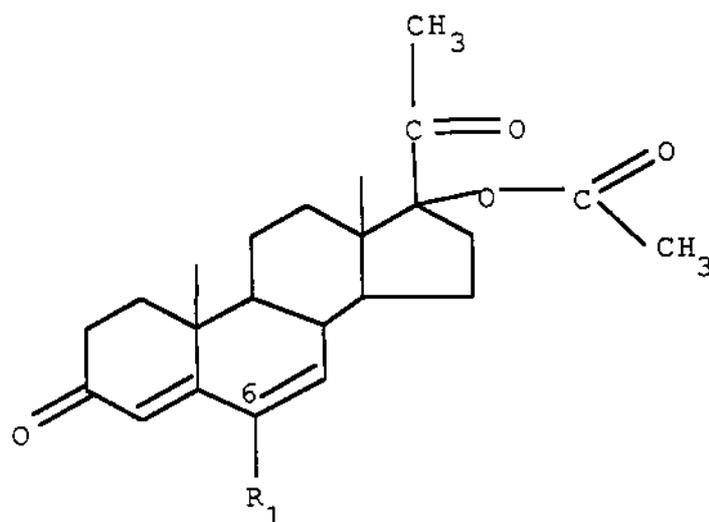
Número	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Nome do composto
XIII	H	H	H	17 $\alpha$ AP
XIV	H	CH <sub>3</sub>	F	6 $\alpha$ metil, 21flúor-17 $\alpha$ AP
XV	H	Cl	H	6 $\alpha$ cloro- 17 $\alpha$ AP
XVI	H	CH <sub>3</sub>	H	6 $\alpha$ metil- 17 $\alpha$ AP
XVII	H	Br	H	6 $\alpha$ bromo-17 $\alpha$ AP
XVIII	H	F	H	6 $\alpha$ flúor-17 $\alpha$ AP
XIX	H	NO <sub>2</sub>	H	6 $\alpha$ nitro-17 $\alpha$ AP
XX	Cl	H	H	6 $\beta$ cloro-17 $\alpha$ AP

Tabela II.5- Outros derivados de 17 $\alpha$ AP



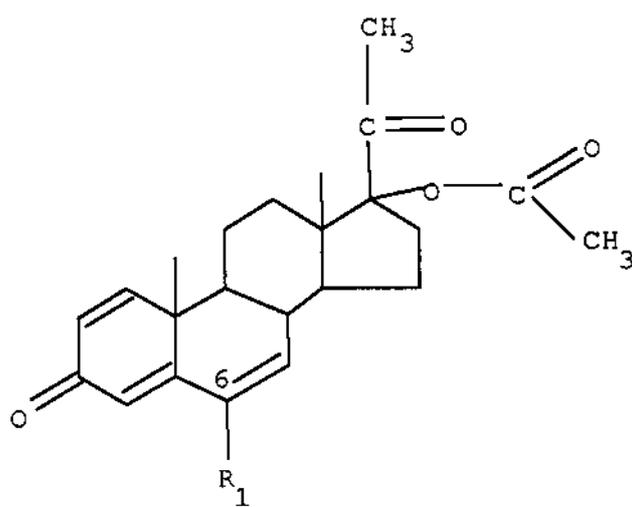
Número	R <sub>1</sub>	Nome do composto
XXI	Cl	6 $\alpha$ cloro, $\Delta^1$ -17 $\alpha$ AP
XXII	CH <sub>3</sub>	6 $\alpha$ metil, $\Delta^1$ -17 $\alpha$ AP
XXIII	F	6 $\alpha$ flúor, $\Delta^1$ -17 $\alpha$ AP
XXIV	Br	6 $\alpha$ bromo, $\Delta^1$ -17 $\alpha$ AP

Tabela II.6- Outros derivados de 17 $\alpha$ AP



Número	R <sub>1</sub>	Nome do composto
XXV	Cl	6cloro, $\Delta^6$ -17 $\alpha$ AP
XXVI	F	6flúor, $\Delta^6$ -17 $\alpha$ AP
XXVII	CH <sub>3</sub>	6metil, $\Delta^6$ -17 $\alpha$ AP

Tabela II.7- Outros derivados de 17 $\alpha$ AP



Número	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Nome do composto
XXVIII	Cl	H	6cloro, $\Delta^{1,6}$ -17 $\alpha$ AP
XXIX	CH <sub>3</sub>	H	6metil, $\Delta^{1,6}$ -17 $\alpha$ AP
XXX	F	H	6flúor, $\Delta^{1,6}$ -17 $\alpha$ AP
XXXI	H	F	21flúor, $\Delta^{1,6}$ -17 $\alpha$ AP
XXXII	H	Cl	21cloro, $\Delta^{1,6}$ -17 $\alpha$ AP
XXXIII	H	Br	21bromo, $\Delta^{1,6}$ -17 $\alpha$ AP
XXXIV	H	I	21iodo, $\Delta^{1,6}$ -17 $\alpha$ AP

### **II.3- Atividades Biológicas e Efeitos Farmacológicos de interesse neste trabalho**

As atividades biológicas estudadas neste trabalho são:

- (i) Atividade contraceptiva oral
- (ii) Atividade androgênica
- (iii) Atividade progestacional

Os efeitos farmacológicos estudados são:

- (i) Afinidade de ligação por receptores de progesterona
- (ii) Afinidade de ligação por receptores de androgênio
- (iii) Afinidade por SHBG humano

Podemos dividir os grupos moleculares, presentes neste estudo, de acordo com a atividade biológica ou efeito farmacológico pertinente a cada um deles. Estes grupos moleculares serão divididos como mostrado a seguir:

Grupo I - Progestogênios utilizados atualmente em formulações de contraceptivos orais. As atividades biológicas estudadas serão:

I.a-) atividade contraceptiva oral (Tabela II.8)

I.b-) atividade androgênica (Tabela II.9)

Tabela II.8-) Atividade Biológica (log 1/IC) para progestogênios usados atualmente em formulações de contraceptivos orais. IC é a concentração molar diária de droga para inibir a ovulação. Os valores de AB's foram obtidos da ref.(16).

No	Composto	log1/IC
I	progesterona	3.02
II	noretisterona	5.77
III	norgestimato	6.17
IV	levonorgestrel	6.62
V	desogestrel	6.71
VI	gestodene	6.89

Tabela II.9-) Efeito androgênico relativo para a mesma série de moléculas (ref.16).

Progestogênio	Efeito Androgênico
I	+ 1.3
II	+ 2.7
III	+ 1.0
IV	+ 40
V	< 1.0
VI	< 1.0

Grupo II - 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. A atividade biológica estudada é a progesteronal (Tabela II.10).

Progesterona e seus metabólitos ativos são agentes progesteronais naturais. Agentes progesteronais podem ser definidos como substâncias que, como a progesterona, são capazes de promover estado secretório em um endométrio (teste de Clauberg) e são chamados progestogênios. Todos os progestogênios têm ao menos esta função em comum, mas podem ter muitas ações diferentes no metabolismo corporal e em outros órgãos-alvo, além do endométrio. Todos progestogênios conhecidos, que encontram esta definição, são esteróides (34).

Tabela II.10-) Atividade biológica progesteronal de 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas (35).

Molécula	Atividade Biológica progesteronal relativa à noretisterona
I. noretisterona	1
II. 17alfa-acetoxiprogesterona	(7/100)
III. 17alfa-etinilttestosterona	(1/5)
IV. 21cloro-1,6bisdehidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(1/5)
V. 6alfa-nitro-17alfa-acetoxiprogesterona	(21/100)-(28/100)
VI. 6beta-cloro-17alfa-acetoxiprogesterona	(1/2)
VII. 6alfa-fluor-17alfa-acetoxiprogesterona	(1)
VIII. 21fluor-1,6bisdehidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(1)
IX. 6alfa-bromo-17alfa-acetoxiprogesterona	(1)
X. 6alfa-metil-17alfa-acetoxiprogesterona	(2-3)
XI. 6alfa-cloro-17alfa-acetoxiprogesterona	(2-3)
XII. 6alfa-bromo-1hidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(6)
XIII. 6alfa-fluor-1hidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(6)
XIV. 1,6bisdehidro-6alfa-fluor-17alfa-acetoxiprogesterona	(8)
XV. 1hidro-6alfa-metil-17alfa-acetoxiprogesterona	(8)
XVI. 6alfa-cloro-1hidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(8)
XVII. 6metil-1,6bisdehidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(10)
XVIII. 6metil-6hidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(12)
XIX. 6alfa-fluor-6hidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(15)
XX. 6cloro-1,6bisdehidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(35)
XXI. 6cloro-6hidro-17alfa-acetoxiprogesterona	(50)
XXII. 21bromo-1,6bisdehidro-17alfa-acetoxiprogesterona	inativo
XXIII. 21iodo-1,6bisdehidro-17alfa-acetoxiprogesterona	inativo

Grupo III- Progesterogênios utilizados atualmente em formulações de CO's, alguns de seus metabólitos e dihidrotestosterona. As propriedades farmacológicas estudadas serão :

III.1-) Afinidade de ligação por RP's(Tabela II.11).

III.2-) Afinidade de ligação por RA's (Tabela II.11).

Na tabela II.11, a afinidade de ligação por receptores de progesterona foi medida pela capacidade de deslocar H-R5020 (um progestogênio conhecido) em receptores de progesterona uterinos de coelhos *in vitro*. As afinidades de ligação relativa dos progestogênios, por receptores de progesterona, são comparadas com a afinidade de ligação do hormônio natural, progesterona. A afinidade de ligação dos progestogênios, por receptores de androgênios, foi medida pela capacidade de deslocar <sup>3</sup>H-dihidrotestosterona de receptores de androgênios prostáticos de ratos *in vitro*. As afinidades de ligação relativa são comparadas com a da dihidrotestosterona.

Afinidades de ligação relativa de progesterona, dihidrotestosterona, levonorgestrel, norgestimato, 3-ceto desogestrel e gestodene, por receptores de progesterona e receptores de androgênio, encontram-se na tabela II.11

Tabela II.11-) Afinidade de ligação relativa de progestogênios contraceptivos por receptores de progesterona e receptores de androgênios.

Progestogênios	Afinidade de ligação por receptores de progesterona	Afinidade de ligação por receptores de androgênios	Índice de Seletividade *(razão A/P)
(I) Dihidrotestosterona	0,1	1,0	0,02
(II) Progesterona	1,0	0,005	93
(III) 17-acetilnorgestimato	1,1	0,013	48
(IV) Norgestimato	1,3	0,003	219
(V) Levonorgestrel	5,41	0,22	11
(VI) 3ceto-desogestrel	8,6	0,120	33
(VII) Gestodene	9,21	0,154	28

A/P- Androgênio/Progesterona

Grupo IV - Progestogênios utilizados atualmente em formulações de COs, alguns de seus metabólitos e testosterona. A propriedade farmacológica estudada será a afinidade de ligação relativa por SHBG humano in vitro (Tabela II.12). A afinidade dos esteróides testados, por SHBG humano, foi medida por suas capacidades em deslocar  $^3\text{H}$ -testosterona da globulina humana. Material humano foi recolhido, preparado e testou-se a capacidade dos esteróides-teste em deslocar  $^3\text{H}$ -testosterona da globulina. Testosterona livre deslocada foi retirada e sua concentração medida.

A concentração do progestogênio-teste, que corresponde à 50% da inibição do total de ligações de  $^3\text{H}$ -testosterona ao SHBG humano ( $\text{IC}_{50}$ ) foi usada como medida da capacidade em deslocar  $^3\text{H}$ -testosterona do SHBG humano pelo progestogênio. Dividindo-se  $\text{IC}_{50}$  da testosterona pelo  $\text{IC}_{50}$  do progestogênio-teste, encontra-se a afinidade de ligação relativa (RBA) ao SHBG humano.

A afinidade de ligação relativa de norgestimato por SHBG foi comparada com a de outros progestogênios. Norgestimato e seus 3-ceto metabólitos não deslocam significativamente  $^3\text{H}$ -testosterona do SHBG à concentrações acima de 10,000nM, enquanto gestodene, levonorgestrel e 3-ceto desogestrel deslocam  $^3\text{H}$ -testosterona do SHBG em concentrações de  $\text{IC}_{50}$  de 23,1, 53,4 e 91,0 nM, respectivamente. Como acredita-se que um progestogênio possa exercer efeitos androgênicos deslocando testosterona do SHBG, aumentando os níveis de testosterona ativa livre circulando, estes dados demonstram a atividade progestacional seletiva do norgestimato.

Tabela II.12-) Afinidade de ligação relativa(RBA - *Relative Binding Affinity*)  
por SHBG humano in vitro (36).

Progesterogênios	SHBG humano	
	IC <sub>50</sub> *(nM)	RBA
(I) Progesterona	>10,000	<0,005
(II) Norgestimato	>10,000	<0,005
(III) 17-acetilnorgestimato	>10,000	<0,005
(IV) 3-ceto norgestimato	>10,000	<0,005
(V) 3-ceto desogestrel	91,0	0,51
(VI) Levonorgestrel	53,4	0,87
(VII) Testosterona	46,6	1,000
(VIII) Gestodene	23,1	2,02

\*IC<sub>50</sub> é a concentração de progesterogênio-teste que corresponde à 50% da inibição do total de ligações de <sup>3</sup>H-testosterona ao SHBG humano.

Grupo V- Uma outra série de moléculas foi investigada com respeito à afinidade de ligação ao SHBG, como mostra a tabela II.13. Norgestimato e seu metabólito parece não ligar-se ao SHBG. A tabela II.13 mostra valores de afinidade por SHBG em porcentagem de progesterogênios ligados ao mesmo.

Tabela II.13-) Afinidade de ligação por SHBG em porcentagem de progesterogênios na forma ligada ao mesmo (11).

	(I)DHT	(II)GSD	(III)LNG	(IV)DSG	(V)NET	(VI)ANGM
Afinidade de ligação ao SHBG (%)	100	17	13	5	2,5	0

## II.4- Objetivos

A introdução de um novo medicamento é um processo laborioso, dispendioso e altamente sofisticado. Muitos anos e muitos milhões de dólares separam a primeira síntese da aceitação final de uma nova droga. Na figura II.1 é apresentado um diagrama esquemático simplificado, ilustrando o nascimento de um novo medicamento.

Como se descobre um novo medicamento? Poder-se-ia testar, ao acaso, novas substâncias. Este processo não é nada atrativo, porque apenas cerca de uma em cada 15.000 novas substâncias pode eventualmente transformar-se em um medicamento aceitável. No outro extremo, pode-se utilizar as teorias de relação estrutura-atividade biológica para conceber uma droga com ação desejada. Os químicos, que trabalham na área médica, podem geralmente contribuir na proposta de algumas moléculas para síntese, baseados em certas variações estruturais, capazes de aumentar ou diminuir alguns efeitos biológicos.

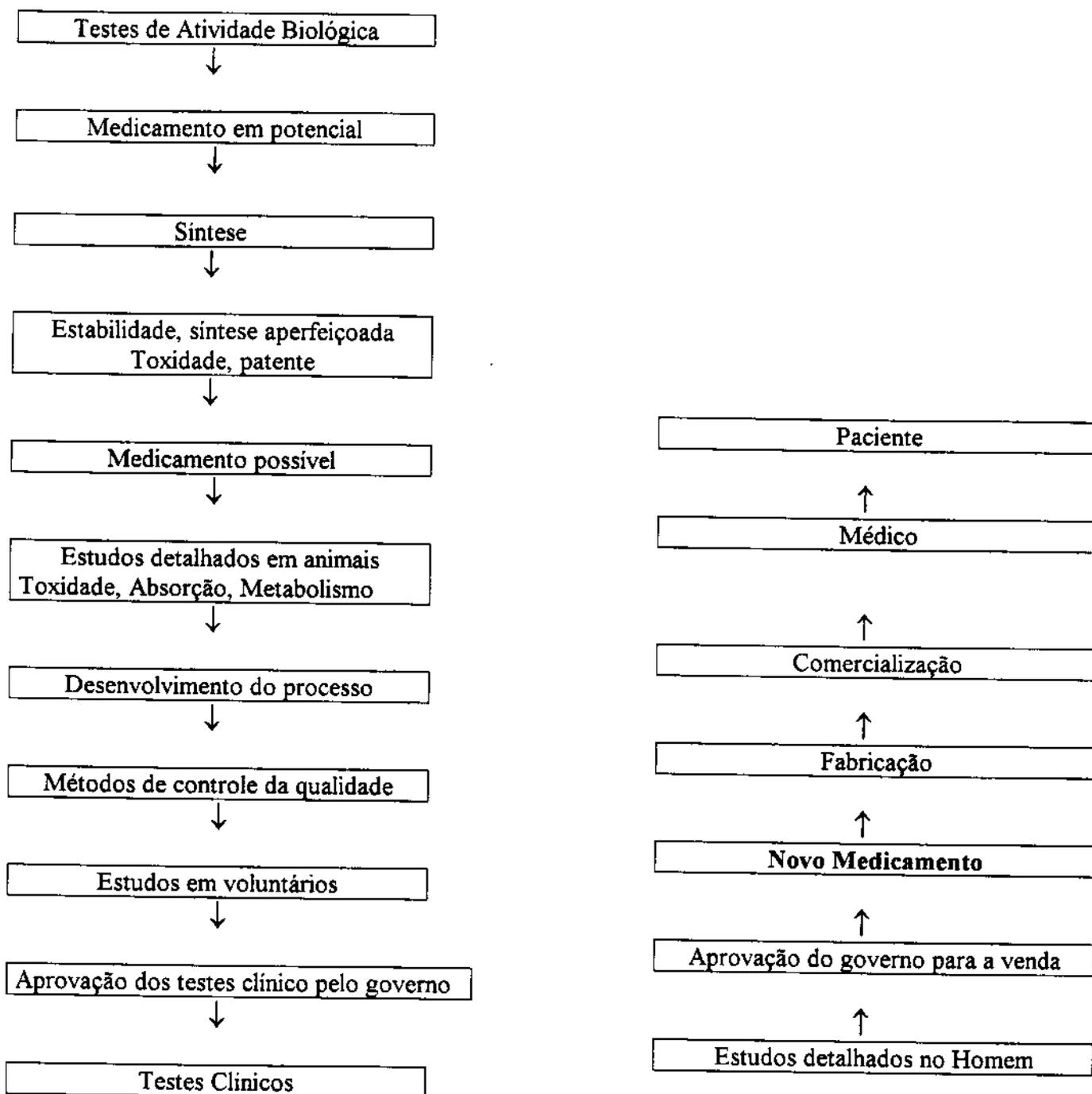


Figura II.1 – Nascimento de um novo medicamento.

Ao observar a figura II.1, podemos observar que, o nosso trabalho se enquadra no primeiro bloco do diagrama. Sabemos que o objetivo final dos estudos QSAR/SAR é o desenvolvimento de fármacos sob “medida” , isto é, desprovidos de efeitos colaterais, potentes e com atividade biológica específica. Porém, estamos restringindo os objetivos deste trabalho a :

**(1) Estudar as principais características geométricas dos compostos investigados, como comprimentos e ângulos de ligação, ângulos torsionais.**

**(2) Fazer cálculos teóricos das diversas propriedades físico-químicas, tais como potencial de ionização, afinidade eletrônica, eletronegatividade de Mulliken, dureza molecular, índices de fronteira, logP, volume e área molecular.**

**(3) Estabelecer as relações qualitativas entre as propriedades físico-químicas calculadas e a atividade biológica, como citado no item II.3. Nesta etapa, pretendemos contribuir para o entendimento dos mecanismos de ação dos progestogênicos. Ou seja, quais propriedades, e de que forma, são importantes para o desenvolvimento da resposta biológica. Conseqüentemente, poderemos ter alguma idéia sobre as interações que ocorrem durante a formação do complexo droga-receptor.**

## II.5- Métodos Teóricos

Para desenvolver uma nova droga o tempo médio, que uma indústria de porte consome, é de 10 anos. São gastos, nesse tempo, milhões de dólares entre pesquisa e marketing. No passado, boa parte do tempo e recursos eram desperdiçados em experimentos conduzidos à base de pura intuição e métodos empíricos, quando não ao acaso. Isto tem tornado a descoberta de drogas tremendamente dispendiosa, e muito mais lenta do que nós desejamos. A predição de atividade biológica de moléculas hipotéticas e o entendimento das bases destas predições tornam o processo de desenvolvimento de drogas mais produtivo.

Duas aproximações para predição têm sido usadas: métodos baseados na estrutura(*structure-based methods*) e métodos de correlação quantitativa estrutura-atividade(*Quantitative Structure-Activity Relationships-QSAR methods*).

Os métodos baseados na estrutura partem da estrutura tridimensional da molécula-alvo. Este alvo pode ser uma proteína, uma enzima ou um receptor qualquer que esteja implicado no processo de interesse. O objetivo é ou inibir a enzima ou providenciar agonistas ou antagonistas para o receptor (isto é, induzir ou inibir sua função). A estratégia, nos três casos, é encontrar uma molécula

que se ligará ao sítio ativo da molécula-alvo. Entre os fatores que influenciam as ligações entre moléculas estão as interações de van der Waals, os efeitos hidrofóbicos e eletrostáticos. Os dois primeiros fatores favorecem ligantes cuja forma é complementar àquela do sítio ativo-alvo, da mesma maneira que a chave se encaixa na fechadura. O terceiro favorece ligantes cujas funcionalidades polares são complementares àquelas adjacentes no sítio ativo. Se a forma da molécula-alvo e a localização de seus grupos polares podem ser determinados por cristalografia de raio-X ou RMN, pode-se em princípio determinar o ligante procurado que será complementar ao alvo. Este processo é ainda repleto de dificuldades, é raramente quantitativamente preditivo, e é muito improvável mapear a droga na primeira tentativa. Métodos baseados na estrutura requerem a estrutura do sítio ativo, que não está muito frequentemente disponível. E quando disponível, estruturas derivadas de cristalografia e RMN podem não ser o caminho: elas podem representar um conjunto médio de conformações ou refletir uma conformação da molécula que pode não ser a do complexo com o ligante ideal.

Os métodos de correlação estrutura-atividade predizem a atividade de compostos hipotéticos baseados na atividade testada de alguns compostos previamente sintetizados. Os métodos QSAR requerem a identificação ao menos de uma molécula, chamada matriz, que é capaz de se ligar ao sítio ativo

mesmo que fracamente, e as sínteses e testes de muitas de suas variações estruturais. Os métodos QSAR correlacionam propriedades calculadas ou medidas a partir da estrutura dos ligantes com suas atividades testadas. A correlação resultante pode ser usada para prever as atividades de moléculas hipotéticas e, então, ajudar a decidir qual molécula sintetizar, na ausência de informação sobre a estrutura do alvo. A forma de correlação pode também ser útil no entendimento de aspectos estruturais que contribuem para a atividade, e podem ajudar na proposta de melhores ligantes.

Os métodos QSAR diferem no conjunto de parâmetros das moléculas que são correlacionadas com suas atividades e nos métodos utilizados para determinar a correlação. Um estudo das correlações estrutura-atividade é descrito no capítulo III.

Resumidamente, podemos distinguir duas classes amplas de métodos QSAR, métodos “tradicionais” e métodos “3D”. Os métodos tradicionais são altamente preditivos em alguns sistemas e fracamente preditivos em outros. Quando precisos, são úteis na seleção de candidatos para síntese. Métodos QSAR 3D usam como parâmetros medidas diretas de formas tri-dimensionais de moléculas e distribuição de cargas tri-dimensionais nas mesmas e em suas vizinhanças. Estes métodos geralmente proporcionam melhores predições que os métodos QSAR tradicionais, provavelmente porque os parâmetros refletem

mais diretamente os processos físicos que governam as ligações. Eles podem criar diretamente o modelo de um ligante aprimorado (37).

Contudo, ao longo de nosso trabalho, procuraremos nos utilizar de ferramentas disponíveis na tentativa de verificar suas funcionalidades e aplicabilidades aos sistemas de nosso interesse.

Para que possamos efetuar nossos estudos sobre correlação estrutural-atividade, são necessários cálculos de parâmetros físico-químicos, assim como cálculos de geometria molecular. Utilizamos, para cálculos de geometria molecular, o método semi-empírico AM1 (“Austin Model”- Modelo Austin, versão 1). Foram calculados mais de 30 parâmetros físico-químicos para cada molécula. Parâmetros como: potencial de ionização, afinidade eletrônica, dureza molecular, eletronegatividade de Mulliken, cargas atômicas, densidade eletrônica de fronteira, densidade do radical de fronteira e densidade do orbital de fronteira foram obtidos direta ou indiretamente (calculados) a partir do método semi-empírico AM1. A parte conceitual desses parâmetros, assim como suas equações matemáticas, encontram-se descritas no apêndice A.1.1. Valores de coeficiente de partição molecular octanol-água foram obtidos a partir de parâmetros de hidrofobicidade de substituintes (38). Volume molecular e área molecular de van der Waals foram calculados com o programa SURF (39) que é

baseado no algoritmo de Higo e Go (40). Os valores calculados desses parâmetros encontram-se tabelados no apêndice A.1.

## **II.6- Análise dos Dados**

A necessidade de trabalhar com problemas complexos, levou os químicos a redescobrir a importância dos métodos estatísticos multivariados e estes estão sendo utilizados para auxiliar a resolver problemas químicos. Assim surgiu uma disciplina da química, chamada “Quimiometria”. A quimiometria pode ser definida como a disciplina química que utiliza métodos matemáticos e de estatística multivariada para:

- (i) definir ou solucionar as condições ótimas de medidas e experiências
- (ii) permitir a obtenção do máximo de informações a partir da análise de dados químicos.

Um dos objetivos da quimiometria é a conversão de dados em informação e finalmente em conhecimento que possa ser utilizado na redução de problemas. Para isso são utilizados sobretudo os métodos de reconhecimento de padrões, que permitem identificação rápida e eficiente de relações básicas porventura existentes em uma grande massa de dados. O reconhecimento de padrões consiste em duas fases: a análise exploratória dos

dados e, em seguida, o uso de técnicas de reconhecimento de padrões propriamente ditas. A fase exploratória revela a existência (ou não) de : amostras ou medidas anômalas, relações entre variáveis medidas e relações ou agrupamentos entre as amostras (41). A fase de aplicação de métodos de reconhecimento de padrões testa estas relações desenvolvendo modelos de classificação/ previsão e determina a precisão destes modelos.

Os parâmetros físico-químicos serão relacionados com as atividades biológicas através de métodos estatísticos. A análise SAR será feita usando os seguintes métodos de reconhecimento de padrão: Análise de Componentes Principais (PCA- "Principal Component Analysis"), Agrupamento hierárquico (Hier-"Hierarchical Clustering Method") e Rede Neural. Os dois primeiros métodos estão em um pacote de programas computacionais chamado PIROUETTE (42) e o terceiro em um programa chamado PSDD ("Perceptron Simulator for Drug Design"), desenvolvido para o design de drogas. Maiores detalhes destes métodos estão no capítulo III.

## **II.7 - Conformação de esteróides**

Antes de iniciarmos qualquer cálculo teórico, fomos à literatura em busca de informações à respeito de conformações preferidas de esteróides. Um resumo das informações encontradas na mesma está descrito a seguir.

A conformação molecular da  $17\alpha$ AP (composto XIII, tabela II.4) foi determinada cristalograficamente. O substituinte  $17\alpha$ -acetato limita a flexibilidade da progesterona e exerce efeito à longa distância sobre a conformação do anel A. O anel A adota uma conformação bem definida (de sofá perfeito) (43).

“Análise de dados conformacionais de aproximadamente 200 esteróides indicam que conformações observadas cristalograficamente são praticamente independentes de forças de empacotamento cristalino e conseqüentemente fornecem modelos adequados para tentar correlacionar aspectos estruturais com funções específicas” (44,45).

“Dados cristalográficos de cerca de 400 esteróides fornecem informações referentes à conformações preferidas, etc de hormônios esteroidais. Análises de alguns conjuntos desses esteróides sugerem que as conformações observadas no estado sólido correspondem às conformações de energia mínima global para as moléculas isoladas ou estão próximas à elas. Se o receptor ligado ao esteróide está em sua conformação de energia mínima, então deve ser possível comparar estruturas observadas cristalograficamente de uma série de esteróides que competem por um sítio de ligação específico e determinar quais aspectos estruturais do esteróide são essenciais para a ligação” (46).

...”a partir de observações sobre esteróides, é possível concluir que os esteróides com insaturação na posição 4 do anel A ( $\Delta^4$ ) e 19-nor -  $\Delta^4$  têm geralmente conformações similares e, em particular, as conformações observadas para um esteróide qualquer são muito próximas umas das outras” (47).

Em esteróides que têm configuração 4-en-3-ona as principais variações conformacionais envolvem o anel A. Foi observado que esteróides sintéticos são geralmente menos flexíveis que esteróides naturais e que os primeiros competem com sucesso para um número menor de sítios de ligação específicos. Além disso, substituição adicional em um esteróide parece estabilizar ainda mais determinada conformação (43).

As informações citadas acima, como já mencionado, foram obtidas da literatura. Na prática, temos os seguintes dados disponíveis a respeito das moléculas de interesse:

(i) Encontramos a geometria de raio-X da  $17\alpha$ AP (43), mas não temos as geometrias de raio-X das demais moléculas do grupo. Porém, as outras moléculas desse grupo apresentam pequenas variações estruturais com relação à  $17\alpha$ AP. Utilizamos, então, a conformação de raio-X da  $17\alpha$ AP como “input” para as demais moléculas do grupo e efetuamos, em seguida, otimização de geometria com o método AM1. Devemos esperar, a partir das

citações mencionadas anteriormente, presentes na literatura, que as conformações assim obtidas para as moléculas desse grupo devam estar próximas às conformações correspondentes ao estado cristalino para as mesmas. Dessa forma, essa série representa um modelo adequado para tentar correlacionar aspectos estruturais com atividade biológica.

(ii) Para o grupo da progesterona, noretisterona, norgestimato, levonorgestrel, desogestrel e gestodene (progestogênios utilizados atualmente, à nível mundial, nas formulações de COs) não tínhamos dados de cristalografia de raio-X para todas as moléculas desta série. As variações estruturais dessas moléculas vão além da simples substituição de um átomo por outro e/ou substituição de simples ligação por dupla (como no caso das  $17\alpha$ AP).

Usando como coordenadas de entrada “input” a geometria ab-initio de  $5\alpha$ -androstano, conhecido como esteróide-pai dos hormônios esteroidais, cujos únicos substituintes ligados ao esqueleto esteroidal são 2 metilas (uma na posição 10 e outra na posição 13), utilizamos o método AM1 para otimizar as geometrias moleculares desta série. Após otimização geométrica com AM1, análise conformacional foi realizada para progesterona e norgestimato que possuem substituintes flexíveis. Utilizamos os valores de geometrias obtidas no ponto de mínimo, a partir dos valores de “input”. Procedemos dessa

forma por motivo de uniformização nos cálculos de geometria, pois uniformização é requisito importante em análises comparativas.

(iii) Para os outros grupos moleculares, dos quais fazem parte os progestogênios utilizados atualmente na formulação de COs e/ou seus metabólitos, procedemos da mesma forma que no item (ii).

Os desenhos das estruturas moleculares, obtidas com o programa Molden estão no apêndice A.3.

## **II.8 - Atividade Biológica**

A atividade biológica das substâncias químicas não se deve a uma só, mas a todas as propriedades físico-químicas das moléculas. É evidente, portanto que no estudo da relação entre estrutura e atividade biológica por meio de métodos quantitativos, não se pode obter correlação perfeita da ação biológica com um único parâmetro ou um número reduzido de parâmetros físico-químicos das moléculas consideradas. As correlações boas obtidas com um único parâmetro indicam tão somente que aquele parâmetro desempenha papel preponderante (48). Atividade biológica é uma consequência da estrutura geométrica (isto é, composição, configuração, conformação) e estrutura

eletrônica (isto é, energia, distribuição eletrônica: estática-”carga” e dinâmica-”reatividade”) da molécula (49).

A atividade biológica pode ser quantificada por meio de duas variáveis mensuráveis: dose (C) e resposta (W) (50).

W é comumente definida como sendo a magnitude da variação de um parâmetro biológico após a administração da droga (exemplo: contração muscular, pressão arterial, etc). Nos experimentos, as atividades das drogas podem ser comparadas, determinando-se a concentração (dose) mínima necessária para produzir uma dada resposta (W). Neste caso, a atividade biológica é simplesmente definida como sendo o recíproco da dose.

$$A = 1/C , \quad W = \text{constante}$$

Alternativamente, as respostas podem ser medidas com uma concentração fixa das drogas, onde:

$$A = W , \quad C = \text{constante}$$

Existe uma variedade de outras quantidades utilizadas como medidas de A em casos especiais.

## CAPÍTULO III – METODOLOGIA

### **III.1 - Estudos das correlações estrutura-atividade**

Cientistas de várias áreas, tais como, química, biologia, medicina, toxicologia, ciência do meio-ambiente, ciência da computação, estão empenhados no estudo de interações de compostos orgânicos com todas as formas de vida ou componentes dessas formas de vida (DNA, enzimas, organelas, células, membranas, etc)(51).

Desses estudos vários métodos de correlações estrutura-atividade surgiram. Na última década, modelos quantitativos (QSAR) e qualitativos (SAR) foram desenvolvidos e aplicados para obtenção dessas correlações.

Um esquema geral, que representa um estudo da correlação estrutura-atividade, é apresentado a seguir:

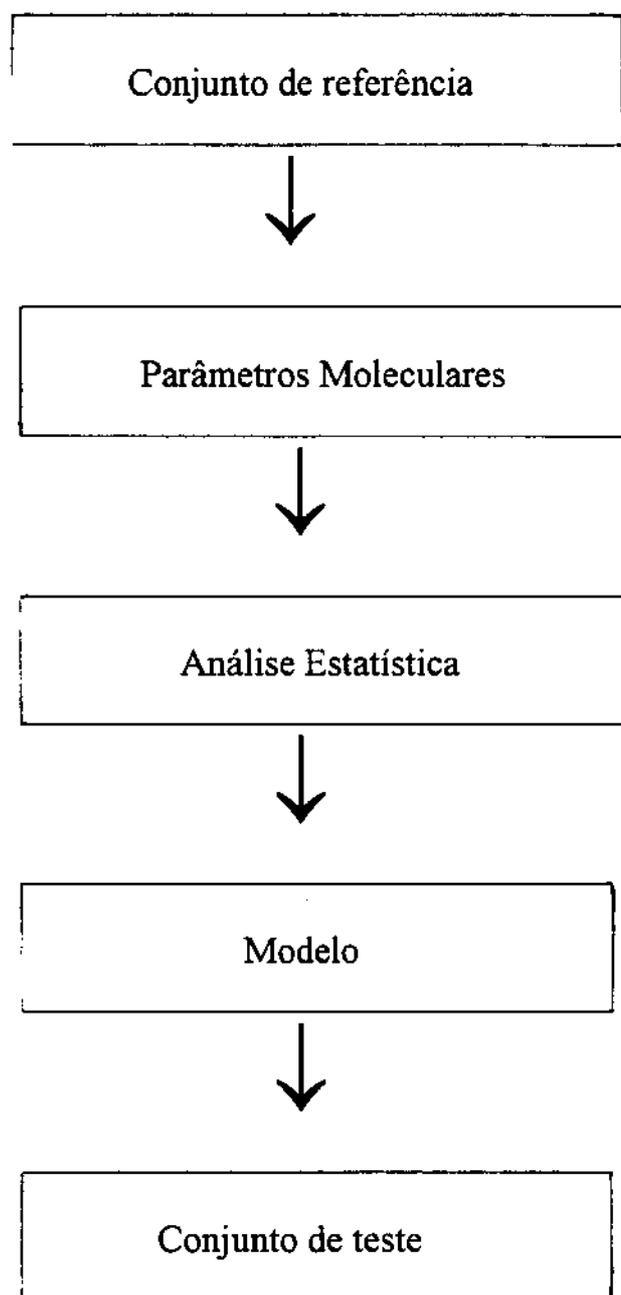


Figura III.1 - Esquema geral para estudo de correlação estrutura-atividade

A primeira etapa, nos estudos de correlação, envolve a seleção de um conjunto relevante de referência com dados bem documentados. Consequentemente, parâmetros ou propriedades moleculares devem ser escolhidos para obter a melhor correlação QSAR. Baseado em análise estatística dos conjuntos de dados resultantes, a modelagem requerida ou correlação de regressão pode ser derivada. Depois da aplicação deste modelo, para a estimativa da atividade, o modelo deve ser validado após ser submetido a um conjunto de testes representativos (52).

### III.1.1) Parâmetros Moleculares

Parâmetros Moleculares são usados, com sucesso, para deduzir, significativamente, modelos QSAR/SAR.

Van de Waterbeemd e Testa listam cerca de 200 parâmetros físico-químicos e estruturais usados em QSAR/SAR (52).

Evidentemente, não poderemos listar, aqui, todos eles. Uma seleção dos mais usados será apresentada a seguir.

Mervyn Stone e Philip Jonathan (53) fazem uma classificação didática para esses parâmetros que, segundo esses autores, podem ser divididos em: parâmetros químicos baseados na estrutura molecular tri-dimensional (3D),

parâmetros químicos baseados em propriedades físico-químicas moleculares e parâmetros químicos baseados em representações de moléculas, usando dados de espectroscopia e “química computacional”.

### III.1.1.a) Parâmetros químicos baseados na estrutura molecular 3D

Esses parâmetros usam nada mais que o conhecimento dos átomos constituintes das moléculas e suas conexões. Serão discutidos a seguir:

**PARÂMETROS DE FREE - WILSON-** considera um conjunto congênico de substâncias químicas, cujas estruturas diferem somente na presença ou ausência de certos substituintes em uma estrutura-mãe comum. Na análise de Free-Wilson (54), a variação na estrutura molecular é registrada por um conjunto de variáveis indicadoras binárias  $X_i$  ( $i=1,2,\dots$ ), referindo-se à presença ( $X_i=1$ ) ou ausência ( $X_i=0$ ) de alguns substituintes na mesma posição.

**DIFERENÇA TOPOLÓGICA MÍNIMA (55)-** considerada uma extensão da análise de Free-Wilson. A estrutura molecular de cada substância química é designada por um conjunto de variáveis indicadoras binárias, que indicam a presença ou ausência de um substituinte particular em dada localização no espaço.

**PARÂMETROS TOPOLÓGICOS-** através da topologia da estrutura

molecular, um número de parâmetros químicos foram desenvolvidos via teoria gráfica (56). Em termos gerais, estes parâmetros descrevem a disposição dos átomos na molécula. Por exemplo, Winer (57) propôs uma medida de “ramificação” molecular baseado na “matriz distância molecular”, cujos elementos são os números de ligações entre pares apropriados na molécula. Kier e Hall (58) introduziram índices de conectividade, que são amplamente usados em QSARs.

### III.1.1.b) Parâmetros químicos baseados em propriedades físico-químicas moleculares

Historicamente, QSARs tentou relacionar atividade química com propriedades químicas simples, capazes de serem medidas. Um dos trabalhos pioneiros com QSAR envolveu correlação de toxicidade de compostos orgânicos simples com sua solubilidade em água (59). Hansch e col. (60) mostrou que o coeficiente de partição octanol-água, uma medida de hidrofobicidade, poderia ser correlacionada com atividade biológica relativa ao crescimento de plantas. Hammet (61) demonstrou que uma medida de efeito eletrônico de substituinte poderia ser correlacionada com reatividade de benzenos substituídos. O sucesso desses estudos motivou o desenvolvimento de parâmetros químicos para QSARs baseados em uma ou mais medidas

simples de hidrofobicidade, propriedades eletrônicas e estéricas. Originalmente, esses parâmetros eram medidos experimentalmente. Nos últimos anos, a química computacional faz aproximações teóricas muito atrativas.

A seguir, citaremos algumas propriedades fisico-químicas usadas em QSARs.

**PARÂMETROS HIDROFÓBICOS-** A distribuição(ou partição) de um soluto entre duas fases de líquidos imiscíveis é de maior interesse para QSAR. Uma medida típica de hidrofobicidade é o coeficiente de partição molecular octanol-água introduzida por Hansch (62). Expresso como um logaritmo,  $\log P(\text{oct}/\text{água})$  é um parâmetro popular utilizado em áreas farmacêuticas e agroquímicas. A popularidade desta medida resultou no desenvolvimento de parâmetros análogos usando cromatografia (63). Rekker e col. (64) foram os pioneiros em métodos empíricos (teóricos) para estimar  $\log P$ . Isto culminou no desenvolvimento de softwares como CLOGP (65), que fornece aproximações rápidas de valores de  $\log P$ . Aproximações usando mecânica quântica também são possíveis (66).

**PARÂMETROS ELETRÔNICOS-** são divididos em três classes: parâmetros clássicos de substituintes, parâmetros clássicos da molécula inteira e parâmetros de química quântica.

Parâmetros clássicos de substituintes: constante de substituinte de Hammett ( $\sigma$ ), refratividade molar (MR), que tem a unidade de volume molar,

É assim definido  $MR = \frac{n - 1}{n + 2} \cdot \frac{M}{\rho}$  onde

$n$ =índice de refratividade,  $M$ =massa molecular relativa e  $\rho$ =densidade. Hansch e col. (60) estabeleceu, claramente, a importância de efeitos eletrônicos no “design” de drogas seguindo o trabalho de Hammett em benzenos substituídos (61). Refinadas versões da aproximação de Hammett (66) são, amplamente, aplicadas à QSARs com sucesso.

Parâmetros clássicos da molécula inteira:  $pK_a$ -usados para compostos ácidos, controla a extensão da ionização de um composto. Valores de  $pK_a$  são obtidos, muitas vezes, experimentalmente, mas numerosas compilações existem na literatura. Momento de dipolo( $\mu$ )- geralmente determinado experimentalmente através de medida experimental da constante dielétrica ( $\epsilon$ ), índice de refratividade ( $n$ ) e densidade ( $\rho$ ). Estes valores são substituídos na equação de Debye, onde  $K$ =constante de Boltzmann:

$$\frac{\epsilon - 1}{\epsilon + 2} \cdot \frac{M}{\rho} = \frac{n - 1}{n + 2} \cdot \frac{M}{\rho} + \frac{4\pi N\mu^2}{9KT} \quad N=\text{no de Avogadro}$$

O programa MOPAC é capaz de gerar momentos de dipolo muito rapidamente através da energia mínima da estrutura molecular.

Parâmetros de química quântica: carga atômica- vários métodos do orbital molecular são usados para calcular cargas atômicas(CNDO, MNDO modified neglect of differential overlap, INDO-intermediate neglect of differential overlap) que fornecem resultados aceitáveis para comparação dentro de uma série de compostos, embora seus valores absolutos não sejam necessariamente precisos. Densidade eletrônica de fronteira- são valores relativos ao orbital molecular mais alto ocupado(HOMO) e o orbital mais baixo desocupado(LUMO) que podem ser calculados (68). Energias do HOMO e LUMO (69) - obtidas através de cálculos de orbital molecular. O primeiro representa a facilidade com que um elétron pode ser doado pela molécula e diz respeito ao seu potencial de ionização, o segundo é uma medida da facilidade que uma molécula aceita um elétron, ou seja, sua afinidade eletrônica. Ambos os termos podem modelar interações intermoleculares, assim como reatividades. Momento de dipolo- momentos de dipolo em fases gasosas podem ser calculados através da teoria do orbital molecular. A aproximação CNDO parece dar valores mais realísticos (52).

PARÂMETROS ESTÉRICOS- o tamanho e a forma de moléculas e substituintes são importantes para QSARs. Propriedades relacionadas ao tamanho e forma foram, primeiramente, relacionadas com atividade química

por Meyer (70). Os parâmetros estéricos podem ser divididos em: parâmetros de tamanho e parâmetros de forma.

Parâmetros de tamanho: Peso Molecular (PM)- é a mais simples medida de tamanho e muito usada em QSAR. É observado, frequentemente, sua colinearidade com LogP, pois muitos compostos com grande peso molecular são também muito hidrofóbicos. Volume Molecular (VM)- é definido como a relação entre o peso molecular e a densidade ( $PM/\rho$ ). Pode ser determinado experimentalmente ou por métodos computacionais. Raio de Van der Waals- é aplicado somente à substituintes. O raio de Van der Waals é definido como a distância na qual a repulsão entre as densidades eletrônicas de dois átomos vizinhos é contrabalanceada pela força atrativa entre eles. O valor deste raio pode ser estimado por cristalografia ou química computacional. Muitos parâmetros estéricos foram calculados, teoricamente, a partir do conhecimento do raio de Van der Waals de cada átomo na molécula. Um deles é a constante esférica de Taft( $E_s$ ) (71). Refratividade Molar (RM)- tem unidade de volume molar e se correlaciona com outros termos de volume. Está diretamente relacionada à polarizabilidade eletrônica, e pode ser considerada, igualmente bem, um parâmetro eletrônico. É largamente usada em QSAR como termo de volume, embora Hansch e col. usem quase exclusivamente para representar forças de interação semi-polar. O método CMR (65) foi

desenvolvido para uma rápida estimativa teórica de refratividade molar. Parachor (72)- é definido como:  $Pr = (M/\rho) \cdot \gamma$  onde  $\gamma$  = tensão superficial. Sua medida é feita à temperatura, na qual  $\gamma=1$ , então Pr é, efetivamente, um volume molar.

Parâmetros de forma: são em menor número que parâmetros de tamanho. Parâmetro Sterimol- Verloop e col (73) definiram um novo conjunto de parâmetros estéricos que definem as dimensões da molécula ou substituinte em cinco direções. Verloop e col. (73) listam esses parâmetros para 243 substituintes.

III.1.1.c) Parâmetros químicos baseados na representação da molécula, usando dados de espectroscopia e “química computacional”

Estes parâmetros são obtidos a partir de química computacional e espectroscopia. Weinstein e outros iniciaram o uso de mapas de potencial eletrostático (74) da molécula, calculados sobre um arranjo de pontos que envolve a molécula. Cramer e col. (75) usa uma aproximação similar em sua análise do campo molecular comparativo(CoMFA); esta técnica produz mapas estéricos e eletrostáticos, quantificando a interação entre a molécula de interesse e um átomo de prova.

Fazemos, aqui, um parênteses para comentar sobre alguns parâmetros físico-químicos por nós utilizados.

### III.1.1.d) Parâmetros físico-químicos empregados em nossos estudos

#### **Potencial de Ionização e Afinidade Eletrônica**

Esses parâmetros foram obtidos diretamente dos resultados de “output” do programa AM1. As energias do HOMO e LUMO estão relacionadas ao Potencial de Ionização e Afinidade Eletrônica, respectivamente, através do teorema de Koopmans (76), que diz , resumidamente, que

$$PI = - \epsilon_{\text{Homo}}$$

e

$$AE = - \epsilon_{\text{Lumo}}$$

onde  $\epsilon$  representa a energia do orbital molecular.

#### **Eletronegatividade de Mulliken**

Mulliken (77) propôs que, dadas duas espécies “a” e “b” , a energia necessária para “a” retirar um elétron de b é  $(PI)_b - (AE)_a$  , onde PI e AE são o Potencial de Ionização de b e a Afinidade Eletrônica de a , respectivamente.

Da mesma forma, a energia necessária para “b” retirar um elétron de “a” é  $(PI)_a - (AE)_b$ . Quando a e b possuem a mesma eletronegatividade,  $(PI)_a - (AE)_b = (PI)_b - (AE)_a$ ; que pode ser escrito como:  $(PI)_a + (AE)_a = (PI)_b + (AE)_b$ . Isto sugere que duas espécies terão eletronegatividades iguais se a soma, ou a média, do Potencial de Ionização mais a Afinidade Eletrônica for igual para cada um deles. Mulliken achou mais conveniente expressar a eletronegatividade na forma média. Logo, a eletronegatividade da espécie química “a” é:

$$\chi_a = \frac{1}{2} (PI_a + AE_a),$$

onde  $\chi_a$  é o símbolo usualmente adotado para a eletronegatividade de Mulliken da espécie “a”.

### **Dureza Molecular**

O conceito de dureza química surgiu inicialmente nos trabalhos de Pearson (78), sobre as propriedades das interações entre um ácido e uma base de Lewis. Pearson classificou os ácidos e bases de Lewis em duros(as) ou moles. Verificou que ácidos duros reagem mais rápido e fortemente com bases duras e ácidos moles reagem mais rápido e fortemente com bases moles. Inicialmente, os ácidos e bases foram classificados em duros e moles, de acordo com o tamanho e a carga, de forma que as bases altamente

polarizáveis, facilmente oxidáveis e de baixa eletronegatividade foram classificados como bases moles e as bases duras seriam aquelas com propriedades opostas. Os ácidos com baixas cargas positivas, altamente polarizáveis e de grande tamanho foram chamados de moles e aqueles com propriedades opostas, de ácidos duros.

A teoria de orbital molecular classifica como ácidos moles, aqueles que possuem baixa energia de LUMO e bases moles, aquelas que possuem alta energia do HOMO. Os ácidos duros possuem alta energia de LUMO e as bases duras possuem baixa energia de HOMO. Desta forma, ácidos duros ligam-se fortemente às bases duras, devido à grande diferença entre os orbitais envolvidos, formando ligação iônica. Ácidos moles ligam-se fortemente às bases moles devido à proximidade entre as energias dos orbitais envolvidos, formando ligação covalente forte.

Dizemos que uma molécula é mole, quando a separação dos orbitais de fronteira é pequena e a distribuição dos elétrons é facilmente rearranjada por uma perturbação. A molécula dura é aquela que possui grande separação entre os orbitais de fronteira e a distribuição eletrônica resiste ao rearranjo de uma perturbação. A dureza molecular é expressa pela diferença entre a energia de ionização do átomo neutro e seu ânion (78) :

$$\eta = \frac{1}{2} (PI - AE) \quad ,$$

onde PI é o Potencial de Ionização e AE é a Afinidade Eletrônica da molécula. Este valor é a metade da separação entre os dois orbitais de fronteira.

### **Índices baseados na Teoria dos Orbitais de Fronteira**

Basicamente, todas as espécies químicas (átomos, íons e moléculas) são consideradas como possuidoras de orbitais de fronteira, que são simplesmente o HOMO e LUMO. A teoria dos orbitais de fronteira surgiu há quarenta anos nos artigos de Fukui et al. (79, 80, 81). As características cinéticas de reagentes e reações podem ser avaliadas considerando apenas as interações entre os orbitais de fronteira. À medida em que os reagentes se aproximam, a distâncias pouco maiores do que as típicas distâncias interatômicas, ocorrem as maiores interações entre eles, o maior recobrimento de orbitais ocorre entre os orbitais de fronteira. Os postulados fundamentais da teoria dos orbitais de fronteira propostos por Fukui et al. (82) são:

- i-) No caso da reação com reagente eletrofilico, a posição mais susceptível ao ataque é aquela que apresenta maior densidade dos dois elétrons ocupando o orbital molecular de maior energia no estado fundamental.
- ii-) No caso da reação com reagente nucleofilico, a posição mais susceptível ao ataque é aquela que apresenta maior densidade dos dois elétrons que se

supõe estejam ocupando o orbital molecular desocupado de menor energia no estado fundamental.

iii-) No caso da reação com reagente na forma de um radical, a posição mais susceptível ao ataque é aquela que apresenta maior densidade dos dois elétrons, um ocupando o orbital de maior energia e o outro ocupando o orbital molecular “desocupado” de menor energia no estado fundamental.

A teoria dos orbitais de fronteira foi inicialmente formulada visando prever as possíveis posições onde ocorreriam ataques eletrófilos, nucleófilos e radicalares. A utilização de índices de fronteira tem se mostrado útil na previsão das posições-chave, em moléculas de fármacos, onde se dão as principais interações com o receptor.

Os índices de fronteira utilizados em nosso trabalho são:

a-) Densidade do elétron de fronteira ( $F_k^e$ )

$$F_k^e = 2 \sum_k (c_k^{\text{HOMO}})^2$$

b-) Densidade do orbital de fronteira ( $F_k^o$ )

$$F_k^o = 2 \sum_k (c_k^{\text{LUMO}})^2$$

c-) Densidade do radical de fronteira ( $F_k^r$ )

$$F_k^r = \sum_k (c_k^{\text{HOMO}})^2 + \sum_k (c_k^{\text{LUMO}})^2$$

onde  $c_k^{\text{HOMO}}$  e  $c_k^{\text{LUMO}}$  são os coeficientes de expansão da combinação linear de orbitais atômicos, obtidos no processo de autoconsistência do método Hartree-Fock, do HOMO e LUMO, respectivamente, do k-ésimo átomo.

### **Cargas Atômicas Líquidas**

A presença de grupos químicos fortemente carregados ou ionizados como carbonila, hidroxila, amino, nitro, etc. na molécula do fármaco, pode determinar em grande parte a orientação de encaixe no receptor. Isto ocorre porque esses grupos naturalmente irão associar-se a outros grupos funcionais, com cargas complementares às suas, presentes na estrutura do receptor. Utilizamos, em nosso trabalho, as cargas atômicas líquidas fornecidas diretamente pelo AM1.

#### **III.1.2) Análise Estatística**

A análise estatística pode ser efetuada por duas maneiras: através do uso de modelos quantitativos (QSAR) ou através do uso de modelos qualitativos (SAR).

A análise QSAR é feita por métodos de regressão , dispendo de relações transparentes e equações matemáticas simples, levando à uma correlação quantitativa.

Na análise para SAR, muitas ferramentas estatísticas são disponíveis para efetuar análise multivariada. A figura III.2 representa um diagrama de blocos sistemático para análise estatística em QSAR e SAR.

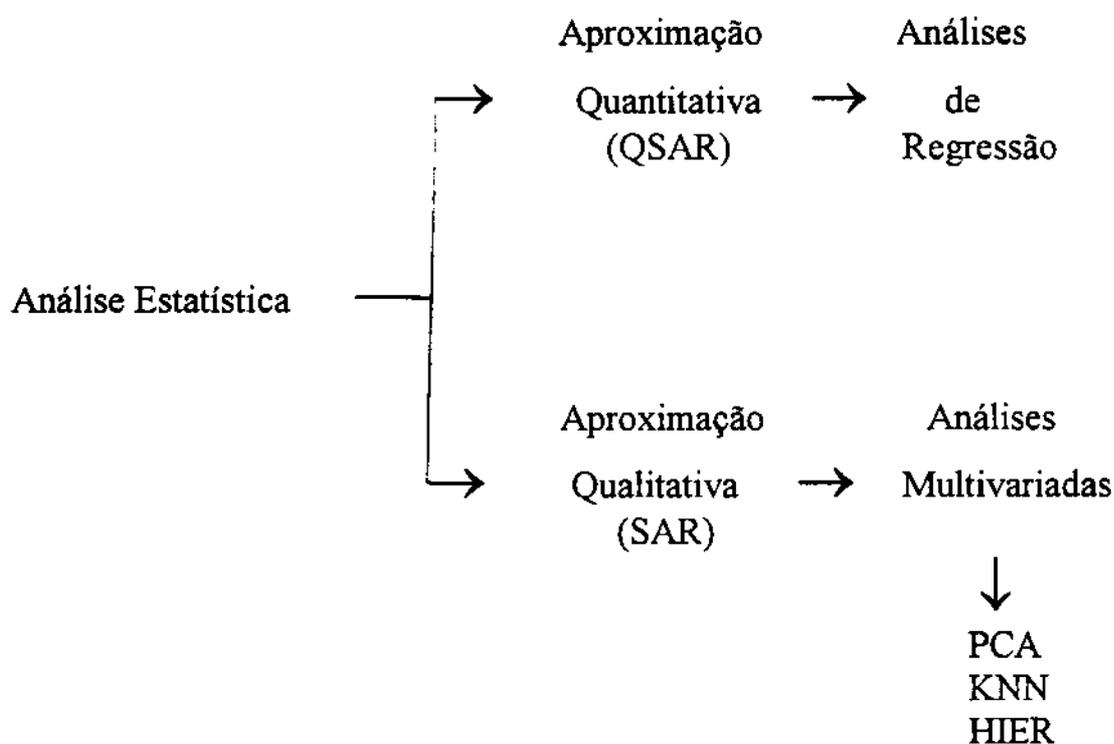


Fig.III.2 - Diagrama de blocos sistemático para análise estatística em QSAR e SAR.

### III.1.3) O Modelo

A análise estatística deve levar à equação do modelo desejado, que relaciona o parâmetro (X) com o parâmetro molecular, em geral, através de uma relação linear de  $\log 1/X$  com um ou mais parâmetros moleculares, de acordo com a seguinte equação:

$$\log (1/X) = \text{constante} + a_1P_1 + a_2P_2 + \dots + a_nP_n$$

onde:  $a_1 - a_n$  são os coeficientes e

$P_1 - P_n$  são os parâmetros moleculares.

No caso das relações qualitativas, o modelo é : Resposta Biológica = f(parâmetros moleculares).

A atividade biológica das substâncias químicas não se deve a uma só, mas a todas as propriedades físico-químicas das moléculas. É evidente, portanto, que no estudo da relação estrutura- atividade biológica por meio de métodos quantitativos, não se pode obter correlação perfeita da ação biológica com um único parâmetro ou com reduzido número de parâmetros físico-químicos das moléculas consideradas. As correlações boas obtidas com um único parâmetro indicam tão-somente que aquele parâmetro desempenha papel preponderante.

Cabe, nesta etapa, comentar , de maneira sintetizada, sobre a evolução dos métodos QSAR.

Pode-se dizer que a primeira tentativa de correlacionar alguma propriedade físico-química com atividade biológica foi feita por Overton(1.897, 1.899 e 1.901) e Meyer(1.899). Estes pesquisadores sugeriram o uso dos coeficientes de partição entre óleo e água para modelar a partição de compostos orgânicos em tecidos nervosos, obtendo assim um mecanismo para o estudo da ação narcótica (83).

Um avanço significativo foi o uso de constantes de substituintes ao invés das medidas de propriedades da molécula inteira. Hammett(1.937 e 1.940) tratou de forma quantitativa os efeitos eletrônicos causados por substituintes nas constantes de velocidade e constantes de equilíbrio em reações orgânicas (84).

Usando o ácido benzóico como um sistema de referência, definiu-se uma escala para os efeitos eletrônicos dos substituintes em sistemas aromáticos através da equação:  $\sigma_x = \log K_x - \log K_H$ , onde  $K_x$  é a constante de ionização do ácido benzóico substituído e  $K_H$  é a constante de ionização do ácido benzóico em água a 25°C. Quando  $K_x$  é maior que  $K_H$  (ácido substituído mais forte que o ácido benzóico),  $\sigma_x$  é positivo( ex. p-NO<sub>2</sub> = 0.78), indicando um efeito retirador de elétrons pelo substituinte. Quando  $K_x$  é menor que  $K_H$ , a constante  $\sigma_x$  é negativa indicando um efeito doador de elétrons pelo substituinte (p-OCH<sub>3</sub>) = - 0.27).

Hammett através do gráfico da constante de equilíbrio de várias reações versus os valores de  $\sigma$  dos derivados do ácido benzóico, obteve uma reta (uma vez que não houvesse efeitos de interação estérica ou efeito direto de ressonância entre os substituintes e o centro reacional), resultando na famosa equação de Hammett:  $\log K_x = \rho \sigma + \log K_H$

O coeficiente angular  $\rho$ , sendo único para cada reação, é uma medida da sensibilidade da reação pelo efeito do substituinte.

A equação de Hammett é uma equação preditiva, pois o conhecimento da constante possibilitará que se faça a estimativa da reatividade de um composto desconhecido. A equação de Hammett também pode funcionar como ferramenta de classificação de certo tipo de reação: se a equação é satisfeita podemos dizer que o efeito eletrônico do substituinte é importante para o mecanismo da reação (85). A constante de Hammett é ainda utilizada, hoje em dia. Sua utilização só não é maior que o coeficiente de partição octanol/água ( $\log P$ ) e a constante de hidrofobicidade ( $\pi$ ) de Hansch e Fujita (86).

Em 1.956, Bruice e col. (87) formularam a seguinte equação:

$\log AB = K \Sigma f + c$ , onde AB é a atividade biológica medida em porcentagem de atividade tireomimética; f são constantes de substituintes dos grupos X, Y e OR'; K e c são constantes de ajustamento;  $\Sigma f = f_x + f_y + f_{OR}$ . Os valores de f

são totalmente empíricos e foram derivados de forma similar à constante  $\sigma$  de Hammett. A atividade tireomimética foi investigada numa série de 47 análogos da tireoxina. Elevada correlação foi encontrada entre os valores da atividade biológica e o somatório de  $f$ . Bruice e col. interpretaram as contribuições de  $f$  em termos físico-químicos: grupos aceptores de elétron X, Y ou OR' diminuem a atividade biológica, enquanto que a habilidade de formar pontes de hidrogênio de X e Y intensifica a mesma.

Vale salientar a utilização da escala logarítmica de atividade biológica nesse estágio de desenvolvimento da química médica. Outro ponto a ressaltar é a natureza empírica da correlação obtida.

Desde então, muitas outras correlações foram obtidas, por vários pesquisadores, investigando diferentes atividades e variados meios biológicos. Até que, no ano de 1.964, surgiram dois métodos diferentes, que marcaram, definitivamente, o desenvolvimento do estudo das relações estrutura-atividade: o método de Free-Wilson e o método de Hansch.

O modelo aditivo de Free e Wilson (88) foi formulado com base na observação de que em séries congêneres de compostos a contribuição para os valores da atividade biológica, de substituintes idênticos em posições idênticas na molécula, são mais ou menos constantes. Esse modelo pode ser expresso pela equação:  $AB = \sum a_i + \zeta$ , onde AB é a atividade biológica;  $a_i$  é a

contribuição para a atividade biológica do substituinte  $X_i$ ;  $\zeta$  é a média global da atividade biológica do grupo de compostos da série. Nas primeiras aplicações do método de Free-Wilson surgiram controvérsias a respeito da escala em que deveriam ser apresentados os valores da atividade biológica. Não havia certeza se a melhor escala era a linear ou a logarítmica. Hoje, sabe-se que o conceito de aditividade só é verdadeiro quando usamos a escala logarítmica de atividade biológica. Então, a equação acima pode ser representada de forma mais rigorosa:  $\log AB_{(i)} = \sum a_{jk} X_{jk} + \zeta$ , onde a atividade biológica do  $i$ -ésimo composto está adequadamente expressa em escala logarítmica;  $a_{jk}$  é a contribuição do substituinte  $X_k$ , para a atividade biológica, em cada posição  $j$ ;  $X_{jk}$  é igual a 1 se o substituinte  $X_k$  está presente na posição  $j$ , caso contrário será igual a zero.

No ano de 1.971, Fujita e Ban (89) introduziram algumas modificações no método de Free-Wilson. Eles interpretaram  $\zeta$  como sendo o valor teórico da atividade biológica do composto não substituído, chamado, agora,  $\zeta_H$ . Relacionaram todas as contribuições grupais ao hidrogênio, na mesma posição de substituição, o que facilitou os cálculos. A equação modificada é a seguinte:  $\log AB_{(i)} = \sum b_{jk} X_{jk} + \zeta_H$ , onde  $\zeta_H$  é o valor calculado da atividade biológica para o composto não substituído (R-H);  $b_{jk}$  é a contribuição para a atividade biológica do substituinte  $X_k$  tomada em relação ao hidrogênio.

Bocek (90) e Kpecky (91) propuseram um modelo semelhante ao de Free-Wilson diferindo apenas pela inclusão de termos cruzados do tipo  $ex\ ey$ . Este termo é utilizado para detectar possíveis interações entre os substituintes  $XeY$  localizados em posições de substituição próximas. Não há muita utilidade prática para este modelo, pois há necessidade de grande número de variáveis para sua utilização.

O método de Hansch (86) é o método mais utilizado nas correlações quantitativas de estrutura-atividade biológica QSAR. Este método é utilizado no estudo de séries de compostos que possuem estruturas químicas semelhantes, diferindo entre si por um ou mais grupos substituintes, em posições definidas. Hansch caracterizou a atividade biológica observada como sendo resultado da contribuição de diversos fatores, que se comportam de maneira independente. O método de Hansch tenta caracterizar e isolar as contribuições de cada um dos fatores físico-químicos responsáveis pela atividade biológica: fatores hidrofóbicos, eletrônicos e estéricos. Cada contribuição é representada por uma constante de substituinte e as correlações quantitativas entre estrutura-atividade biológica são expressas por equações lineares multidimensionais do tipo:  $\log(1/c) = a \log P + b \sigma + c E_s + d$  ; onde a dependência da atividade biológica com a lipofilicidade é linear (91) ou do tipo:

$\log(1/c) = -a (\log P)^2 + b \log P + c \sigma + d E_s + e$  ; onde a dependência da atividade biológica com a lipofilicidade obedece ao modelo quadrático (93), nas quais:  $c$  é a concentração molar do composto que produz resposta biológica padrão, podendo ser  $IC_{50}$ ,  $LD_{50}$ , etc;  $P$  é o coeficiente de partição octanol/água;  $\sigma$  é a constante eletrônica de Hammett;  $E_s$  é a constante estérica de Taft do substituinte. Os valores  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$  e  $e$  são os coeficientes obtidos pela análise de regressão linear múltipla, que fornecem medidas de  $s$  (desvio-padrão observado de  $c$ ),  $r$  (coeficiente de correlação) e  $n$  (número de dados utilizados).

Para o uso das constantes acima não existem regras fixas e encontram-se correlações envolvendo apenas parâmetros teóricos ou apenas envolvendo parâmetros experimentais, ou uma combinação de ambos.

Atualmente, existem, na literatura, várias escalas de parâmetros dos substituintes, sendo que a mais recente das revisões foi publicada por Hansch, Leo e Taft (94).

Normalmente, para as correlações, utiliza-se, inicialmente, equações mais gerais e, em seguida, elimina-se as variáveis menos significativas, ou seja, as que apresentam coeficientes muito pequenos nas equações de correlação (95). O método de Hansch é, relativamente, simples de usar e barato. Existem diversos programas computacionais que fazem regressão

linear múltipla disponíveis e os parâmetros físico-químicos utilizados podem, de maneira geral, ser facilmente obtidos na literatura. É necessário incluir um número relativamente grande de compostos, para que a equação obtida seja confiável. Existe uma regra, internacionalmente, aceita de que deve haver cerca de cinco compostos para cada variável incluída no modelo (96).

Os pacotes computacionais estatísticos disponíveis no mercado apresentam diversos métodos de seleção de variáveis. O pacote SAS-Statistical Analysis System, que dispomos na Unicamp, possui oito métodos de selecionar variáveis. Cada método procura selecionar variáveis, que quando combinadas, são capazes de maximizar ou minimizar determinada propriedade estatística, como por exemplo, teste F, coeficiente de correlação, desvio-padrão, etc. Evidentemente não podemos aceitar todos os modelos selecionados por esses métodos. Devemos observar a existência de intercorrelação entre as variáveis combinadas na equação. Cada uma das variáveis utilizadas, na mesma equação, deve ser independente em relação às demais. Os programas estatísticos detectam intercorrelação apenas quando elas ocorrem em níveis elevados (acima de 0.9).

Apenas para exemplificar, no pacote estatístico SAS existe um método, para selecionar variáveis mais significativas de um grupo de derivados, chamado MAXR. O procedimento MAXR é capaz de , dentre grande número

de parâmetros, selecionar a melhor equação de um parâmetro, a melhor equação de dois parâmetros, etc, utilizando o critério de maximizar o coeficiente de correlação (R). Um outro método existente, neste pacote, é o RSQUARE, que apresenta todas as regressões simples em ordem decrescente de R , em seguida apresenta todas as combinações de parâmetros dois a dois, três a três, etc, também em ordem decrescente de R.

Os métodos de análise multivariada, utilizados em SAR, são diversos, entre os quais, podemos citar:

- Análise de Componentes Principais (97) (PCA)
- Método do Vizinho K Mais Próximo (98) (KNN)
- SIMCA (99) (Statistical Isolinear Multiple Component Analysis)
- Agrupamento Hierárquico (100) (Hier)

O objetivo da análise qualitativa é classificar as moléculas do conjunto-teste (conjunto para o qual não temos ensaios biológicos, referentes à atividade biológica) em ativas ou inativas, de acordo com a análise previamente realizada para o conjunto de referência.

Conjunto de referência é o conjunto para o qual temos ensaios biológicos realizados, cujas moléculas já estão classificadas em ativas ou inativas.

Os métodos SAR permitem determinar as propriedades físico-químicas capazes de distinguir os compostos ativos dos inativos.

Existem pacotes computacionais que realizam estas análises estatísticas. Na Unicamp, dispomos do pacote ARTHUR/UNICAMP (adaptação do programa ARTHUR/75 de computadores “mainframe” para microcomputadores) (101). Neste pacote existem os programas: Karlov (que faz o cálculo de análise de componentes principais), KNN, SIMCA, HIER, etc.

Todos esses programas têm a finalidade de classificar os compostos em ativos ou inativos.

### **Fundamentos do Método AM1**

O método AM1 é baseado na aproximação NDDO (neglect of diatomic differential overlap). A aproximação NDDO despreza o recobrimento de orbitais atômicos centrados em átomos diferentes. Assim, todas as integrais de dois elétrons do tipo  $(\mu\nu|\lambda\sigma)$  em que  $\mu$  e  $\nu$  estão centrados no mesmo átomo (A) e  $\lambda$  e  $\sigma$  também estão centrados no mesmo átomo (B) são mantidas. As integrais de repulsão eletrônica envolvendo recobrimento diferencial

diatômico são desprezadas. O tratamento AM1 é confinado à moléculas de camada fechada e aos elétrons de valência nas mesmas. Assume-se que estes movem no campo do cerne fixo (composto de núcleo e elétrons das camadas mais internas).

Os orbitais moleculares da camada de valência ( $\Psi_i$ ) são representados pela combinação linear de um conjunto de base mínima de orbitais atômicos da camada de valência ( $\phi_v$ ):

$$\Psi_i = \sum_v c_{vi} \phi_v$$

Os coeficientes  $c_{vi}$  são encontrados a partir das equações de Roothaan-Hall, que na aproximação NDDO, assume a forma:

$$\sum_v (F_{\mu v} - E_i \delta_{\mu v}) c_{vi} = 0$$

onde  $E_i$  é o autovalor do orbital molecular  $\psi_i$   
 $\delta_{\mu v}$  o delta de Kronecker e  
 $F_{\mu v}$  os elementos da matriz de Fock.

A energia eletrônica  $E_{el}$  é dada por:

$$E_{el} = \frac{1}{2} \sum_{\mu} \sum_{\nu} P_{\mu\nu} (F_{\mu\nu} + H_{\mu\nu})$$

onde

$H_{\mu\nu}$  representa a contribuição da energia resultante do movimento dos elétrons de valência movendo-se no campo do cerne,  $P_{\mu\nu}$  são os elementos da matriz densidade.

Assume-se que os orbitais atômicos  $\phi_\mu$  e  $\phi_\nu$  estão centrados no átomo A e os orbitais atômicos  $\phi_\lambda$  e  $\phi_\sigma$  estão centrados no átomo B ( $A \neq B$ ). Nesta notação os elementos da matriz de Fock NDDO são:

$$F_{\mu\mu} = U_{\mu\mu} + \sum_B V_{\mu\mu,B} + \sum_\nu^A P_{\nu\nu} [(\mu\mu,\nu\nu) - \frac{1}{2}(\mu\nu,\mu\nu)] + \sum_B \sum_{\lambda,\sigma}^B P_{\lambda\sigma} (\mu\mu,\lambda\sigma)$$

$$F_{\mu\nu} = \sum_B V_{\mu\nu,B} + \frac{1}{2} P_{\mu\nu} [3(\mu\nu,\mu\nu) - (\mu\mu,\nu\nu)] + \sum_B \sum_{\lambda,\sigma}^B P_{\lambda\sigma} (\mu\nu,\lambda\sigma)$$

$$F_{\mu\lambda} = \beta_{\mu\lambda} - \frac{1}{2} \sum_\nu^A \sum_\sigma^B P_{\nu\sigma} (\mu\nu,\lambda\sigma)$$

Os seguintes elementos aparecem na matriz de Fock:

a-) Energias um centro- um elétron,  $U_{\mu\mu}$ , que representa a soma da energia cinética de um elétron no orbital atômico  $\phi_\mu$  no átomo A e sua energia potencial devido a atracão pelo cerne do átomo A.

b-) Integrais de repulsão um centro- dois elétrons, isto é, integrais de Coulomb  $(\mu\mu,\nu\nu) = g_{\mu\nu}$  e integrais de troca  $(\mu\nu,\mu\nu) = h_{\mu\nu}$ .

c-) Integrais de ressonância do cerne,  $\beta_{\mu\lambda}$ , dois centros-um elétron.

d-) Atracões dois centros- um elétron  $V_{\mu\nu,B}$ , entre um elétron na distribuição  $\psi_\mu$   $\psi_\nu$  no átomo A e o cerne do átomo B.

e-) Integrais de repulsão dois centros-dois elétrons  $(\mu\nu,\lambda\sigma)$ .

A energia total  $E^{\text{mol}}_{\text{tot}}$  da molécula é a soma da energia eletrônica  $E_{\text{el}}$  e as repulsões  $E^{\text{cerne}}_{AB}$  entre os “cernes” dos átomos A e B.

$$E^{\text{mol}}_{\text{tot}} = E_{\text{el}} + \sum_{A < B} \sum E^{\text{cerne}}_{AB}$$

O calor de formação  $\Delta H_f$  da molécula é obtido a partir de sua energia total, subtraindo-se a energia eletrônica  $E^A_{\text{el}}$  e adicionando os calores de formação experimentais  $\Delta H^A_f$  dos átomos na molécula,

$$\Delta H^{\text{mol}}_f = E^{\text{mol}}_{\text{tot}} - \sum_A E^A_{\text{el}} + \sum_A \Delta H^A_f$$

Na aproximação NDDO, os vários termos na matriz de Fock e repulsões  $E^{\text{cerne}}_{AB}$  não são determinados analiticamente. Eles são determinados ou de

dados experimentais ou de expressões semiempíricas que contém parâmetros numéricos que podem ser ajustados para reproduzir os dados experimentais.

A diferença fundamental entre os métodos MNDO e AM1 está na função de repulsão do “cerne” (CRF-Core Repulsion Function), sendo que no método AM1 foram introduzidos termos gaussianos. A modificação nesta função deve-se ao fato do método MNDO superestimar as repulsões entre átomos quando estes se separam da distância de van der Waals.

$$E_{AB} = E_{MNDO} + [(Z_A Z_B) / R_{AB}] K_{Ai} \left\{ \sum_i \exp [ - L_{Ai} (R_{AB} - M_{Ai})^2 ] + \right. \\ \left. + \sum_j K_{Bj} \exp [ - L_{Bj} (R_{AB} - M_{Bj})^2 ] \right\}$$

$E_{MNDO}$  é a função de repulsão do cerne do método MNDO e os termos que excedem  $E_{MNDO}$  são funções Gaussianas esféricas, cujas dimensões são definidas pelo parâmetro L. Os símbolos K e M representam parâmetros ajustáveis.

De uma maneira geral, os problemas em química começam com um conjunto de dados químicos (99, 102), que consiste de  $n$  objetos, descritos por  $p$  variáveis. Os objetos químicos típicos são amostras químicas ou compostos químicos. As variáveis podem ser os parâmetros físico-químicos citados no item III.1.1.

O conjunto de dados pode ser representado na forma de uma matriz,  $X$ , com  $n$  linhas e  $p$  colunas, figura III.3.a, onde cada elemento da matriz,  $X_{ki}$ , representa o valor da  $i$ -ésima variável para o  $k$ -ésimo objeto.

Os objetos da figura III.3.a podem ser representados graficamente como pontos num espaço  $p$ -dimensional onde cada coordenada corresponde a uma variável, como mostra a figura III.3.b.

	1	2	i.....p
1	$X_{11}$	$X_{12}$	$X_{1i} \dots X_{1p}$
2	$X_{21}$	$X_{22}$	$X_{2i} \dots X_{2p}$
:	:	:	:
:	:	:	:
k	$X_{k1}$	$X_{k2}$	$X_{ki} \dots X_{kp}$
:	:	:	:
:	:	:	:
n	$X_{n1}$	$X_{n2}$	$X_{ni} \dots X_{np}$

Figura III.3.a - Matriz de dados,  $X$ . O elemento  $X_{ki}$  corresponde ao valor da variável  $i$  para a amostra  $k$ .

A medida de similaridade constitui uma grandeza fundamental nos métodos de reconhecimento de padrões (100). Para obter uma excelente estimativa da semelhança entre dois pontos  $k$  e  $j$ , no espaço  $p$ , basta calcular a distância euclidiana simples entre eles definida por :

$$d_{kj} = \left[ \sum_{i=1}^p (x_{ki} - x_{ji})^2 \right]^{1/2}$$

onde o somatório é feito sobre as  $p$  medidas. Considera-se que quanto menor a distância entre os pontos, maior a similaridade entre as amostras representadas por eles. A similaridade é convenientemente definida por:

$$S_{kj} = 1 - d_{kj} / (d_{kj})_{\text{máx}}$$

onde  $(d_{kj})_{\text{máx}}$  é a maior distância entre dois pontos quaisquer no espaço  $p$ -dimensional. Para objetos idênticos  $S_{kj} = 1$ , enquanto que  $S_{kj} = 0$  corresponde a dois pontos separados pela maior distância constatada no conjunto estudado.

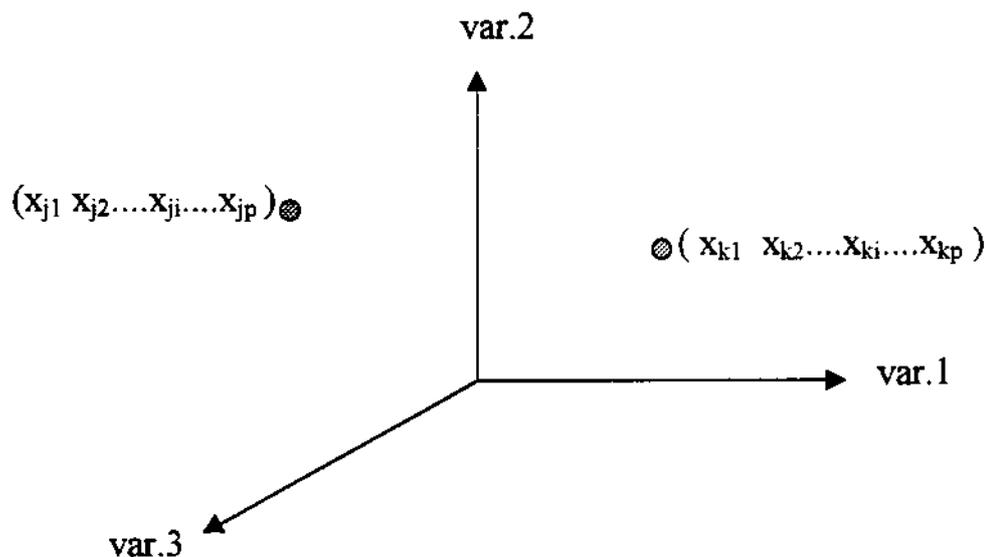


Fig. III.3.b - Representação gráfica dos pontos relativos à k-ésima e à j-ésima amostras, com variáveis ( 1,2.....i.....p ).

### Preprocessamento dos Dados

#### Escalonamento pela Variância

O escalonamento consiste em uma transformação dos dados (propriedades físico-químicas), para que eles possam ser comparados em uma mesma escala, apesar de possuírem unidades diferentes.

As propriedades físico-químicas (variáveis) são transformadas tal que a média ( $\bar{x}_i$ ) torna-se zero e a variância ( $S^2_i$ ), um.

$$\bar{x}_i = 1/n \sum x_{ik}$$

onde  $\bar{x}_i$  é a média da variável  $i$  calculada para os  $n$  objetos e  $x_{ik}$  é a medida da variável  $i$  para o objeto  $k$ . A variância para a  $i$ -ésima variável é:

$$S^2_i = \Sigma (x_{ik} - \bar{x}_i)^2 / (n - 1)$$

As propriedades calculadas para os objetos,  $x_{ik}$ , foram transformadas em  $x'_{ik}$ , pela equação:

$$x'_{ik} = (x_{ik} - \bar{x}_i) / \bar{S}_i$$

tal que:

$$\bar{x}_i = \Sigma x'_{ik} / n = 0$$

e

$$S^2_i = \Sigma (x'_{ik} - \bar{x}_i)^2 / (n - 1) = 1$$

### Análise de Componentes principais (PCA)

A análise de componentes principais tem outros nomes alternativos como: análise fatorial, projeção de autovetores, decomposição em valores singulares e expansão de Karhunen-Loeve. Porém, análise de componentes principais é o mais utilizado em química. Este método tem por finalidade reduzir o número de variáveis (propriedades físico-químicas) na análise. A análise de componentes principais calcula, a partir das variáveis originais, novas variáveis, chamadas de componentes principais, que são combinações lineares das variáveis originais (103, 104). A primeira nova variável contém a maior variância e assim sucessivamente, até um ponto onde as últimas

variáveis têm variâncias que são zero ou próximas a zero. As variáveis com variâncias próximas a zero são truncadas. Portanto, a finalidade principal do método é a redução da dimensão da matriz de dados, mas ele pode também ser usado para construir modelos de classificação para novos dados medidos para o mesmo sistema.

### Interpretação Geométrica

O conjunto de pontos representando os objetos (ou compostos), localizados no espaço através dos valores de suas propriedades físico-químicas, pode ser representado por seu ponto central,  $\bar{X}$  definido por :

$$\bar{X} = ( X_1 \ X_2 \dots \ X_i \dots \ X_p )$$

onde  $X_i$  é a média da propriedade físico-química  $i$  para o conjunto.

A matriz de dados  $X$  , da figura III.3.a, é representada pela equação abaixo:

$$X = \bar{X} + E^{(0)}$$

onde  $E$  é a matriz contendo os desvios das médias.

A figura III.3.c mostra a representação dos dados  $X$  num espaço tridimensional e a representação do ponto central,  $\bar{X}$

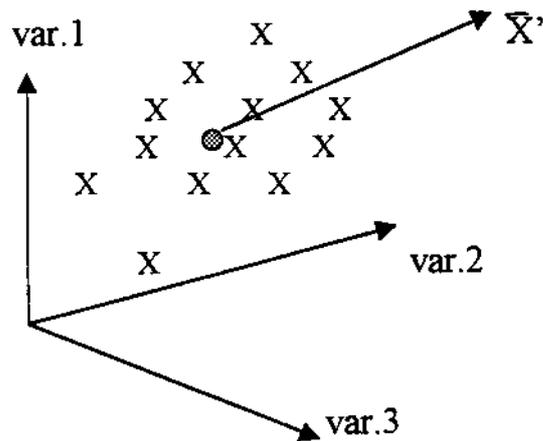


Fig.III.3.c - Representação dos dados  $X$  num espaço tridimensional e do ponto central  $\bar{X}'$ .

Se uma reta for ajustada aos  $n$  pontos no espaço  $p$ , de modo que os desvios sejam os menores possíveis, obteremos a figura III.3.d. Os coeficientes de direção desta reta são chamados “Loadings”, sendo um para cada variável  $i$ , representados pelo vetor  $P'_1$ . Quando cada ponto é projetado nesta linha, obtemos os “escores”  $t_{k1}$ , que representam a coordenada do ponto  $k$  ao longo do eixo  $P_1$ .

Quando subtraímos  $t_1 P'_1$  de  $\underline{E}^{(0)}$ , obtemos os novos desvios  $\underline{E}^{(1)}$ :

$$\underline{E}^{(0)} - t_1 P'_1 = \underline{X} - \underline{1} \bar{X}' - t_1 P'_1 = \underline{E}^{(1)} \quad \text{ou}$$

$$\underline{X} = \underline{1} \bar{X}' + t_1 P'_1 + \underline{E}^{(1)}$$

A equação acima descreve o modelo de uma componente principal, que corresponde a uma reta no espaço  $p$ -dimensional e uma equação linear com

uma variável, a componente principal (figura III.3.d). Esta reta contém o máximo de variância unidimensional dos dados, isto é, ela define a direção que explica o máximo de informação estatística contida nos dados.

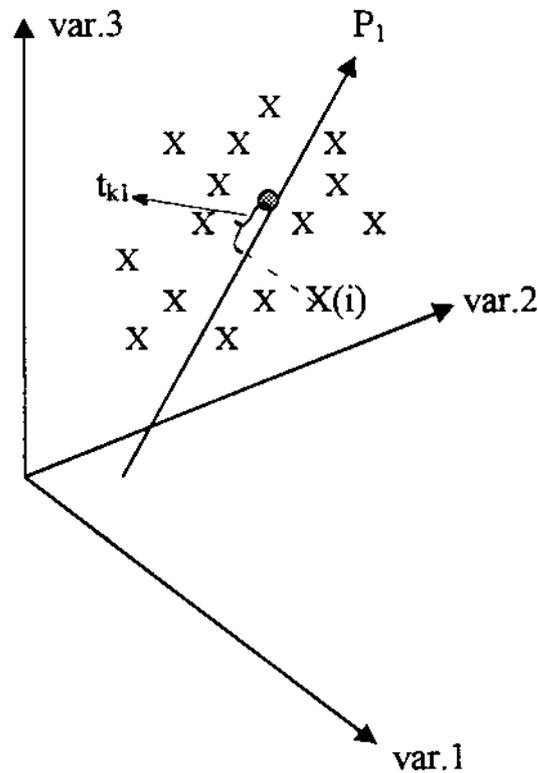


Figura III.3.d - Representação da primeira componente principal.

Se subtrairmos de  $X$  o modelo de uma componente principal, isto implica na remoção da direção  $P_1$  dos dados. Assim :  $\tilde{X} = \frac{1}{n} \cdot \sum X_i - t_1 P_1 = \tilde{E}^{(1)}$

Podemos , então, ajustar uma outra reta aos pontos de modo que os novos desvios sejam os menores possíveis. Esta reta é perpendicular à

primeira e representa a segunda componente principal, figura III.3.e.

$$\underline{\tilde{X}} = \underline{1} \cdot \underline{X}' + t_1 \underline{P}'_1 + t_2 \underline{P}'_2 + \underline{\tilde{E}}^{(2)}$$

O modelo com duas componentes principais é representado por um plano no espaço p-dimensional, definido por duas retas ortogonais e uma equação linear com duas variáveis (as duas componentes principais).

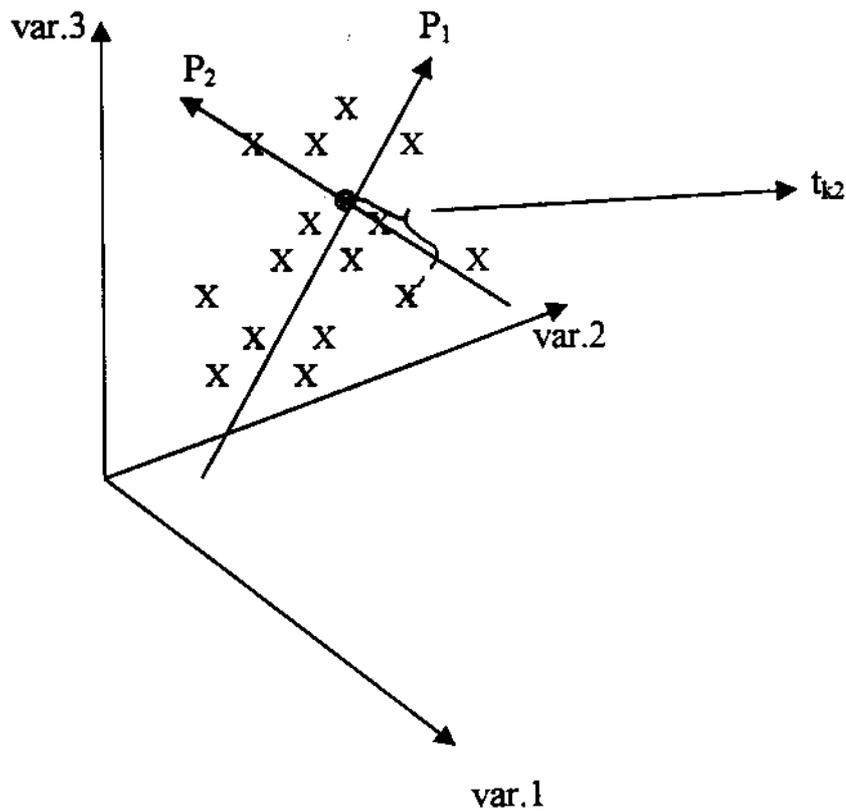


Fig. III.3.e - Representação das duas primeiras componentes principais

A reta da segunda componente está na direção da maior variância restante, depois de extraída a reta da primeira componente principal.

Este procedimento pode ser repetido  $p$  vezes, até que as variâncias das últimas componentes principais tornem-se próximas ou iguais a zero, podendo ser ignoradas.

### **Agrupamento Hierárquico**

O método do agrupamento hierárquico agrupa os compostos similares. Uma matriz de similaridade é obtida e percorrida para o maior valor; os dois pontos que produzem este valor são juntados. São , a partir daí considerados como único , formando um centro de gravidade, para calcular uma nova e menor matriz de similaridade. Este processo continua até que todos os pontos estejam contidos em um agrupamento.

### **REDE NEURAL**

A rede neural é um sistema derivado do conceito simplificado de um cérebro, no qual um número de nós, chamados elementos de processamento ou neurônios, são interconectados em uma estrutura de rede. As características deste sistema sugerem sua aplicação a processamento de

dados relacionados à respostas biológicas e/ou reações como, por exemplo, diagnósticos baseados em dados clínicos e criações de novas drogas baseadas em relação estrutura- atividade.

A figura III.3.f ilustra uma rede neural: os círculos são neurônios que são na verdade variáveis que possuem valores na faixa de 0 a 1. Os pesos que interconectam neurônios podem ter valores positivos ou negativos. O número de camadas é arbitrário e geralmente consiste de n camadas. Em nossos cálculos, usamos 3 camadas.

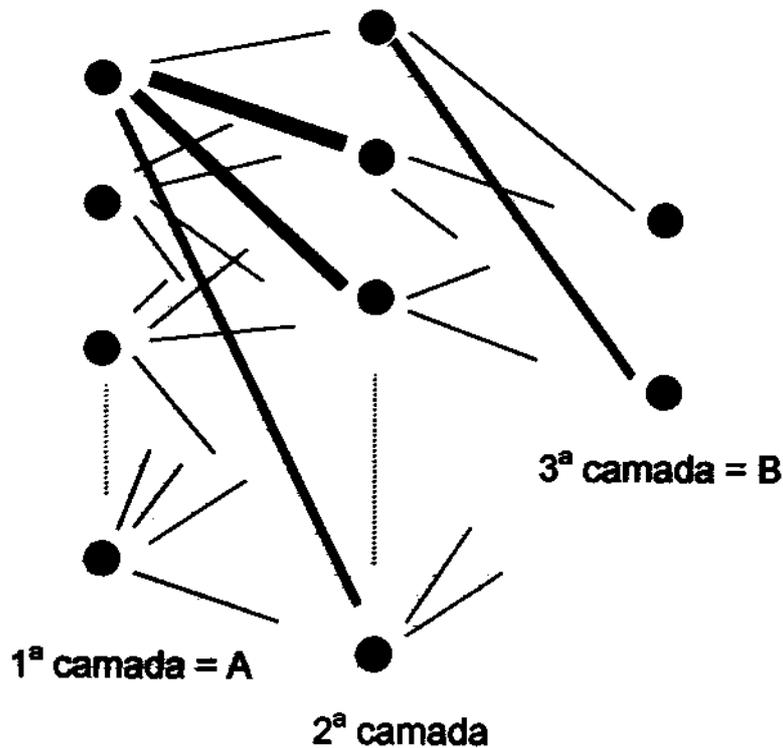


Figura III.3.f - Três camadas da rede neural

Os dados de entrada são representados por A e os de saída por B.

O valor de um neurônio ( $O_j$ ) na n-ésima camada pode ser expresso pela equação:

$$O_j = 1 / [ 1 + \exp ( - \alpha y_j ) ] \equiv f ( y_j ) \quad , \quad y_j = ( \sum w_{ij} x_i ) - \theta_j \quad (1)$$

onde  $x_i$  é um dos valores dos neurônios na camada n-1,

$w_{ij}$  é um elemento da matriz peso, expressa o valor do peso entre os neurônios, i e j.

$\theta_j$  é um valor característico para o neurônio j.

$\alpha$  é um parâmetro que expressa a não- linearidade do neurônio.

Quando os valores dos neurônios de cada camada são renovados pela alimentação dos dados em A, todos os valores da equação 1 são sincronicamente mudados.

Dados N neurônios na 1ª camada. Um conjunto de dados de “input” pode ser expresso por um vetor com N elementos para os N neurônios que é aqui chamado ‘input pattern’. Igualmente, os dados de “output” podem também ser considerados um vetor e chamados ‘output pattern’. O vetor que é comparado com um ‘output pattern’ para obter o  $w_{ij}$  fixado é chamado ‘training pattern’ ( $t_j$ ). O ‘training’ é calculado de acordo com as seguintes equações:

$$\delta w_{ij} = - d_j x_i \varepsilon \quad (2)$$

$$d_j = (O_j - t_j) f'(y_j) \quad (3a)$$

$$d_j = (w'_{ji} d'_i) f'(y_j) \quad (3b)$$

onde  $\varepsilon$  é um parâmetro que determina a mudança da correção nos ciclos repetidos.

A equação (3a) é usada somente para a correção da última camada “output” e (3b) para as outras camadas, onde  $w'_{ji}$  e  $d'_i$  na  $n$ -ésima camada são  $w_{ij}$  e  $d_j$  na camada  $n+1$ , respectivamente. A função  $f'$  na equação (3) é:

$$f'(y_j) = f(y_j) [ 1 - f(y_j) ] \alpha \quad (4)$$

onde  $\varepsilon$  e  $\alpha$  podem ser independentes para cada camada. A iteração repetida é calculada até que  $E$ ,

$$E = \sum (O_j - t_j)^2 \quad (5)$$

torne-se tão pequeno quanto definido (geralmente menor que 0.01).

Até quando os  $M$  conjuntos de “input” e ‘training patterns’ são fornecidos, todos os ‘output patterns’ podem tornar-se próximos suficientemente aos ‘training patterns’ através de iteração, utilizando as equações 1 e 2. Então a rede neural pode classificar os ‘input patterns’ em  $M$  grupos.

## **Análise de regressão múltipla não-linear (QSAR)**

Uma característica da análise de regressão múltipla da rede neural é seu caráter não-linear. Em casos especiais, pode-se torná-la linear.

A estrutura da rede neural usada para correlação quantitativa é a mesma utilizada para classificação em categorias, exceto quanto ao número de neurônios da 3ª camada que, no caso de QSAR, é um. Este neurônio também possui valor na faixa de 0 a 1, portanto o padrão de treinamento consiste de somente um elemento com valor escalonado entre 0 e 1.

### **Introdução de Operação Linear na Rede Neural**

É feita tornando BETA menor que 1. A rede neural, baseada na equação 1, executa uma operação não-linear. Uma operação não-linear não é sempre conveniente na prática, e portanto pode ser preferível introduzir uma operação linear em determinados casos. Isto é possível definindo uma nova função de saída “output” :

$$O_j = \beta / [1 + \exp(-\alpha y_j)] + (1 - \beta) y_j \equiv f(y_j)$$

$$y_j = (\sum w_{ij} x_i) - \theta_j \quad (6)$$

O parâmetro  $\beta$  expressa o grau de linearidade. Pela alteração de  $\beta$ ,

podemos introduzir operação linear na rede à qualquer nível. Se  $\beta$  for zero, a rede pode executar a operação linear corretamente. Na prática, porém, se  $\beta$  for zero um problema surge: os neurônios na 2ª camada podem facilmente exceder a faixa definida entre 0 e 1, resultando na destruição do aprendizado. A prática indica que o menor valor de  $\beta$  é cerca de 0.5. O treinamento da rede é feito similarmente até que a soma:  $\Sigma(O_j - t_j)^2$ , seja tão pequena quanto desejada, baseada nas equações 2 e 3. Se a nova função de saída for adotada, a função derivada,  $f'$ , na equação 3, fica como abaixo:

$$f'(y_j) = \alpha \beta g(y_j) [1 - g(y_j)] + 1 - \beta \quad (7)$$

Nas equações acima  $\varepsilon$ ,  $\alpha$  e  $\beta$  podem ter valores independentes para cada camada (mas não é praticável neste programa).

#### Fator de Correlação Parcial na Rede Neural

Há muitos métodos para obter relação entre “inputs” e “outputs”. Este programa usa a derivada parcial da intensidade de saída “output” com respeito ao parâmetro de entrada “input”.

Uma variação infinitesimal no dado de “input”,  $(x_{k,i} + \delta x_L)$  causa uma variação no valor do neurônio da 2ª camada de  $\delta y_j$ .

$$\delta y_j = w_{Lj} \delta x_L \quad (8)$$

onde L descreve como a variação  $\delta$  toma lugar no parâmetro L. A variação

neurônio de saída “output” é,

$$\delta O_j = \beta g'(y_j) \delta y_j + (1 - \beta) \delta y_j \quad (9)$$

onde  $g'$  é a derivada da função sigmóide (eq.1).

Então,

$$\delta O_j = \beta \alpha O(y_j) [1 - O(y_j)] \delta y_j + (1 - \beta) \delta y_j \quad (10)$$

A derivada parcial entre a 2ª e 3ª camadas é,

$$\partial O_j / \partial x_L = \{ \beta \alpha O(y_j) [1 - O(y_j)] + (1 - \beta) \} w_{Lj} \quad (11)$$

A derivada parcial do “output” com respeito ao “input” é dada por,

$$\begin{aligned} \partial O_k / \partial x_L = \Sigma \{ & \beta^{(3)} \alpha^{(3)} O(Z_k) [1 - O(Z_k)] + (1 - \beta^{(3)}) \} w_{jk}^{(2,3)} \\ & \times \{ \beta^{(2)} \alpha^{(2)} O(y_j) [1 - O(y_j)] + (1 - \beta^{(2)}) \} w_{Lj}^{(1,2)} \quad (12) \end{aligned}$$

onde,

$O(Z_k)$  é o “output” sem a variação infinitesimal do neurônio  $k$  ( $\delta x_L$ ) na 3ª camada, e  $O(y_j)$  é o “output” de  $j$  na 2ª camada. Os expoentes em  $\beta$ ,  $\alpha$  e  $w$  expressam a ordem da camada.

Então,

$$(\partial O_k / \partial x_L) = N^{-1} \Sigma (\partial O_k / (\partial x_i)) \quad (13)$$

onde  $N$  é o número total de dados de “input”. Quando  $\beta \rightarrow 1$ , a derivada parcial

$\partial O_k / \partial x_L$  aproxima-se de zero e o valor do “output” aproxima-se de zero ou

1.

## CAPÍTULO IV - Receptores de Hormônios Esteroidais

### IV.1 - Descrição

A primeira idéia de como os esteróides interagem no organismo foi a descoberta, há aproximadamente 30 anos atrás, de receptores intracelulares em células- alvo que se ligam especificamente a esteróides e coordenam suas respostas biológicas. Porém estes receptores estão presentes em concentrações tão baixas que enormes problemas foram encontrados para seu isolamento. Alguns desses problemas foram superados pelo uso de esteróides sintéticos que se conhecia ter alta atividade específica e afinidade maior que a maioria dos ligantes naturais pelos receptores. Conhecendo-se os receptores *in vivo* ou *in vitro*, seguia-se sua identificação e purificação por técnicas clássicas bioquímicas. Pelo início dos anos 80, a maioria dos receptores , incluindo receptores de estrogênios e progesterona foram purificados. A purificação desses receptores e identificação de seus elementos constituintes marca um importante passo para estudos de mecanismos de ação de hormônios esteroidais.

Até 1.984-1.986 o modelo clássico de ação de hormônios esteroidais propunha que proteínas receptoras citoplasmáticas passavam para o núcleo

depois de interação com seu ligante (hormônio). O complexo ligante -receptor tornar-se-ia associado com a cromatina, que resultaria em transcrição de genes, levando a efeitos biológicos específicos exercidos por hormônios esteroidais. Em 1.984-1.986, através de outra tecnologia empregada para tentar esclarecer esta questão, mostrou-se que a localização de receptores de progesterona e estrogênios era exclusivamente no núcleo celular. A localização nuclear de RP's e RE's foi demonstrada para grande número de tecidos- alvo e em diferentes espécies. Os RP's e RE's são transportados, depois de suas sínteses, do citoplasma para o núcleo, onde permanecem em estado inativo. Quando, subsequentemente, o hormônio se aproxima, dispara uma interação com os receptores com alta afinidade entre os sítios de ligação (105). Cada receptor se liga ao seu esteróide específico.

Portanto, receptores de hormônios esteroidais são fosfoproteínas localizadas no núcleo celular que se ligam aos esteróides com alta afinidade e alta especificidade.

Os hormônios esteroidais circulam no sangue e se difundem para dentro e fora das células, mas são retidos em células-alvo quando complexados com os receptores.

Assim como outros hormônios esteroidais, os progestogênios difundem-se livremente para o núcleo da célula, onde se ligam ao receptor de progesterona (12).

O número de doenças associadas com respostas celulares inapropriadas aos hormônios esteroidais realça a importância médica e biológica destes agentes. Os esteróides reprodutivos estrogênios, testosterona e progesterona estão implicados em uma variedade de cânceres de mama, ovário, endométrio e próstata. Conseqüentemente, o entendimento da função dos receptores intracelulares é de extrema importância farmacêutica. Isto está claramente ilustrado pelo número de drogas baseado em RI's atualmente no mercado ou em desenvolvimento.

O RP humano é o único, entre os receptores de hormônios esteroidais, que ocorre em tecidos-alvo sob dois subtipos distintos, hRP-A e hRP-B, de 94 e 120kda, respectivamente. A isoforma hRP-B contém um fragmento terminal-N de 164 aminoácidos que é ausente na isoforma hRP-A. Duas formas de RP's, correspondente a hRP-A e hRP-B, foram identificadas na maioria das espécies examinadas, com exceção em coelhos cujo RP deve existir como um único subtipo B. As funções específicas para cada um destes dois subtipos de RP's são desconhecidas (106,107).

A figura abaixo mostra a representação esquemática dos RP's do tipo A e B:

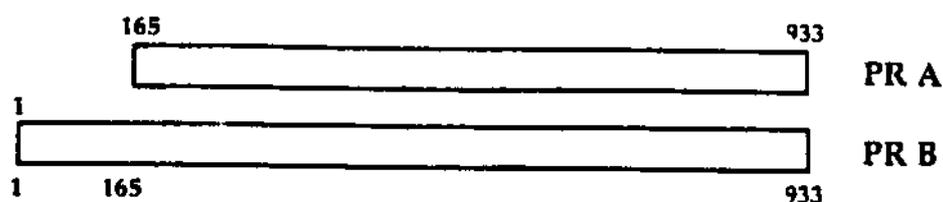


Figura IV.1 - Representação esquemática dos RP's do tipo A e B.

Os receptores humanos de progestogênios do tipo B apresentam uma sequência de 933 aminoácidos; os receptores humanos de androgênios apresentam uma sequência de 919 aminoácidos.

A sequência de aminoácidos dos receptores humanos de progestogênios do tipo B, é apresentada a seguir:

```

CCACACACATCAACAGCCCACTTTTCCTCCCTCGCCCTATATTCCGAAACCCCTCCCTCCCTTTCCCTCCCTCCCTGGAGACGGGGGAGGAGAAAAGGAGTCCCACTGCTG -1
10 20 30
ATG ACT GAG CTG AAG GCA AAG GGT CCC 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170 180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290 300 310 320 330 340 350 360 370 380 390 400 410 420 430 440 450 460 470 480 490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590 600 610 620 630 640 650 660 670 680 690 700 710 720 730 740 750 760 770 780 790 800 810 820 830 840 850 860 870 880 890 900 910 920
ATG ACT GAG CTG AAG GCA AAG GGT CCC 10 20 30
ACT THR GLN LEU LYS ALA LYS GLY PRO 40 50 60
GAG THR ARG GLY PHE PRO 70 80 90
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 100 110 120
GCA ACC TCG GAC ACC TGG CCT GAA GTT TCG 130 140 150
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 160 170 180
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 190 200 210
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 220 230 240
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 250 260 270
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 280 290 300
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 310 320 330
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 340 350 360
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 370 380 390
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 400 410 420
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 430 440 450
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 460 470 480
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 490 500 510
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 520 530 540
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 550 560 570
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 580 590 600
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 610 620 630
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 640 650 660
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 670 680 690
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 700 710 720
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 730 740 750
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 760 770 780
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 790 800 810
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 820 830 840
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 850 860 870
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 880 890 900
GCA GCG GCA GGT CCG TTC CCG GGG AGC 910 920
CAT AAA AAG 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100
HIS LYS LYS 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

```

Fig. IV.2 - Sequência de aminoácidos dos receptores humanos de progesterógenos do tipo B.

A representação esquemática de um receptor nuclear hormonal pode ser como mostrado a seguir:

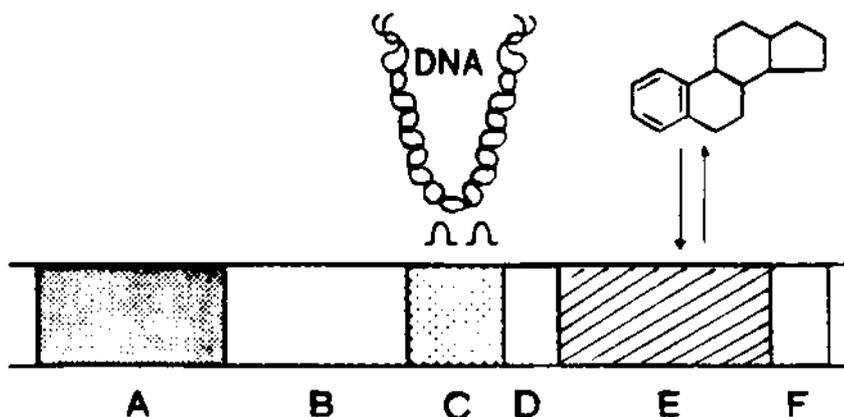


Fig. IV.3 - A fig. IV.3 mostra as 6 regiões (A-F) dos receptores hormonais nucleares.

A região E é a região de interesse, onde ocorre ligação com os esteróides. Esta região inicia no aminoácido 644, como mostrado na figura IV.4.

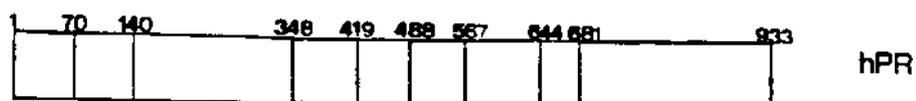


Fig. IV.4 - Representação esquemática de um receptor nuclear de esteróides, com a numeração de alguns aminoácidos.

É importante ressaltar também que, receptores para diferentes hormônios, têm regiões homólogas, como mostrado na figura IV.5:

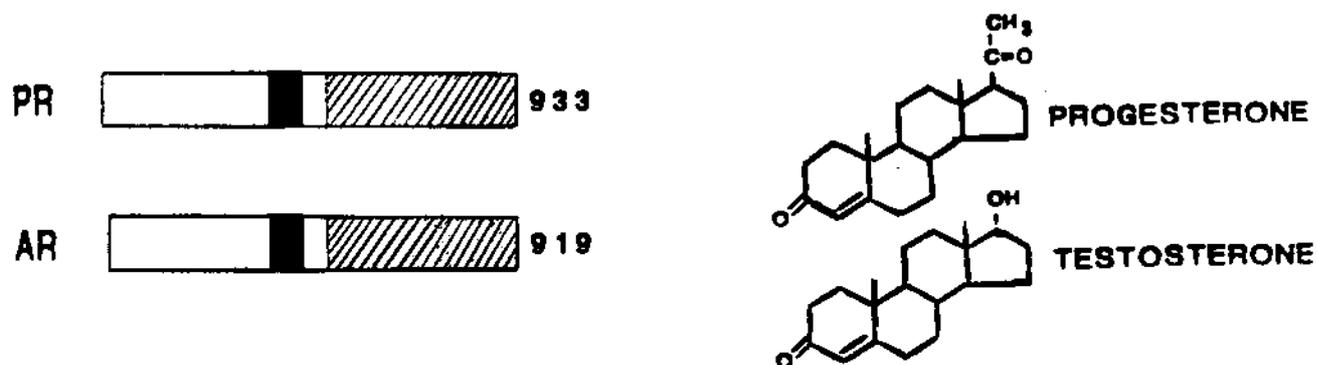


Fig. IV.5 - Representação esquemática de RP's e RA's.

A sequência de aminoácidos para um receptor comum, por exemplo RP, é altamente conservada para espécies diferentes; ver figura IV.6.

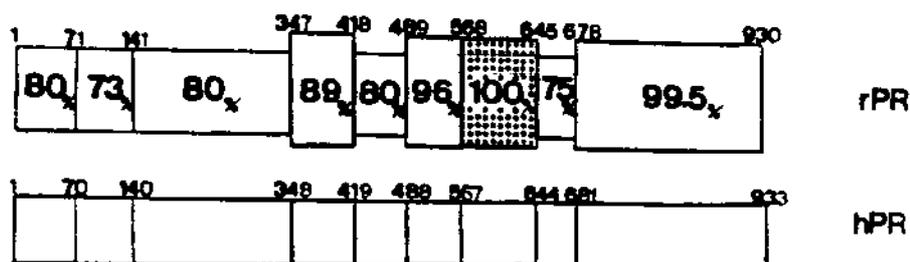


Fig. IV.6 - Representação esquemática de RP presente em células de coelhos e em células humanas.

Sheridan, Evans e Horwitz(108) dividem os receptores de progesterona em três regiões:

- 1-)uma região amino-terminal rica em prolina e conformacionalmente flexível,
- 2-)uma região altamente conservada, rica em cisteína, que se liga ao DNA e
- 3-)uma região carboxil-terminal responsável pela ligação com esteróides, como na figura abaixo:

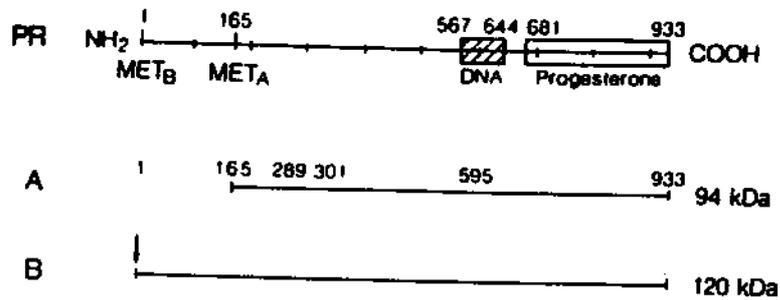


Fig. IV.7 - Três regiões dos RP's: uma amino-terminal, outra que se liga ao DNA e a terceira carboxil-terminal onde ocorrem ligações com esteróides.

## **IV.2 - Mecanismo de Ação dos Hormônios Esteroidais com seus Receptores**

Podemos descrever o mecanismo principal da ação dos hormônios esteroidais através da interação com seus receptores da seguinte forma: *in vivo*, na ausência de hormônio, receptores de esteróides estão associados não covalentemente com proteínas chamadas hsp (“*heat shock*”). Há vários tipos de proteínas hsp’s, como hsp90, etc. Os receptores formam um complexo inativo com tais proteínas incapaz de ligar-se ao DNA. A região dos receptores de esteróides envolvida na formação do complexo inativo com as proteínas hsp’s é a 3ª região (carbonil-terminal), segundo a classificação de Sheridan, Evans e Horwitz (108), responsável também pela ligação com os esteróides. Na realidade, este complexo está em equilíbrio dinâmico com o receptor livre. Smith (109) tem mostrado que, embora o hormônio não acelere a dissociação deste complexo, a ligação do hormônio ao receptor previne a reformação do complexo. Quando o hormônio se liga ao receptor induz uma mudança conformacional no mesmo, que além de inviabilizar sua ligação com proteínas hsp’s, facilita a sua dimerização. O receptor dimerizado pode ligar-se ao DNA com alta afinidade e apresenta uma conformação favorável à transcrição de gene; mRNAs deslocam-se até o citoplasma, onde vão produzir proteínas,

cujos efeitos no metabolismo celular constituem a atividade biológica (19, 110, 111, 112, 113).

Nas figuras IV.8 e IV.9, podemos visualizar dois modelos de interação entre um receptor de esteróide e o esteróide, promovendo a mudança conformacional do receptor:

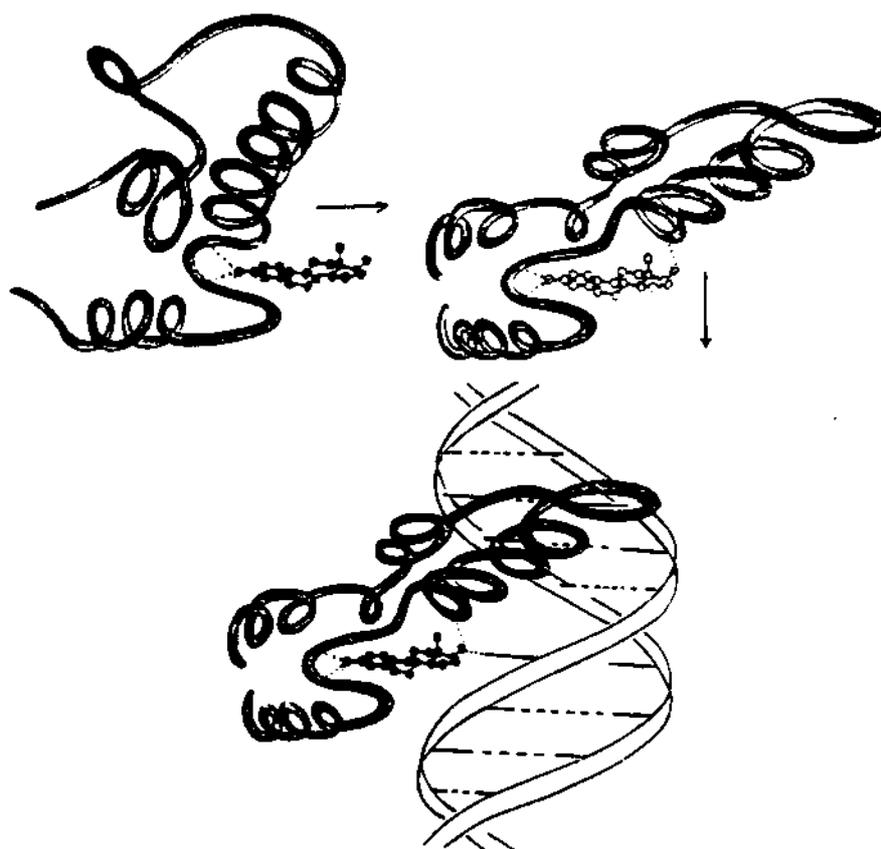


Fig. IV.8 - Modelo da interação entre o receptor de esteróide e o esteróide.

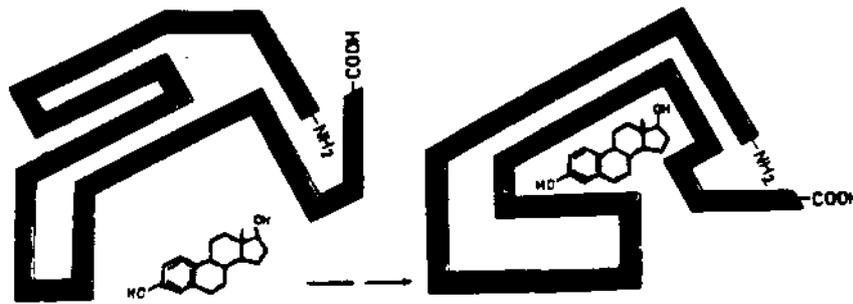


Fig. IV.9 - Outra representação hipotética do modelo de interação entre receptor de esteróide e esteróide.

Normalmente o tempo gasto , para a síntese de nova proteína, é cerca de 30 minutos ou mais. Apesar de muitos conhecimentos a cerca do mecanismo de ação dos hormônios esteroidais, a função exata do ligante não foi completamente elucidada. Porém, é geralmente aceito que a ligação de vários ligantes aos seus receptores no núcleo celular é a etapa crítica na transmissão da resposta hormonal. Dado a magnitude da resposta hormonal mostrar-se governada pela estereoespecificidade e concentração do ligante, esta informação deve, de algum modo, ser comunicada ao gene via interação receptor-ligante-DNA. É possível que a força relativa de ligação do ligante ao

receptor cause a mudança conformacional específica e quantitativa na proteína receptora que então interage na forma específica e quantitativa com o DNA.

Sumariamente, podemos dizer que o mecanismo principal de ação dos hormônios esteroidais consiste na ligação do hormônio a seu receptor, transformação do receptor ligado na sua forma ativa, e ligação do complexo esteróide-receptor ao DNA seguido pela ativação de gene.

Acredita-se que as muitas etapas de fosforilação que se seguem, após a ligação do hormônio ao receptor, tenham papel fundamental na conversão do receptor na forma transcricionalmente ativa.

A figura, a seguir, representa um esquema sumário da fosforilação que ocorre, produzindo ativação do receptor do progesterona pelo hormônio. Outras etapas de fosforilação ocorrem depois que os receptores se ligam ao DNA. Embora a função precisa dos sítios de fosforilação individuais seja desconhecida para qualquer receptor, a fosforilação contribui para a ativação do receptor.

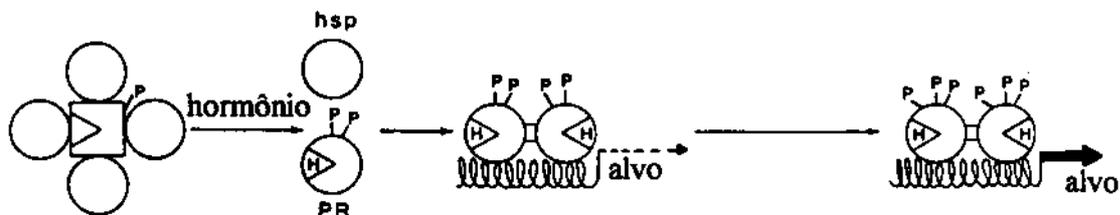


Fig.IV.10- Esquema sumário da fosforilação de RP. Inicialmente a proteína receptora encontra-se complexada com proteínas hsp, quando o hormônio H liga-se aos sítios receptores com alta afinidade, promovendo a fosforilação da mesma. Outras etapas de fosforilação ocorrem depois que o receptor se liga ao DNA ( 112).

A ligação do hormônio ao receptor leva à transformação do mesmo e a um aumento da fosforilação. Somente resíduos de serina são fosforilados. Os receptores A e B, desprovidos da ação hormonal, possuem no mínimo 5 fosfopeptídeos comuns, e um sexto é único ao B. Quando transformados por progestogênicos, receptores A passam a ter, no mínimo 6, e receptores B, 7 fosfopeptídeos. Há , portanto o aparecimento de 2 novos fosfopeptídeos nos receptores A e B, quando transformados por hormônio. Todos os resíduos

fosfoserina dependentes de hormônio, produzidos no núcleo, estão localizados nos primeiros 595 aminoácidos do RP humano.

Vale salientar que receptores de progesterona são naturalmente fosforilados em células que não são tratadas com hormônio. RP's sofrem modificações covalentes adicionais, que dependem de hormônio, produzindo nova forma de receptor. Os receptores modificados são caracterizados através de testes químicos. As modificações do RP humano são devido à fosforilação e podem ser revertidas por tratamento fosfatase.

Ortofosfato é incorporado em todas as bandas de proteína, porém as modificações ocorrem nos resíduos de serina somente.

Muitas observações leva-nos a investigar possíveis diferenças estruturais entre fosfoproteínas A e B transformadas e não transformadas.

Receptores não transformados são fracamente fosforilados durante incubação com ortofosfato. Se ortofosfato é adicionado após 4h de tratamento com hormônio, ambos receptores A e B tornam-se intensamente fosforilados. A segunda etapa de fosforilação, aparentemente, ocorre quando o complexo receptor- ligante é ligado ao DNA. RP's são fosforilados em múltiplos sítios e

experiências sugerem que todos os resíduos de fosfoserina estão na região amino-terminal das moléculas.

Tem sido postulado, para vários receptores de esteróides, que esses receptores, livres de hormônios, devam ser ativados através da ligação com os mesmos e a fosforilação tem sido implicada neste processo de ativação. Se este é o caso, desde que ambos receptores A e B podem se ligar ao mesmo hormônio, o(s) sítio(s) responsável pela ligação deve ser comum a ambas proteínas (107).

A fosforilação dos receptores de progesterona humano é bastante complexa. Mapeamento de fosfopeptídeos revela que pode haver aproximadamente 12 sítios de fosforilação nos RP's. Experiências revelam que a fosforilação dos RP's é um processo multiestágio.

Zhang et al (114) identificou um dos sítios de fosforilação do RP humano do tipo B, sendo este um sítio de fosforilação da caseína quinase II.

Os múltiplos sítios de fosforilação dos RP's são fosforilados por diferentes quinases em diferentes etapas no processo de ativação, o que indica que a fosforilação exerce múltiplas funções no receptor. Muitos estudos têm correlacionado fosforilação com aumento de ligação ao DNA (115).

Existem resíduos de serina na região entre a de ligação com o DNA e a de ligação com o hormônio. Experimentos levam a levantar a hipótese de que

assim como o hormônio causa uma mudança conformacional com bloqueio da reassociação às proteínas, o mesmo deve ocorrer com a fosforilação na serina (116).

A fosforilação funciona como um meio pelo qual a presença de sinais extracelulares (por exemplo, hormônios e neurotransmissores) é traduzida em modelos específicos de fosforilação de proteínas intracelulares.

A fosforilação de proteínas é um processo cíclico de reações opostas. Uma quinase transfere o grupo fosfato do ATP para a proteína e uma fosfatase remove o fosfato por hidrólise:

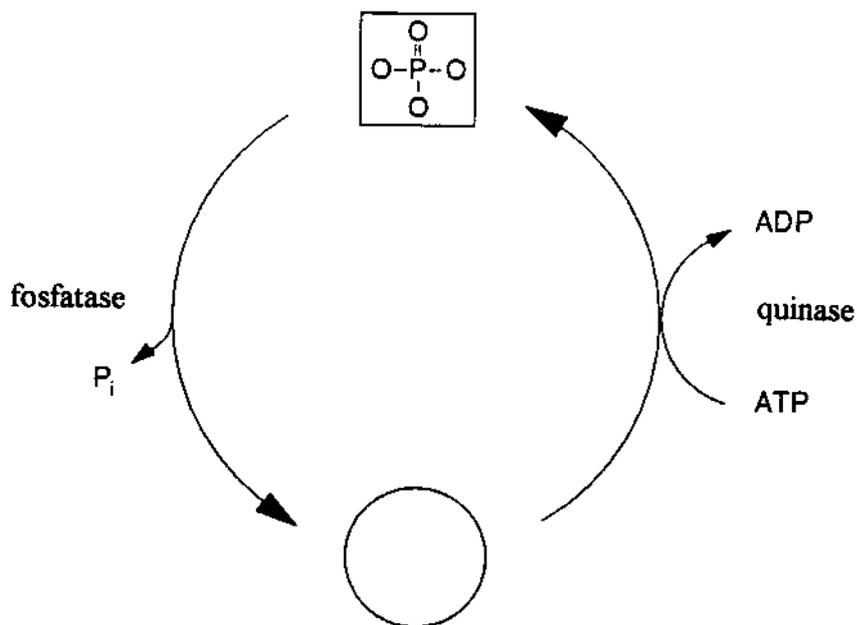


Fig. IV.11 - O processo cíclico de fosforilação.

Devido ao fato de energia ser consumida, tem-se concluído que o ciclo, na ausência de estímulo hormonal, seria muito dispendioso. Uma das respostas ao tratamento com hormônio deve envolver simultânea ativação de uma reação e atenuação da outra reação.

A fosfatase não é um simples reverso da quinase. A proteína sofre uma mudança conformacional quando nela se introduz o grupo fosforil. Quinases reconhecem sequências específicas adjacentes ao resíduo que será aceptor de fosfato. O mesmo não acontece com a fosfatase. Fosfatase não necessita de especificidade. As reações com as proteínas quinases e fosfatases são geralmente irreversíveis.

A maioria dos sítios de fosforilação em proteínas estão próximos às extremidades das mesmas ou na superfície exposta em *loops*, que fornecem flexibilidade e acessibilidade. A introdução de grupo fosforil causa uma espécie de dobramento na proteína, ou seja, promove um rearranjo conformacional na mesma (117).

Como já mencionado, anteriormente, os RP's são fosfoproteínas. Fosfoproteínas são proteínas que contém átomo(s) de fósforo ligado(s) covalentemente a seus aminoácidos.

Em todas as fosfoproteínas submetidas à investigação, o fósforo está covalentemente ligado somente a resíduos de serina, treonina, histidina, lisina, ácido aspártico ou ácido glutâmico. No caso de RP's somente foram detectados resíduos de serina fosforilados. A estrutura da serina fosforilada é mostrada a seguir :

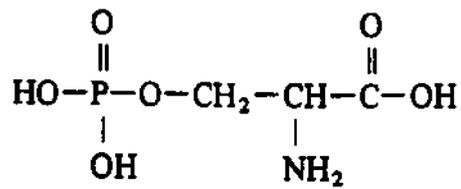


Fig. IV.12 - Estrutura da serina fosforilada (fosfoserina).

Fosfoserina é o aminoácido fosforilado mais comumente encontrado nas estruturas proteicas.

## Possíveis funções de proteínas que contém fósforo covalentemente ligado:

### a-) Proteínas Enzimáticas

Certas enzimas que contém fósforo covalentemente ligado podem possuir 3 funções possíveis:

- (1) a fosforilação da enzima pode servir para regular sua atividade
- (2) o sítio ativo de certas enzimas pode tornar-se transientemente fosforilado durante o curso da reação que procede pela formação de uma enzima intermediária fosforilada
- (3) o fosfato ligado à proteína pode ter a função de manter a estrutura da enzima sem regular a sua atividade.

### b-) Proteínas não-enzimáticas

As funções para estas proteínas, ainda não bem esclarecidas, porém sugeridas por alguns pesquisadores, podem ser divididas em 3 grupos:

- (1) certas fosfoproteínas podem servir como estoques de fosfato e íons metálicos
- (2) a fosforilação de certas proteínas pode alterar suas propriedades e regular sua função
- (3) outras sugestões que não se pode atribuir claramente à fosforilação.

A fosforilação de RP's deve enquadrar-se no item b, número (2).

### Funções possíveis da fosforilação na regulação da função da proteína:

Como já mencionado, o aminoácido fosforilado mais comum encontrado na estrutura da proteína é a fosfoserina (que é o aminoácido fosforilado de nosso interesse) e não é de se surpreender que resíduos de serina são particularmente bem apropriados para alterar a estrutura da proteína por fosforilação. O grupo hidroxil da serina é capaz de formar pontes de hidrogênio, que podem ter uma importante função na determinação da estrutura secundária e/ou terciária da proteína, e é separada por somente um único grupo  $-CH_2-$  a partir do esqueleto da cadeia de peptídeo, a uma distância de somente 0,25nm (fig.IV.13). Fosforilação do resíduo hidroxil previne a formação de tais pontes de hidrogênio e então pode causar profundas alterações na estrutura da proteína, além do efeito adicional da carga negativa do grupo fosfato.

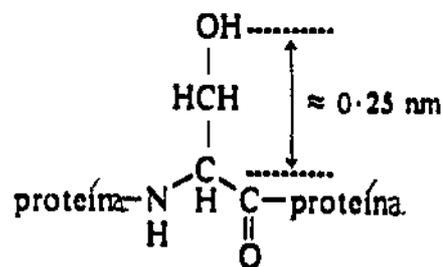


Fig. IV.13 - A estrutura de um resíduo serina na proteína

Tem-se postulado que algumas proteínas enzimáticas e não enzimáticas nucleares , após suas fosforilação, alteram suas associações com o DNA e podem regular a síntese de RNA (118).

A partir das informações, obtidas na literatura, sobre mecanismo de ação dos progestogênios, é razoável pensar que o papel do químico, na procura por progestogênios mais efetivos, é encontrar aqueles que melhor se “liguem” aos receptores de progesterona, ou seja, aqueles que possuem maior afinidade de ligação por RP's. Potencialmente, progestogênios que possuem altas afinidades de ligação por RP's , serão responsáveis por mais altas atividades biológicas.

Obviamente, deve-se selecionar os parâmetros físico-químicos que expliquem as grandes afinidades de ligação, que por sua vez, proporcionarão altas atividades biológicas ou parâmetros físico-químicos que expliquem altas atividades biológicas , as quais presume-se serem importantes para as grandes afinidades de ligação.

O capítulo seguinte refere-se a análise dos parâmetros calculados na tentativa de selecionar os mais importantes para o efeito químico desejado.

**CAPÍTULO V - Atividade Contraceptiva Oral e Atividade Androgênica**  
**de Progestogênios Utilizados Atualmente em Formulações de**  
**Contraceptivos Orais Combinados.**

**V.1 - Atividade Contraceptiva Oral**

Os progestogênios do grupo molecular, estudado neste capítulo, fazem parte das formulações dos COCs, utilizadas atualmente, à nível mundial. Deste grupo (fig. V.1), fazem parte os progestogênios pertencentes à chamada 3ª geração de COCs. Os valores de suas atividades biológicas estão na tabela II.8, item II.3. O valor da atividade biológica de (I) é distanciado dos demais valores das moléculas (II), (III), (IV), (V) e (VI), como pode ser visto na figura V.1, a seguir.

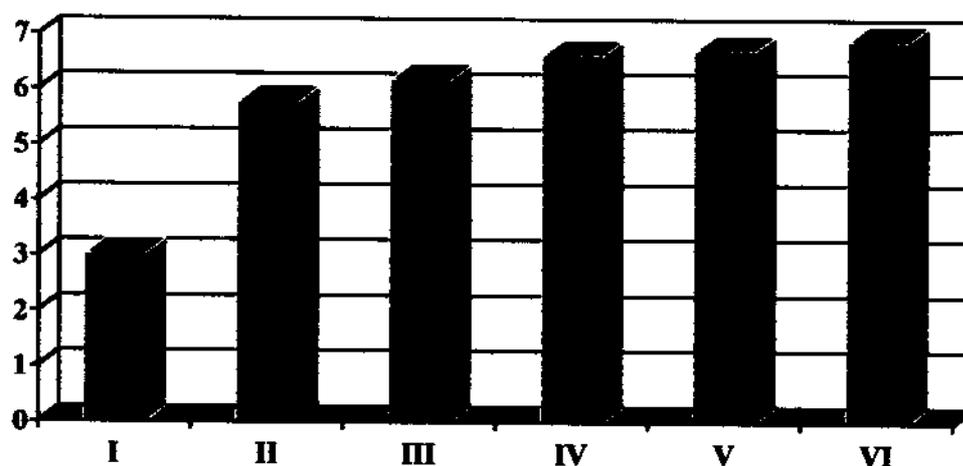


Figura V.1 – Atividade Contraceptiva Oral de progestogênios utilizados atualmente em COCs.

Classificamos os progestogênios (II), (III), (IV) ,(V) e (VI), que possuem ABs mais elevadas, como mais ativos e o progestogênio (I), como menos ativo. Desejamos saber qual a causa da grande diferença nas ABs destes progestogênios, baseados em seus parâmetros físico-químicos calculados. Tentaremos estabelecer relação entre ABs e os parâmetros físico-químicos (tabela A.1.1, apêndice A.1). Usaremos a Análise SAR, neste estudo, utilizando os métodos de reconhecimento de padrões como Análise de Componentes Principais (PCA) e Agrupamento Hierárquico (Hier), discutidos no capítulo III. Para nosso propósito, o programa Pirouette (42) foi utilizado.

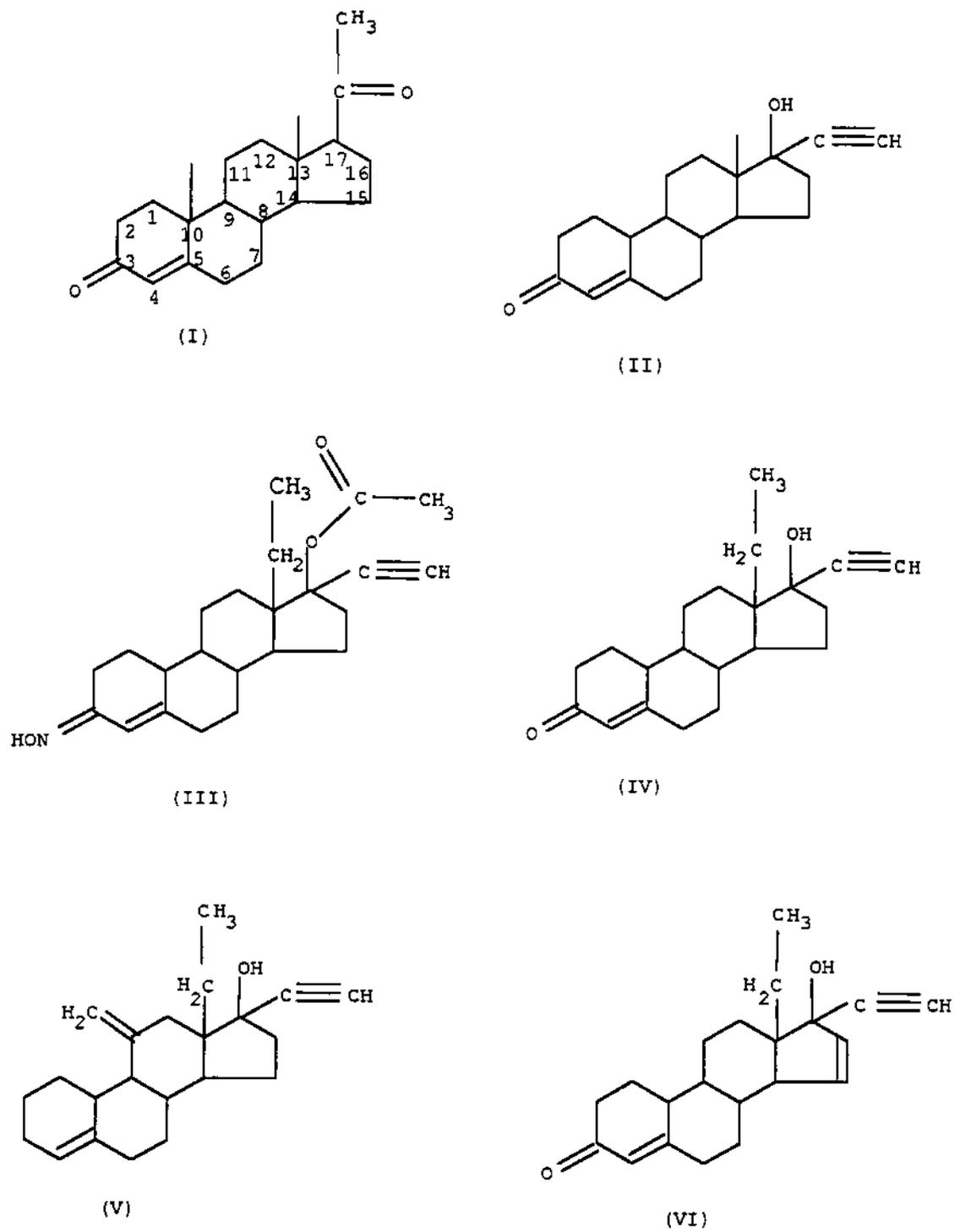


Fig V.2 – Seis progestogênios: (I) Progesterona, (II) Noretisterona, (III) Norgestimato, (IV) Levonorgestrel, (V) Desogestrel e (VI) Gestodene.

Os resultados estão mostrados, a seguir, onde a figura V.3 representa o gráfico dos escores das componentes principais (PCs), a figura V.4, o gráfico dos loadings e a figura V.5, o dendograma do agrupamento hierárquico, utilizando três parâmetros físico-químicos.

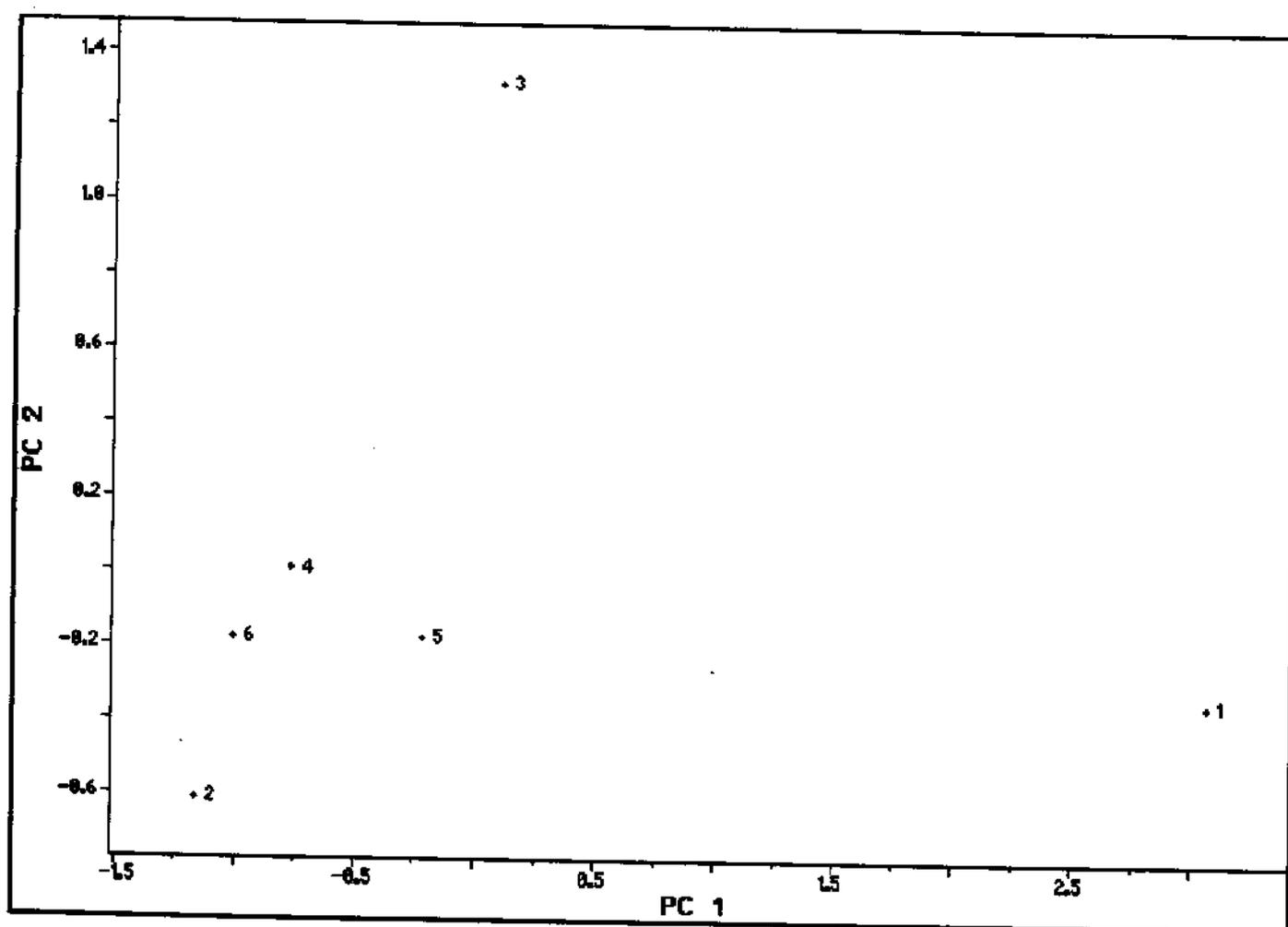


Fig.V.3 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando três parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...6 são os progesterógenos (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

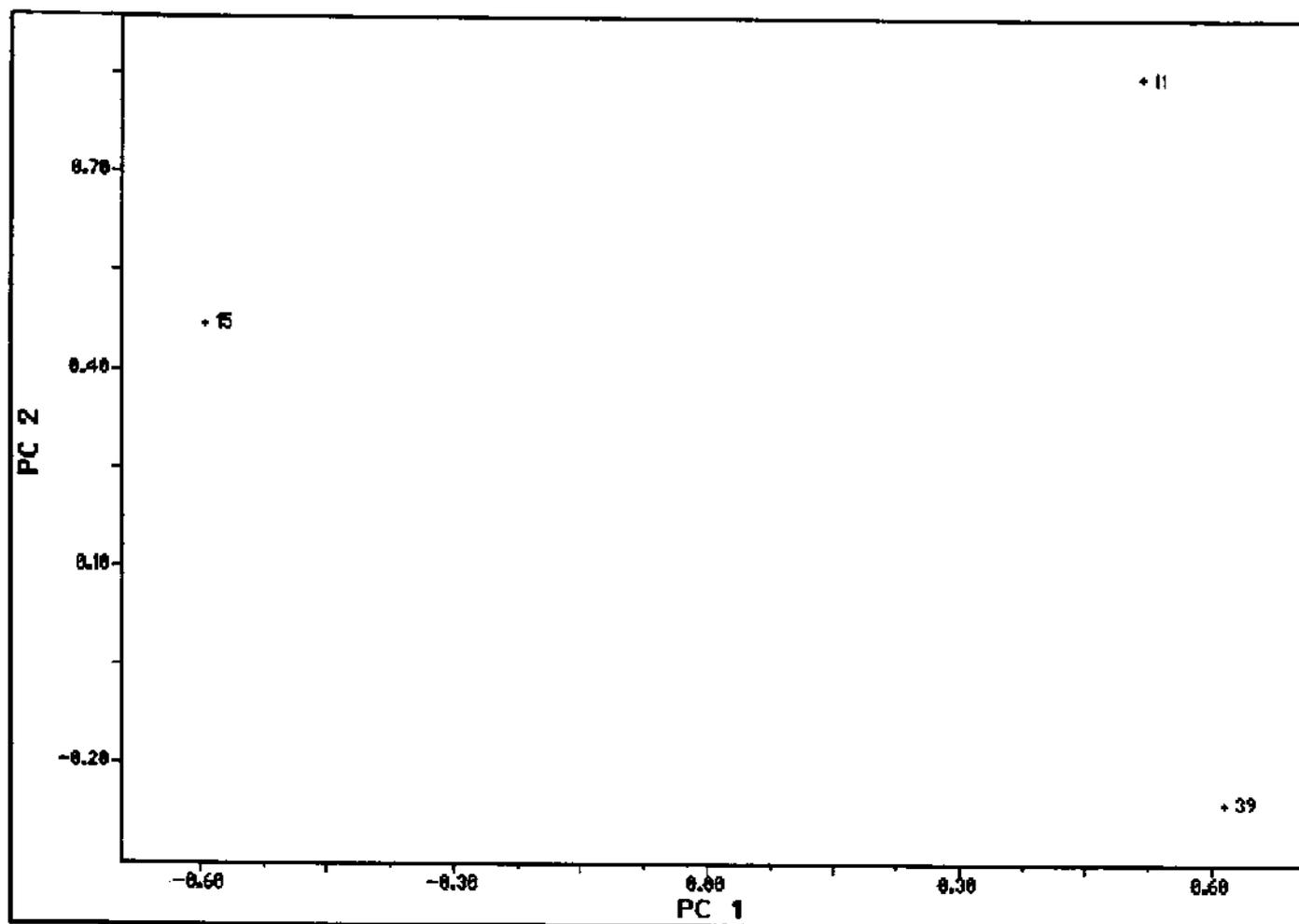


Fig.V.4 - Gráfico dos loadings, utilizando três parâmetros físico-químicos, onde 11, 15, 39 representam cargas atômicas nas posições 13, 17 e 10, respectivamente, do esqueleto esteroidal.

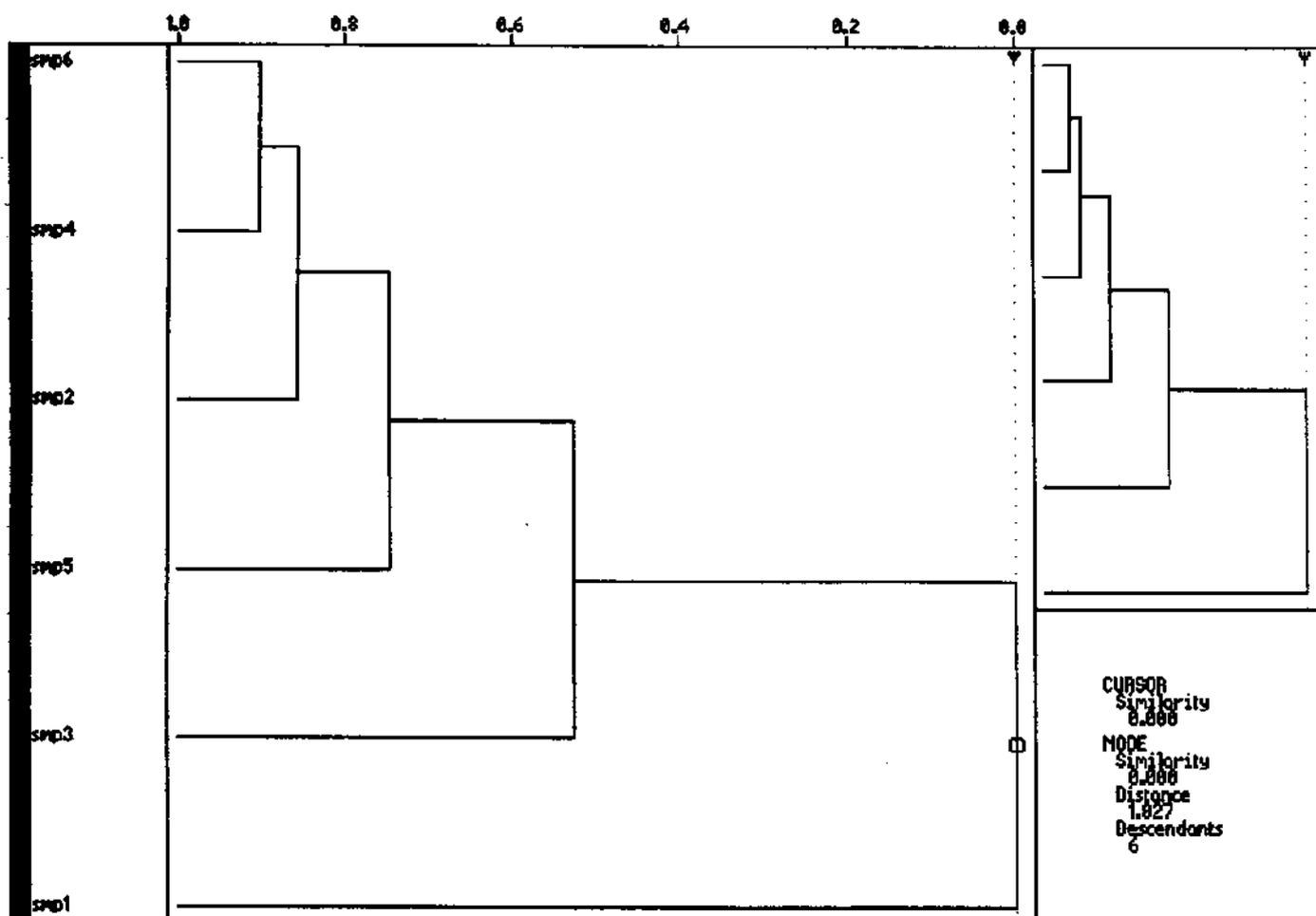


Fig. V.5 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, III, IV, V e VI, obtido com três parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp6 representam os progestogênios I, II, ... VI, respectivamente .

Através da observação da figura V.4, gráfico dos loadings, podemos concluir que os três parâmetros responsáveis, neste caso, pela separação da molécula I das demais moléculas do grupo, são: carga atômica na posição 10 (CA10), carga atômica na posição 13 (CA13) e carga atômica na posição 17 (CA17) do esqueleto esteroidal (EET), representados pelos números 39, 11 e 15, respectivamente, na figura V.4.

Pela disposição destes parâmetros na figura V.4 e observação simultânea da figura V.3, é possível dizer que a CA17 é o parâmetro que mais contribui para que as moléculas II, III, IV, V e VI ocupem uma determinada região à esquerda no gráfico dos escores e as separa da molécula I, que ocupa uma região mais à direita do mesmo gráfico. Este resultado é consistente com os valores observados na tabela A.1.1, apêndice A.1, onde encontramos os seguintes valores para CA17: para a molécula I, progesterona, a CA na posição 17 possui o valor de -0,154. As outras moléculas possuem cargas, nesta mesma posição, como reproduzidas na tabela V.1 abaixo:

Tabela V.1 - Cargas atômicas na posição 17 (CA17) para as moléculas II, III, IV, V e VI.

<b>Molécula</b>	<b>CA17</b>
(II) noretisterona	0,190
(III) norgestimato	0,224
(IV) levonorgestrel	0,194
(V) desogestrel	0,194
(VI) gestodene	0,216

As CA17 do EET são bem próximas entre si para as moléculas II, III, IV, V e VI e distantes da CA17 da molécula I, o que contribui para o agrupamento daquelas e separação desta.

Este resultado aponta na direção de que a atividade contraceptiva oral seja favorecida quando progestogênios possuírem CA17 na faixa de 0,190 a 0,224. Pelo menos, neste caso, embora o número de moléculas seja reduzido, fica ilustrado que as moléculas com CA17, na faixa acima citada, possuem atividades contraceptivas orais superiores àquela com CA17 de -0,154.

Do mesmo modo, o parâmetro que mais parece contribuir pelo isolamento da molécula I das demais moléculas do grupo, na figura V.3, é a CA10 do EET. As CAs na posição 10, para todas as moléculas, são negativas. A molécula I, porém possui CA10 de aproximadamente -0,02, enquanto que as demais moléculas possuem CA10 que variam de aproximadamente -0,06 a -0,08. A presença da metila na posição 10, exclusivamente na molécula I, deve ser a responsável pela diferença de carga nesta posição (carga menos negativa para a molécula I). Este fato nos conduz à idéia de que cargas de -0,06 a -0,08 na posição 10 do EET sejam favoráveis à atividade contraceptiva oral. Se a presença da metila nesta posição acarreta uma carga fora desse intervalo desejável, progestogênios desprovidos de metila devem ser requeridos. Todos

os progestogênios mais modernos são desprovidos de metila na posição 10 do EET! Além do efeito no que diz respeito à carga na posição 10 do EET, efeito eletrônico, a metila pode influenciar a interação com o receptor devido o que chamamos de efeito estérico. A presença da metila pode prejudicar o encaixe do esteróide com o receptor, por se tratar de um substituinte volumoso, mais volumoso que o hidrogênio presente, em posições equivalentes, nas outras moléculas do grupo, com isso diminuindo a atividade contraceptiva oral.

Ao observarmos a tabela A.1.1, apêndice A.1, podemos verificar também que as CA13, para todas as moléculas, são negativas e que a CA13, para a molécula I, é menos negativa. A CA13 é de aproximadamente -0,039 para a progesterona e varia de -0,061 a -0,072 para as outras moléculas do grupo, com exceção da molécula de norgestimato que possui CA13 de -0,041. As moléculas I e II (progesterona e noretisterona, respectivamente) possuem uma metila nesta posição, enquanto as demais moléculas possuem uma etila. O poder doador de elétrons da etila é maior que o da metila, o que provavelmente torna essa posição mais eletronegativa nas moléculas III, IV, V e VI.

A CA13 parece separar também a molécula III ( a leva para a região superior no gráfico V.3) das moléculas II, IV, V e VI. A CA13 da molécula III é menos negativa que as demais. Todas as moléculas (III, IV, V e VI) possuem

uma etila nesta posição; a molécula II possui uma metila, como já mencionado anteriormente. A presença do grupo acetoxi, na posição 17, da molécula III, no lugar do grupo hidroxil, na mesma posição, para as demais moléculas, deve ter algum efeito sobre a posição 13, tornando a carga menos negativa nesta posição para a molécula III.

Observando a Figura V.5, podemos verificar que a molécula I tem similaridade 0,0 com relação às demais moléculas do grupo, o que está de acordo com nosso propósito inicial de separar a molécula I das demais.

Repetimos o mesmo tipo de análise, desta vez, incluindo mais um parâmetro: o potencial de ionização (PI). Entre os 42 parâmetros calculados, excluídos os 3 selecionados acima, o parâmetro "PI" foi o escolhido por continuar proporcionando boa separação entre as moléculas do grupo. Pretendemos deixar ilustrado como a separação molecular é afetada, neste caso, com a adição de alguns parâmetros, previamente testados nos estudos de PCA e Hier.

Os gráficos dos escores das PCs, loadings e agrupamento hierárquico são mostrados nas figuras V.6, V.7 e V.8, respectivamente.

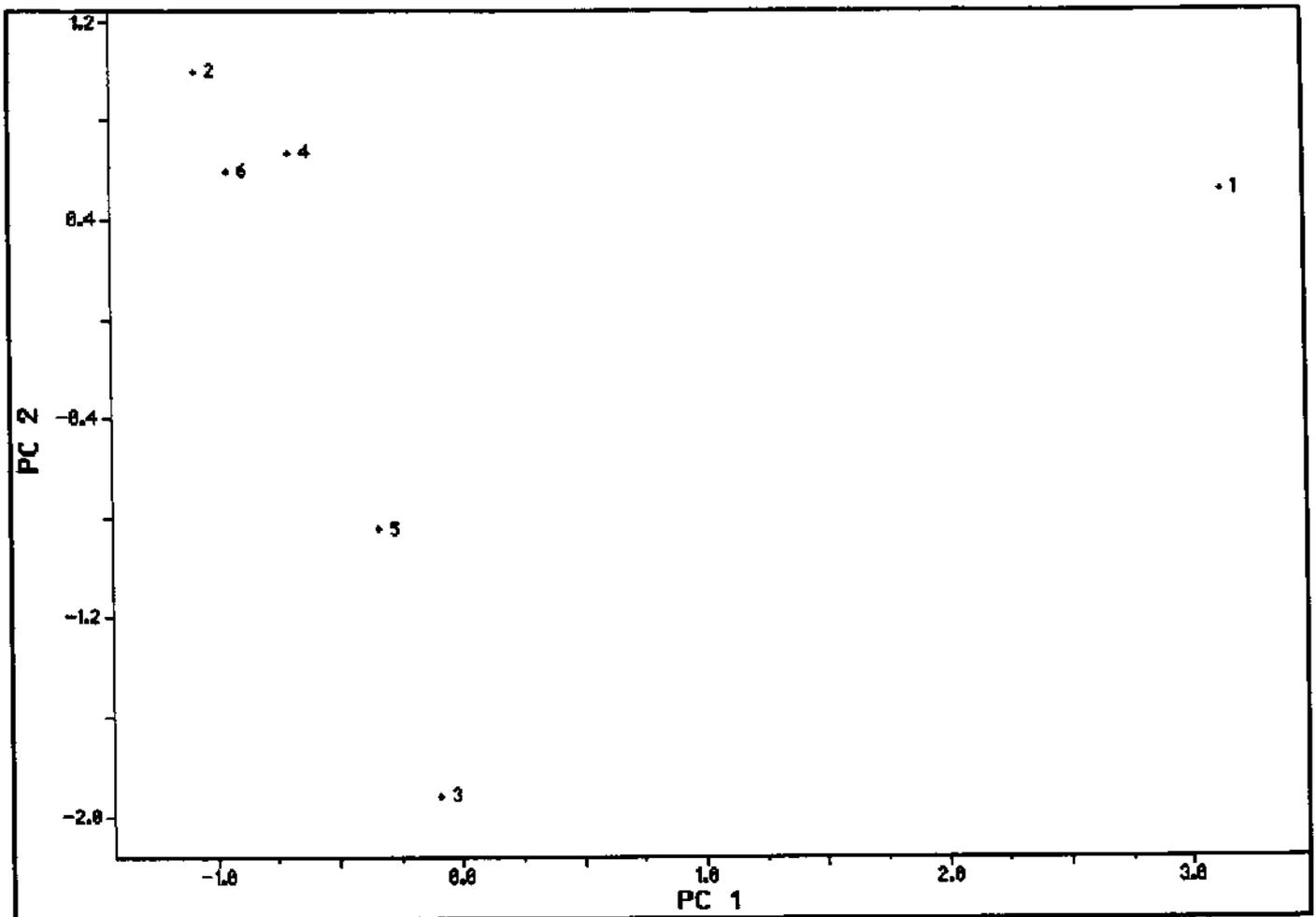


Fig. V.6 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando quatro parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...6 são os progesterógenos (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

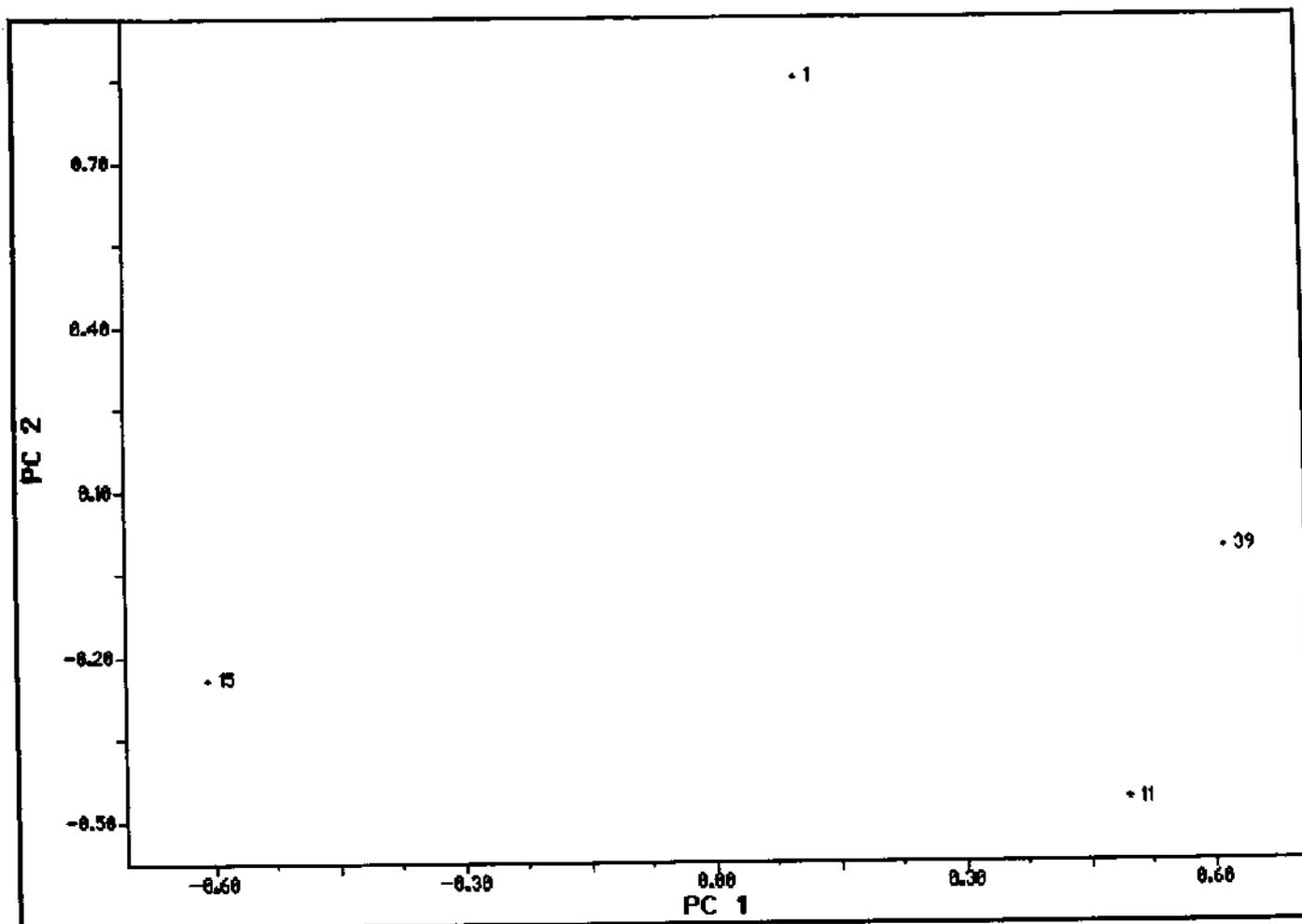


Fig. V.7 - Gráfico dos loadings, utilizando quatro parâmetros físico-químicos, onde 11, 15, 39 representam as CAs nas posições 13, 17 e 10, respectivamente, do esqueleto esteroidal e 1 representa o potencial de ionização (PI).

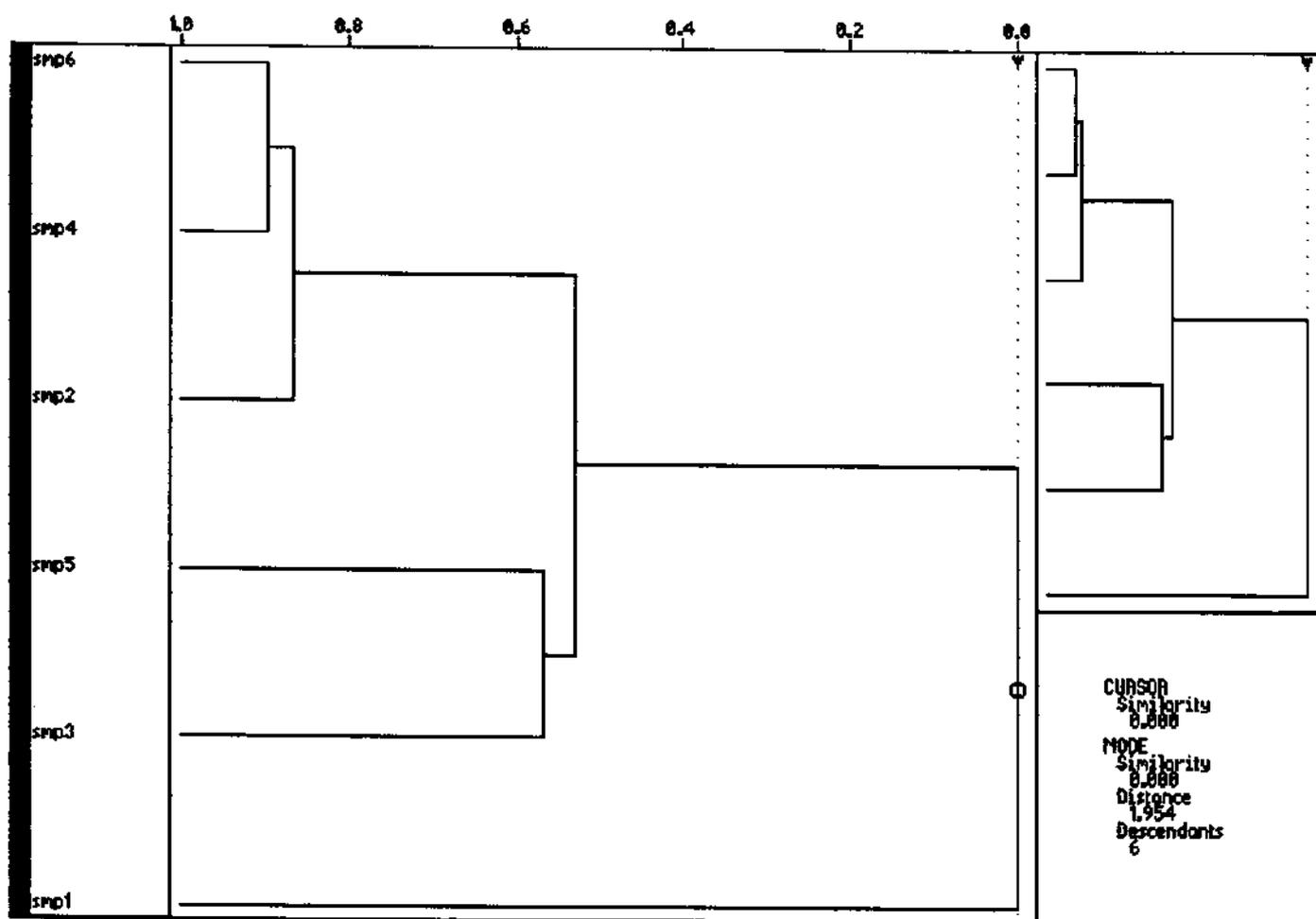


Fig. V.8 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, III, IV, V e VI, obtido com quatro parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ..., smp6, representam os progestogênios I, II, ..., VI, respectivamente.

Como pode ser observado através da figura V.6, acrescentando o parâmetro PI, continua a ocorrer a separação da molécula I das demais. Na tabela V.2, abaixo, podemos verificar que o PI, para a molécula I, é maior que os das demais moléculas deste grupo:

Tabela V.2 - Potenciais de ionização (PIs) para as moléculas I, II, III, IV, V e VI.

Molécula	PI'
(I) progesterona	10,055
(II) noretisterona	10,001
(III) norgestimato	9,050
(IV) levonorgestrel	10,012
(V) desogestrel	9,220
(VI) gestodene	9,917

\* Em unidades de eV.

Constatamos que na figura V.6 há uma maior tendência, com relação à figura V.3, no agrupamento das moléculas II, IV e VI e das moléculas III e V. Isto é justificado através dos valores próximos dos PIs que provocam a separação destes grupos. Esta tendência é confirmada no gráfico V.8, cuja similaridade entre as moléculas II, IV e VI é próxima a 1,0 e entre as moléculas III e V é de aproximadamente 0,6. A similaridade entre estes dois grupos é também de 0,6. A molécula I, porém continua com similaridade igual a zero com relação às demais do grupo, o que é mais importante para este estudo.

Acrescentando , novamente, mais um parâmetro,  $\chi$  (eletronegatividade de Mulliken), os resultados praticamente não se alteram, como podem ser observados nas figuras V.9 e V.11, a seguir:

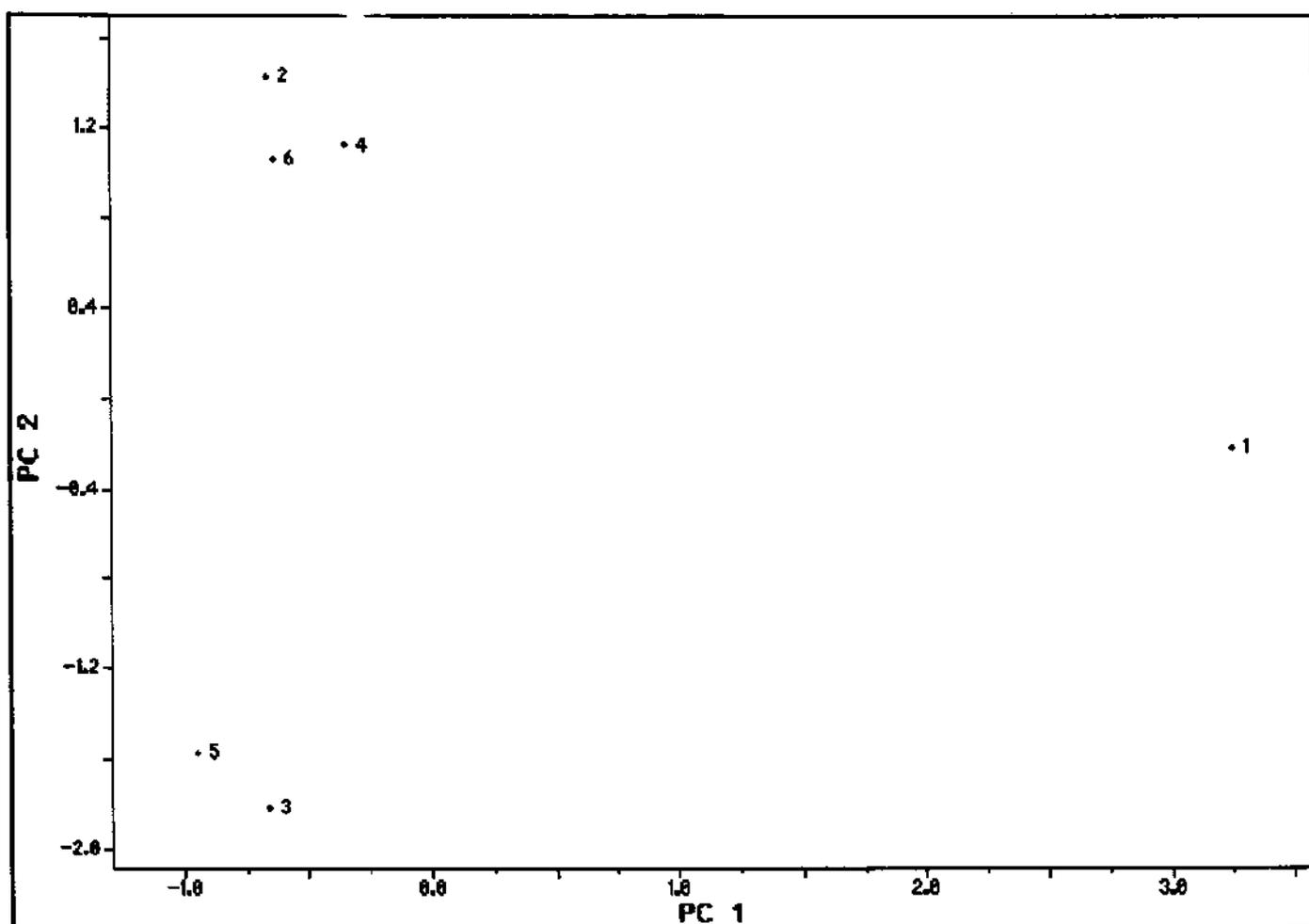


Fig. V.9 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando cinco parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...6 são os progesterógenos (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

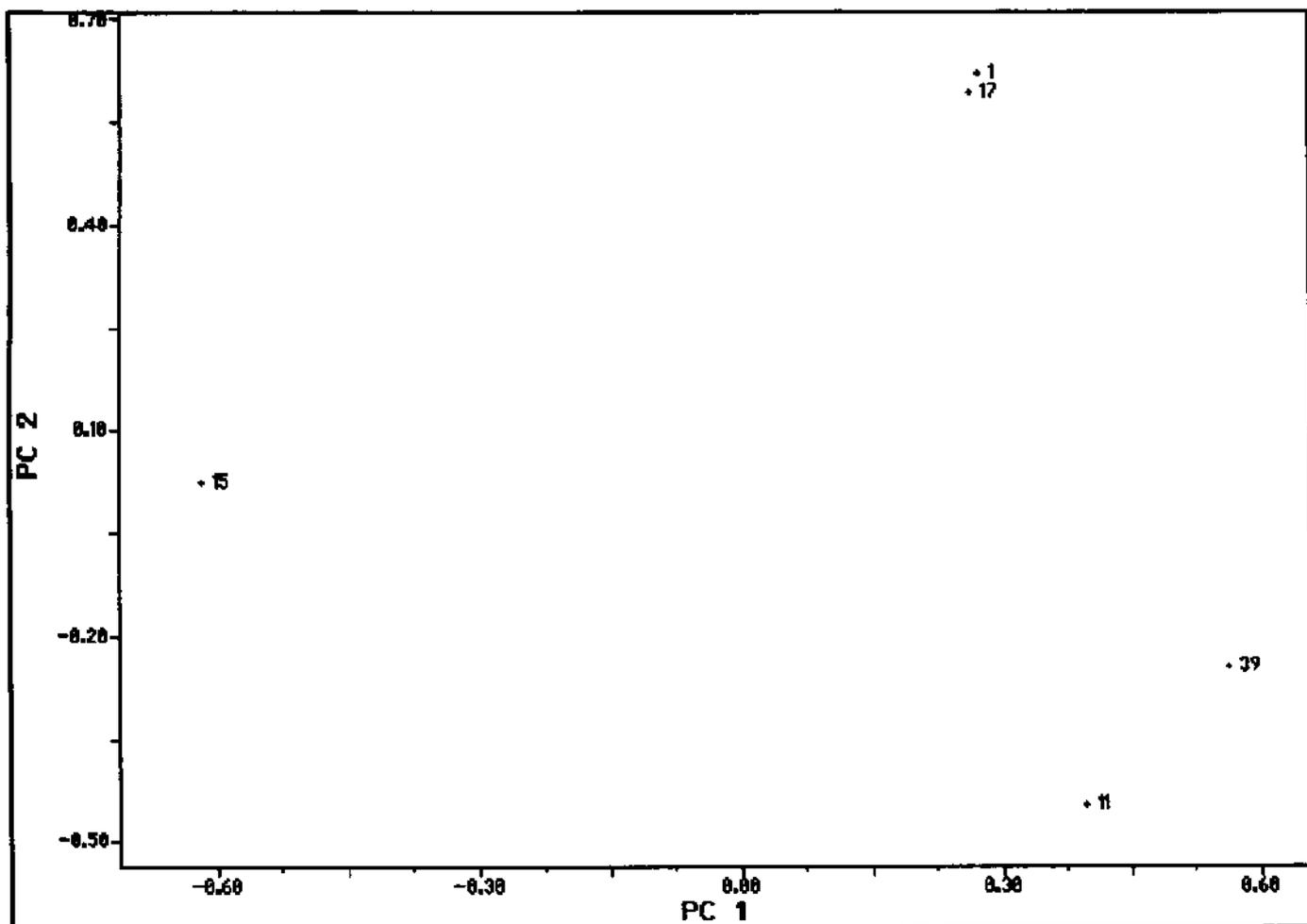


Fig. V.10 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos, onde 11, 15, 39 representam as CAs nas posições 13, 17 e 10, respectivamente, do esqueleto esteroidal, 1 representa o potencial de ionização (PI) e 17 representa  $\chi$  (eletronegatividade de Mulliken).

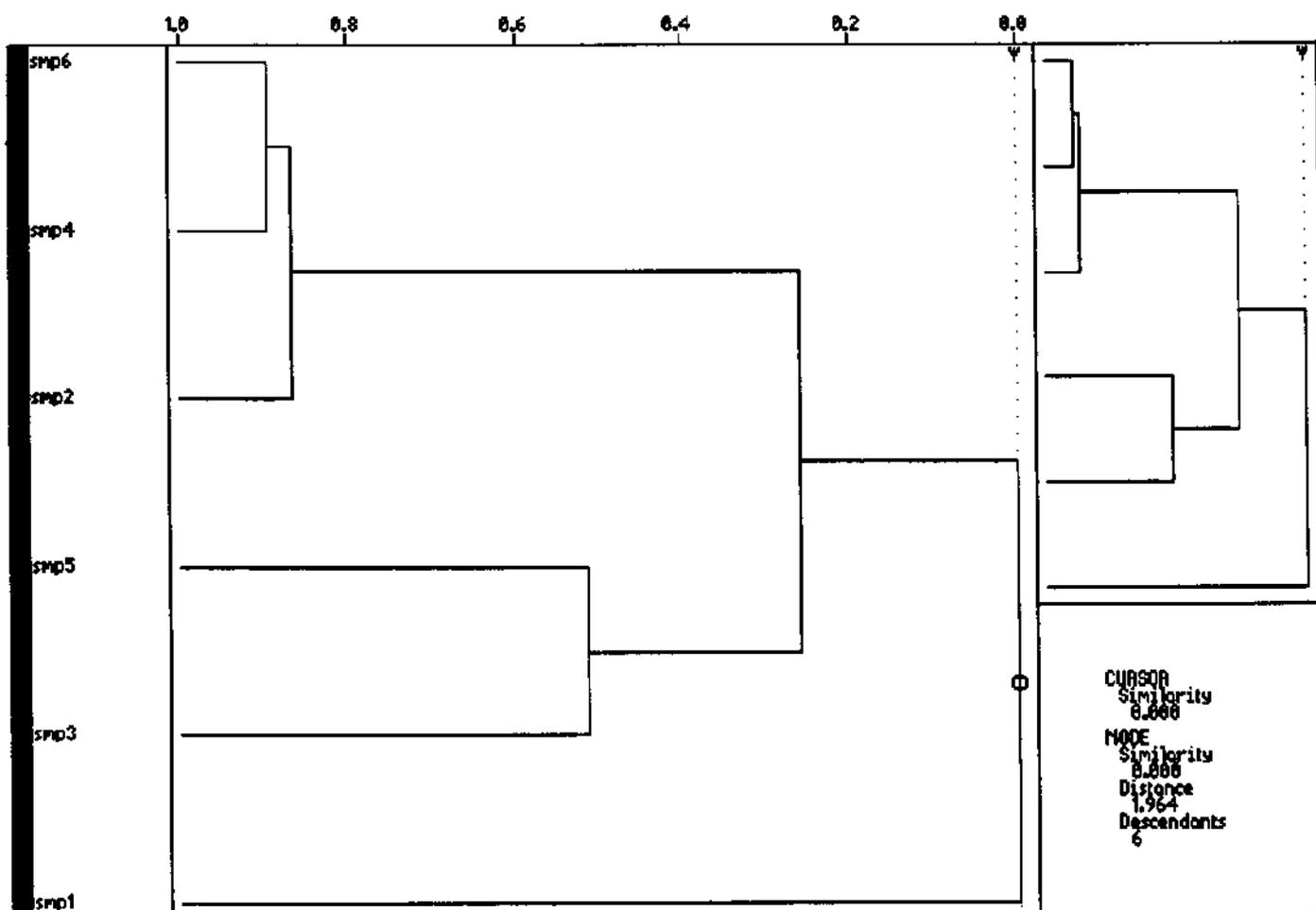


Fig.V.11 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, III, IV, V e VI, obtido com cinco parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, .. , smp6, representam os progestogênios I, II, ..., VI, respectivamente.

A partir da observação da figura V.9, notamos pouca mudança com relação à figura V.6. A modificação que ocorreu foi no sentido de agrupar um pouco mais as moléculas III e V. Ao checarmos os valores de  $\chi$  na tabela A.1.1, apêndice I, verificamos que a molécula I apresenta o maior valor do grupo e as moléculas III e V apresentam valores de  $\chi$  muito próximos, o que acarreta seus agrupamentos. Os valores de  $\chi$ , para este grupo molecular, foram reproduzidos na tabela V.3 abaixo:

Tabela V.3 - Eletronegatividade de Mulliken ( $\chi$ ) para as moléculas I, II, III, IV, V e VI.

Molécula	$\chi^*$
(I) progesterona	5,054
(II) noretisterona	5,016
(III) norgestimato	4,398
(IV) levonorgestrel	5,025
(V) desogestrel	4,011
(VI) gestodene	4,983

\* Em unidades de eV.

A eletronegatividade de Mulliken( $\chi$ ) é definida como:

$\chi = 1/2(\text{PI} + \text{AE})$ , onde PI é o Potencial de Ionização e AE é a Afinidade Eletrônica de uma espécie química. PI está relacionado à energia do orbital ocupado (HOMO) e AE está relacionada à energia do orbital desocupado (LUMO). Já que, a molécula I possui níveis energéticos de HOMO e LUMO

superiores com relação aos níveis das demais moléculas deste grupo, é razoável que  $\chi$  seja de maior magnitude para a molécula I. Este resultado aponta para o fato de que a atividade contraceptiva oral, dos progestogênios aqui estudados, deva ser favorecida quando  $\chi$  apresenta valores entre 4,011 a 5,016 eV.

Na figura V.11 ainda pode ser constatada similaridade 0,0 da molécula I com as demais do grupo.

Adicionamos, mais uma vez, um novo parâmetro: a afinidade eletrônica (AE). Como poderemos verificar nas figuras V.12, V.13 e V.14 a seguir, ainda ocorre a separação da molécula I das demais. As moléculas II, IV e VI permanecem agrupadas por terem AEs muito próximas, as moléculas III e V também permanecem próximas, pois, como podemos ver na tabela V.4, suas AEs também são próximas. A molécula I apresenta o valor de AE superior aos das outras moléculas do grupo, como já mencionado anteriormente, por isso ainda continua separada das demais, ainda com similaridade 0,0 com relação ao grupo. As AEs deste grupo varia, conforme mostrado na tabela V.4, a seguir :

Tabela V.4 - Afinidades Eletrônicas (AE) para as moléculas I, II, III, IV, V e VI.

Molécula	AE*
(I) progesterona	0,052
(II) noretisterona	0,031
(III) norgestimato	-0,254
(IV) levonorgestrel	0,037
(V) desogestrel	-1,199
(VI) gestodene	0,048

\* Em unidades de eV.

De acordo com os valores de AEs obtidos, para este grupo de progestogênicos, vemos que AEs de -1,199 até 0,048eV são favoráveis à atividade contraceptiva oral. Valores superiores a esta faixa, por exemplo, de 0,052eV parece estar relacionado com menor atividade contraceptiva oral.

Comparando as figuras V.3, V.6, V.9 e V.12 ( gráficos dos escores das duas componentes principais, com 3, 4, 5 e 6 parâmetros, respectivamente), podemos observar que no primeiro caso, figura V.3 (utilizando 3 parâmetros), as moléculas II, IV, V e VI aparecem agrupadas em uma mesma região do gráfico, a molécula III fica pouco deslocada deste grupo e a molécula I fica separada de todas estas moléculas. No segundo caso, figura V.6 (utilizando 4 parâmetros), as moléculas II, IV e VI continuam agrupadas (são similares entre si), a molécula V vai se distanciando deste grupo e aparece mais próxima da molécula III. Porém a molécula I continua separada de todas as outras do

grupo. No terceiro caso, figura V.9 (utilizando 5 parâmetros), fica bem nítido o agrupamento das moléculas II, IV e VI em uma região do gráfico, o agrupamento das moléculas III e V em outra região do gráfico e a separação da molécula I das demais deste grupo. No quarto caso, figura V.12 (utilizando 6 parâmetros), a separação fica muito parecida com a situação anterior (5 parâmetros): as moléculas II, IV e VI ficam agrupadas em uma região do gráfico, as moléculas III e V ficam agrupadas em outra região do gráfico e a molécula I continua separada das demais. A similaridade das moléculas III e V, com relação ao grupo II, IV e VI, vai decrescendo, de maneira geral, com a adição de parâmetros.

Queremos enfatizar o fato de que, embora as moléculas II, III, IV, V e VI apareçam agrupadas de maneiras diferentes, com a adição de parâmetros, a molécula I permanece sempre separada das demais, que é o objetivo principal de nosso estudo; a molécula I pode ser separada utilizando números diferentes de parâmetros; se utilizarmos outros parâmetros, diferentes dos selecionados neste estudo, a molécula I não se separa nitidamente; os parâmetros importantes para a separação são: cargas atômicas nas posições 13, 17 e 10 do EET, potencial de ionização, afinidade eletrônica e eletronegatividade de Mulliken.

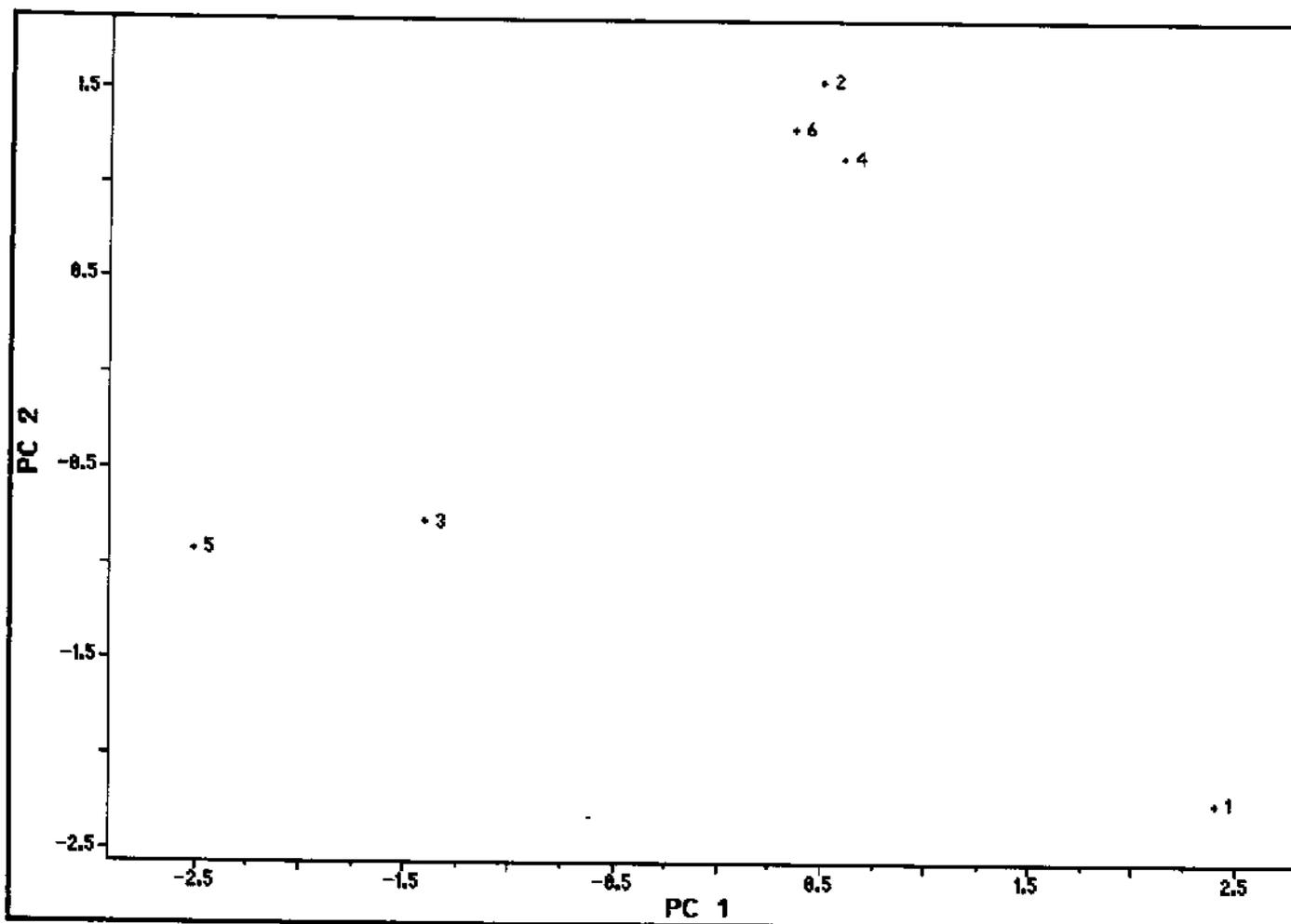


Fig. V.12 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), usando seis parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...6 são os progesterógenos (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

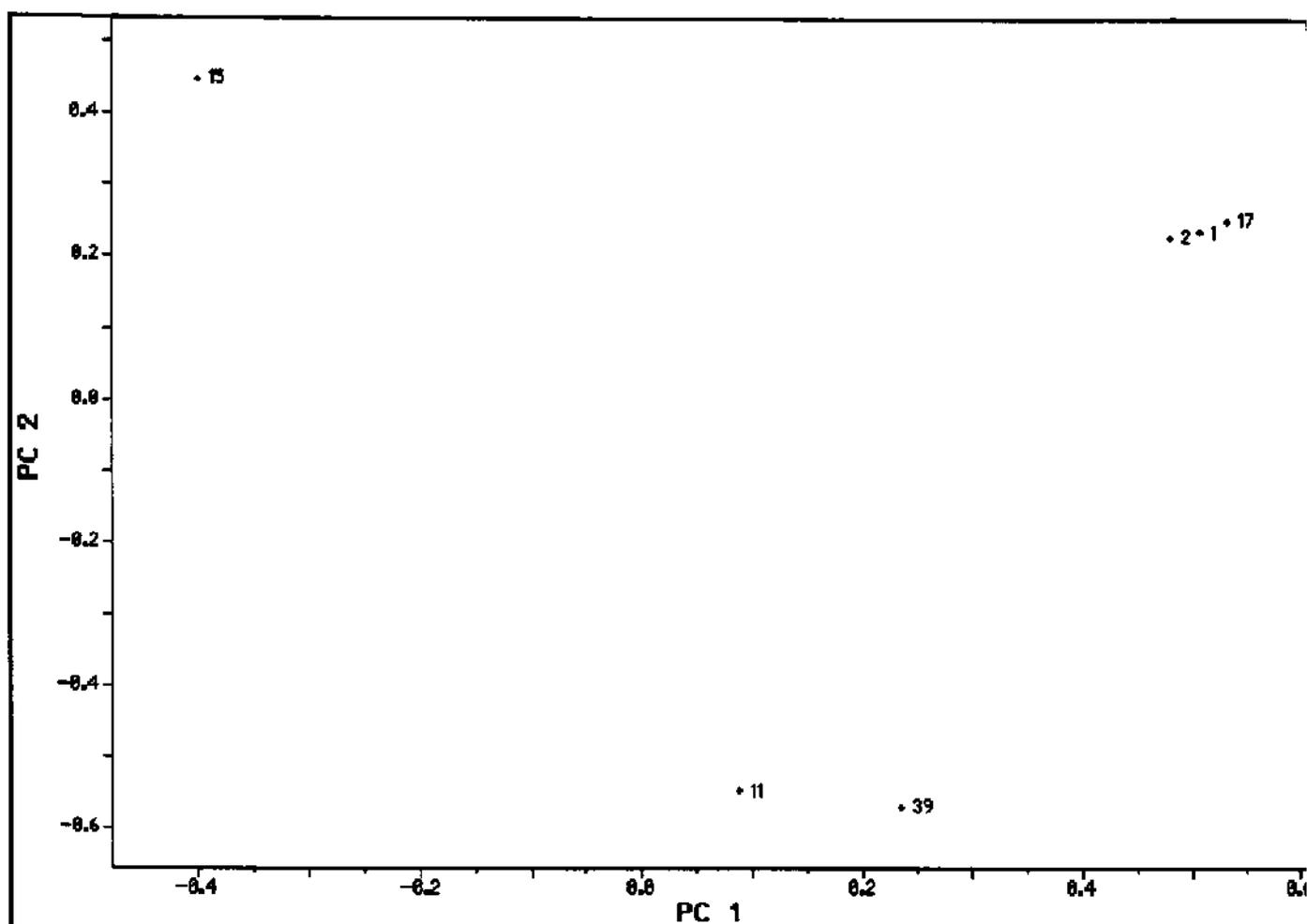


Fig. V.13 - Gráfico dos loadings, utilizando seis parâmetros físico-químicos, onde 11, 15, 39 representam as CAs nas posições 13, 17 e 10, respectivamente, do esqueleto esteroidal, 1 representa o potencial de ionização (PI), 17 representa  $\chi$  (eletronegatividade de Mulliken) e 2 a Afinidade Eletrônica (AE).

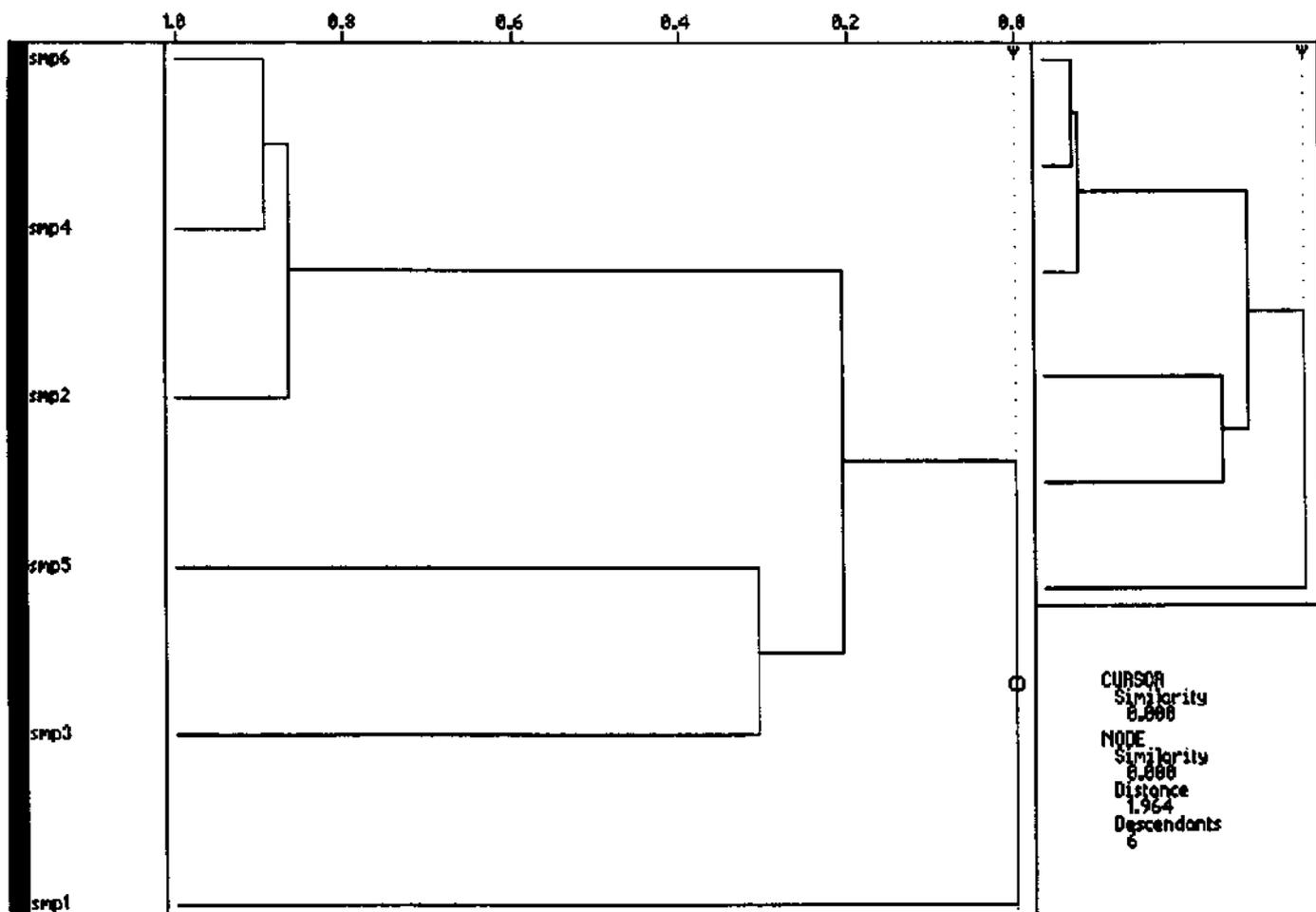


Fig. V.14 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, III, IV, V e VI, obtido com seis parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ..., smp6, representam os progestogênios I, II, ..., VI, respectivamente.

### **V.1.a-) Interações fármaco - receptor**

A primeira etapa na ação de uma proteína (por exemplo, receptor de progesterona) é sua ligação a outra molécula (progestogênio, neste estudo).

Para se compreender o modo e o mecanismo de ação dos fármacos é de capital importância conhecer as forças de interação que os ligam aos receptores. A determinação destas forças por métodos experimentais é muito difícil. Todavia, com base no que já se sabe a respeito do assunto, admite-se que os fármacos estruturalmente específicos se ligam aos receptores mediante as mesmas forças que operam nas interações de moléculas simples. No caso das interações entre fármaco e receptor serem fracas, estas são geralmente possíveis apenas quando as superfícies moleculares apresentam estruturas complementares, de modo que a um grupo saliente (ou carga positiva) numa superfície corresponda uma cavidade (ou carga negativa) na outra. Em outras palavras, entre as moléculas que interagem deve existir, em muitos casos, uma relação análoga àquela que há entre chave e fechadura, embora o fenômeno seja muito mais complexo.

Em geral, as ligações que se estabelecem entre o fármaco e o receptor são relativamente fracas. Em consequência, os efeitos produzidos são

reversíveis, isto é, rompem-se as ligações fármaco-receptor e o medicamento deixa de agir assim que diminui sua concentração nos fluidos extracelulares. Na maioria dos casos, deseja-se que a ação produzida pelo fármaco dure um tempo limitado. Há ocasiões, porém, em que se almeja que os efeitos produzidos pelos fármacos sejam prolongados e até irreversíveis. Então, tenta -se fazer com que a união entre o fármaco e o receptor se estabeleça por meio de ligação covalente, que é a mais forte.

No caso de agentes progesteracionais, como os esteróides estudados, sabe-se que a ação dos mesmos não é prolongada e que eliminada sua concentração no meio biológico, cessa-se seu efeito. Em decorrência destes fatos, presume-se que a união entre eles e os respectivos receptores se estabeleça mediante forças iônicas ou mais fracas, se bem que fortes e estáveis o suficiente para que os mesmos não sejam facilmente deslocados do seu sítio de ação.

No pH fisiológico, diversos grupos presentes em fármacos se ionizam. Por outro lado, os receptores proteicos, como no caso dos receptores de progesterona, constituídos por aminoácidos apresentam também grupos que podem ser ionizados. Os íons do fármaco e do receptor podem ser mutuamente atraídos, desde que possuam cargas de sinais contrários, estabelecendo-se a ligação iônica. Esta ligação é relativamente forte.

Admite-se também que pode ocorrer a presença simultânea de outras interações (pontes de hidrogênio, van der Waals, principalmente) entre fármaco e receptor.

No estudo da atividade contraceptiva oral, abordada no item anterior, cargas atômicas nas posições 10, 13 e 17 do esqueleto esteroidal foram importantes para explicar tal atividade. As cargas determinadas nas posições 10 e 13 do EET foram todas negativas. Em contrapartida cargas positivas devem estar presentes, no receptor de progesterona, interagindo nestas posições. Cargas atômicas determinadas na posição 17 do EET foram positivas, devendo ocorrer cargas negativas no receptor interagindo nesta posição, como mostrado simplifiadamente na fig.V.15, abaixo:

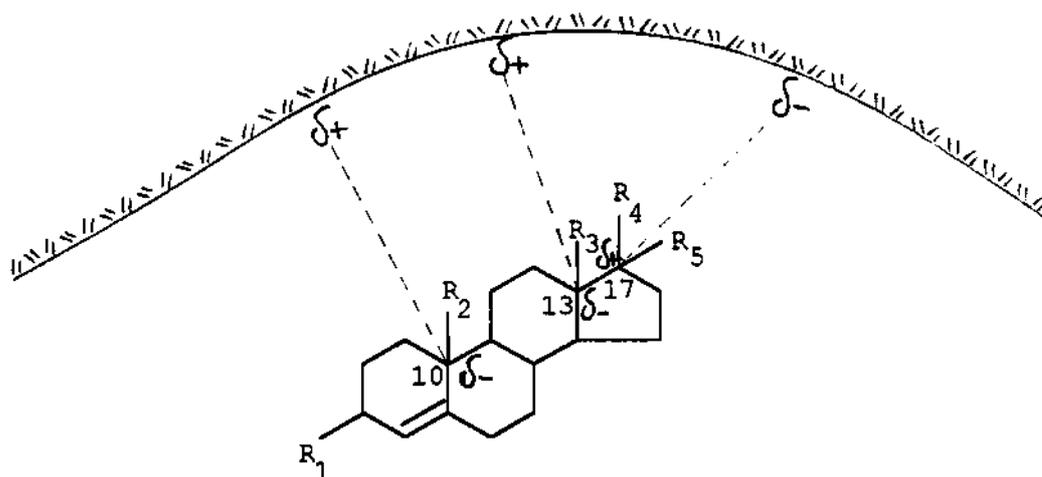


Fig.V.15 - Modelo de interação do progestogênio com o receptor de progesterona

## V.2 - Atividade Androgênica

Aplicaremos, neste estudo, os métodos de reconhecimento de padrões, como PCA e Hier, para tentar correlacionar atividade biológica *androgênica*, utilizando as mesmas moléculas do item V.1, com os seus parâmetros físico-químicos calculados. A tabela II.9, no item II.3, contém os valores do efeito androgênico para esta série molecular. Como pode ser visto, nesta tabela, o efeito androgênico da molécula IV, levonorgestrel (LNG), é muito maior que os efeitos androgênicos do restante do grupo. Classificaremos a molécula IV, LNG, como mais ativa e as outras restantes como menos ativas. Neste caso, obviamente, valores mais elevados de ABs são indesejáveis. Tentaremos explicar o caráter androgênico desse progestogênio à nível molecular.

A análise SAR foi feita, como mostrado nos gráficos, a seguir, gerados pelo programa Pirouette (42). A figura V.16 representa o gráfico dos escores das PCs, a figura V.17, o gráfico dos loadings e a figura V.18, o dendograma do agrupamento hierárquico (Hier).

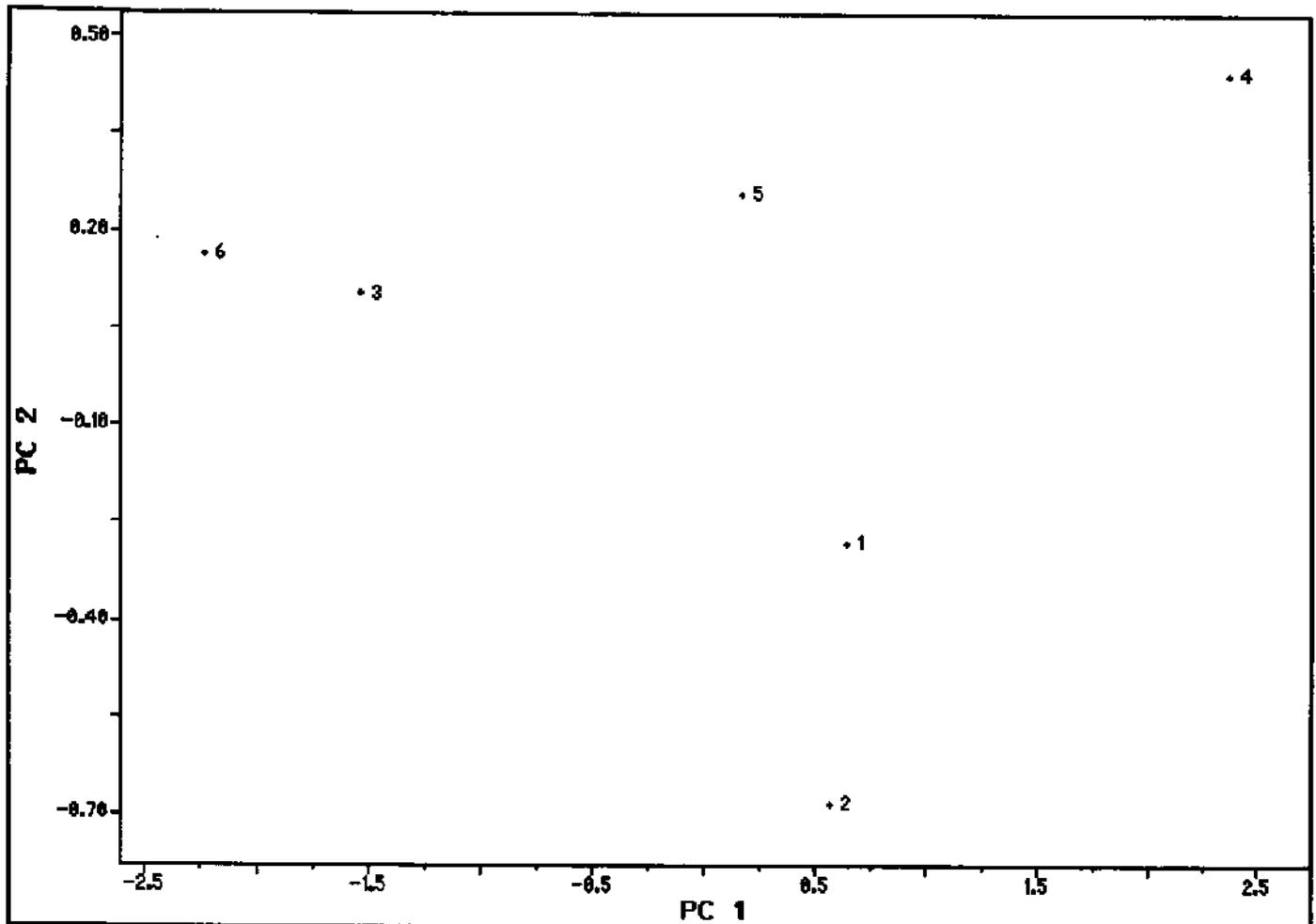


Fig. V.16 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), usando três parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...6 são os progestogênios (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

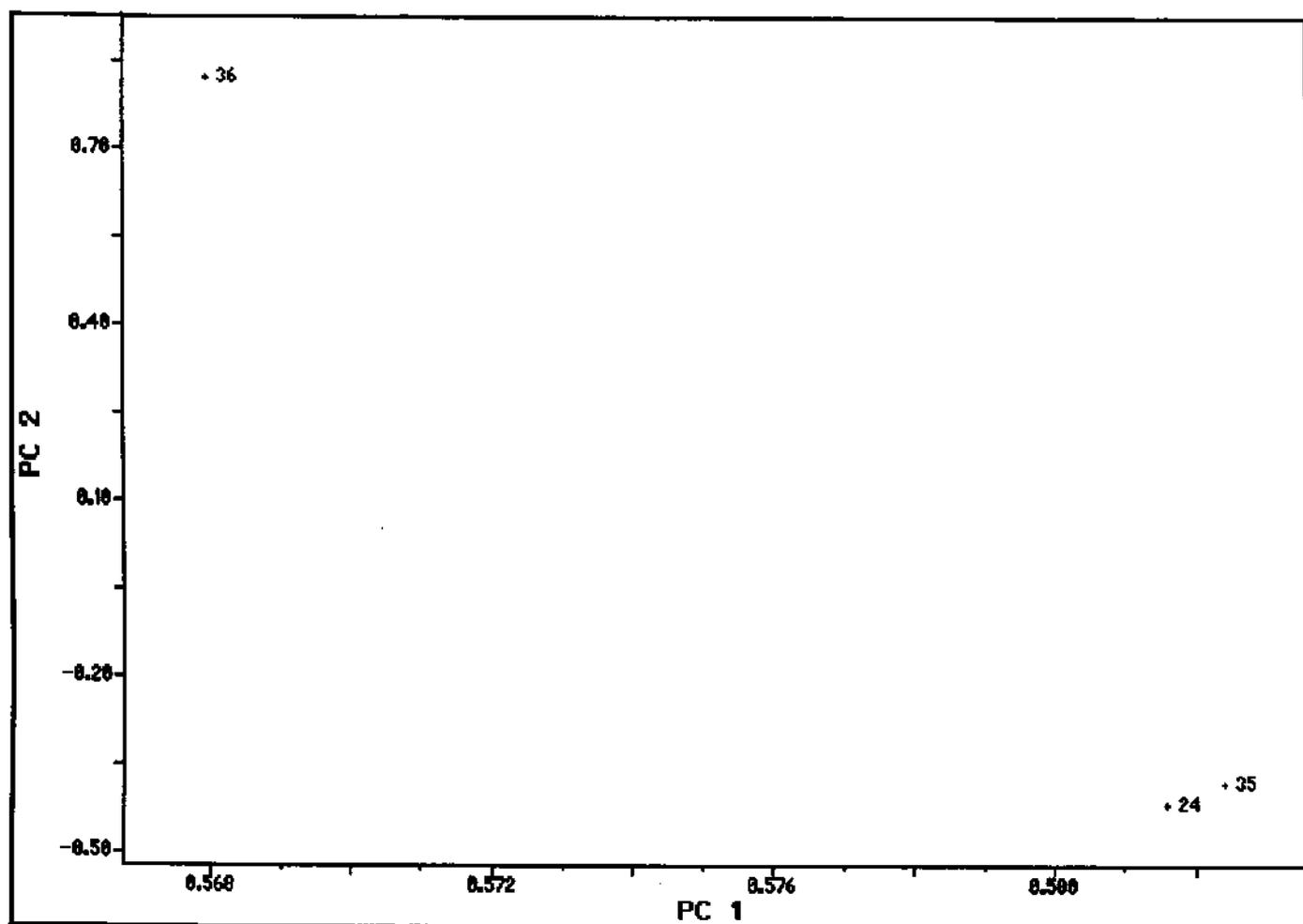


Fig. V.17 - Gráfico dos loadings, utilizando três parâmetros físico-químicos, onde 24, 35 e 36 representam a densidade do elétron de fronteira na posição 9, a densidade do radical de fronteira na posição 7 e a densidade do radical de fronteira na posição 9, respectivamente, do esqueleto esteroidal.

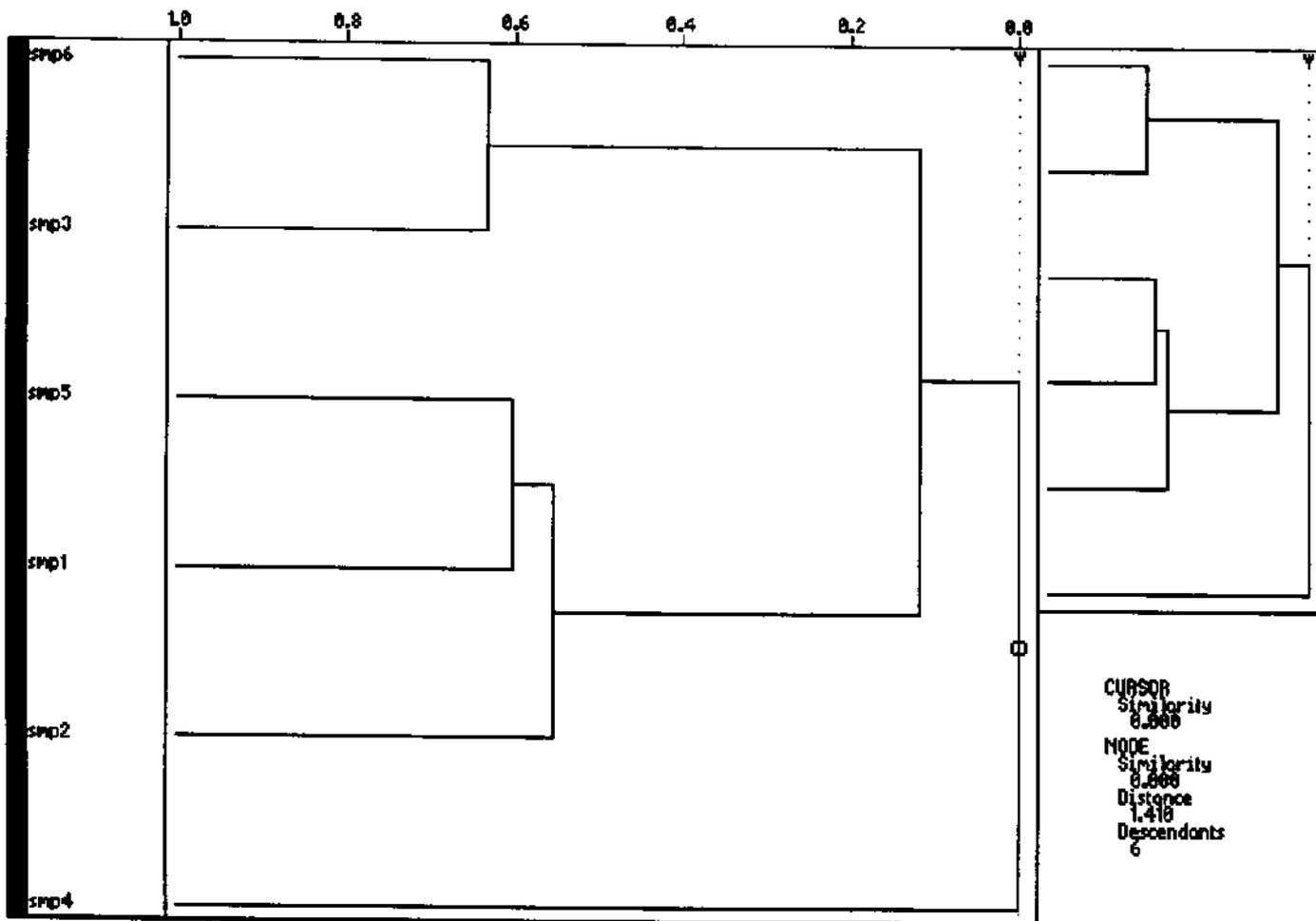


Fig. V.18 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, III, IV, V e VI, obtido com três parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ..., smp6, representam os progestogênios I, II, ..., VI, respectivamente.

Utilizando três parâmetros físico-químicos para a análise, obtivemos o seguinte resultado:

Como pode ser visto, na figura V.16, há uma certa separação da molécula IV com relação às demais do grupo. Na figura V.18, podemos observar que a molécula IV possui similaridade 0,0 com as restantes, enquanto que as moléculas I, II e V e as moléculas III e VI apresentam uma similaridade de aproximadamente 0,6 entre si, porém a similaridade entre estes dois grupos é de aproximadamente 0,1. Embora as moléculas I, II, III, V e VI não tenha grande similaridade entre si, a similaridade 0,0 da molécula IV com relação a estas últimas é, para este estudo, o que mais importa.

Uma inspeção na figura V.17 (gráfico dos loadings), aponta o parâmetro 36 como o principal responsável pelo “agrupamento” das moléculas I, II, III, V e VI, em determinada região do gráfico dos escores, figura V.16. Este parâmetro representa a densidade do radical de fronteira na posição 9 ( $F_9^r$ ) do esqueleto esteroidal. A molécula IV possui a maior densidade do radical de fronteira, na posição 9, do grupo, tabela V.5. As moléculas III e VI possuem valores próximos entre si desta variável, assim como as moléculas I, II e V. Isto torna as moléculas III e VI e as moléculas I, II e V próximas entre si, como na figura V.16.

Tanto o parâmetro 24 como o 35, densidade do elétron de fronteira na posição 9 ( $F^e_9$ ) e densidade do radical de fronteira na posição 7 ( $F^r_7$ ), respectivamente, juntamente com o parâmetro 36, citado acima, parecem “empurrar” a molécula IV para o lado oposto das demais moléculas do grupo. A molécula IV possui todas essas variáveis com valores superiores aos das outras moléculas do grupo, como pode ser visto na tabela V.5.

Esta região, mais precisamente posições 7 e 9 do EET, deve exercer influência no caráter androgênico do progestogênio.

Continuamos nossa análise, adicionando, desta vez, dois novos parâmetros: densidade do elétron de fronteira na posição 10 ( $F^e_{10}$ ) e densidade do radical de fronteira na posição 10 ( $F^r_{10}$ ) do EET. O gráfico dos escores pode ser observado na figura V.19, o gráfico dos loadings, na figura V.20 e o agrupamento hierárquico na figura V.21.

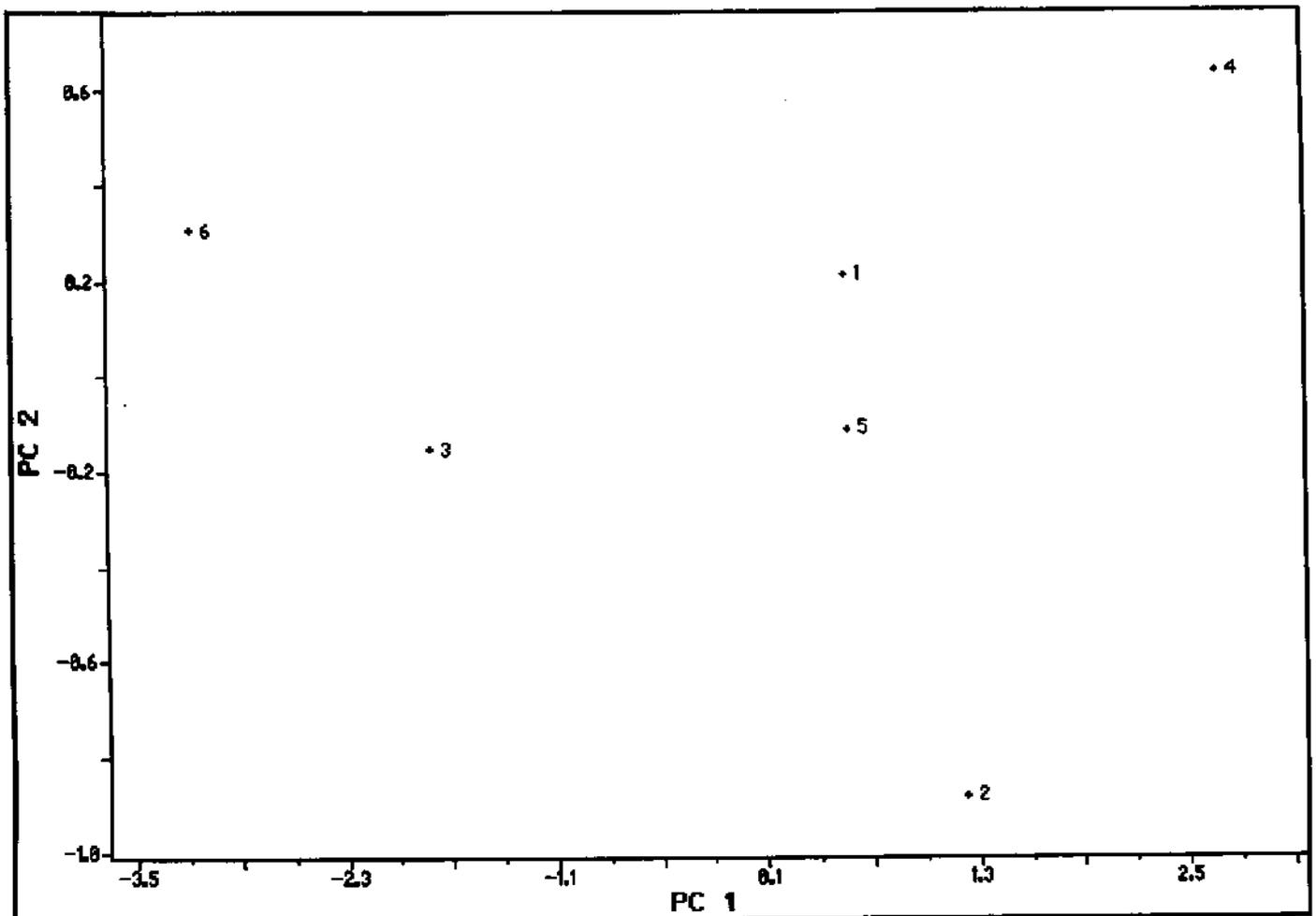


Fig. V.19 - Gráfico dos escores das duas componentes principais(PCs), usando cinco parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...6 são os progesterógenos (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

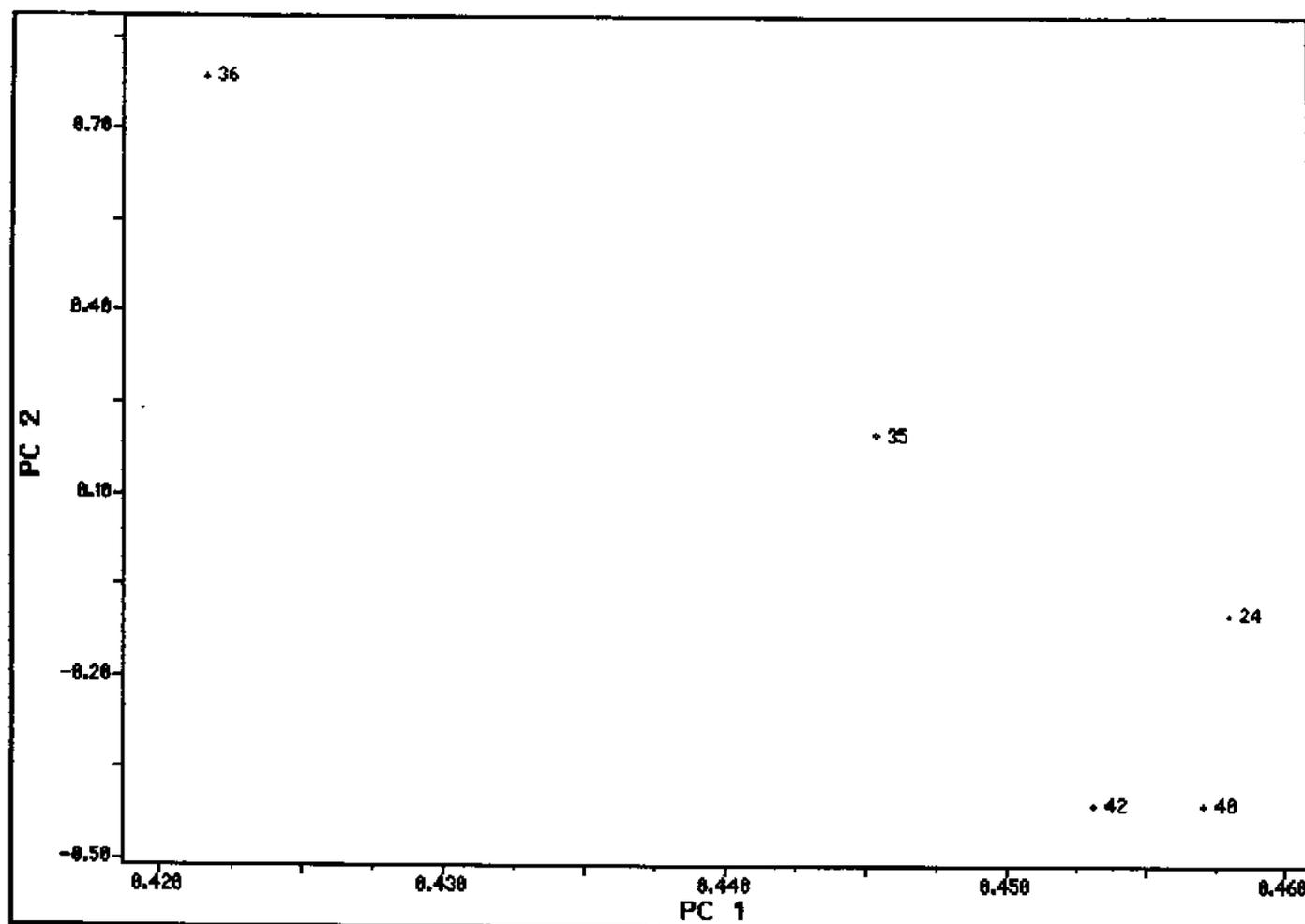


Fig. V.20 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos, onde 24, 35 e 36 representam a densidade do elétron de fronteira na posição 9, a densidade do radical de fronteira na posição 7 e a densidade do radical de fronteira na posição 9, respectivamente, do esqueleto esteroideal (EET). Os números 40 e 42 representam a densidade do elétron de fronteira na posição 10 e a densidade do radical de fronteira na posição 10, respectivamente, do EET.

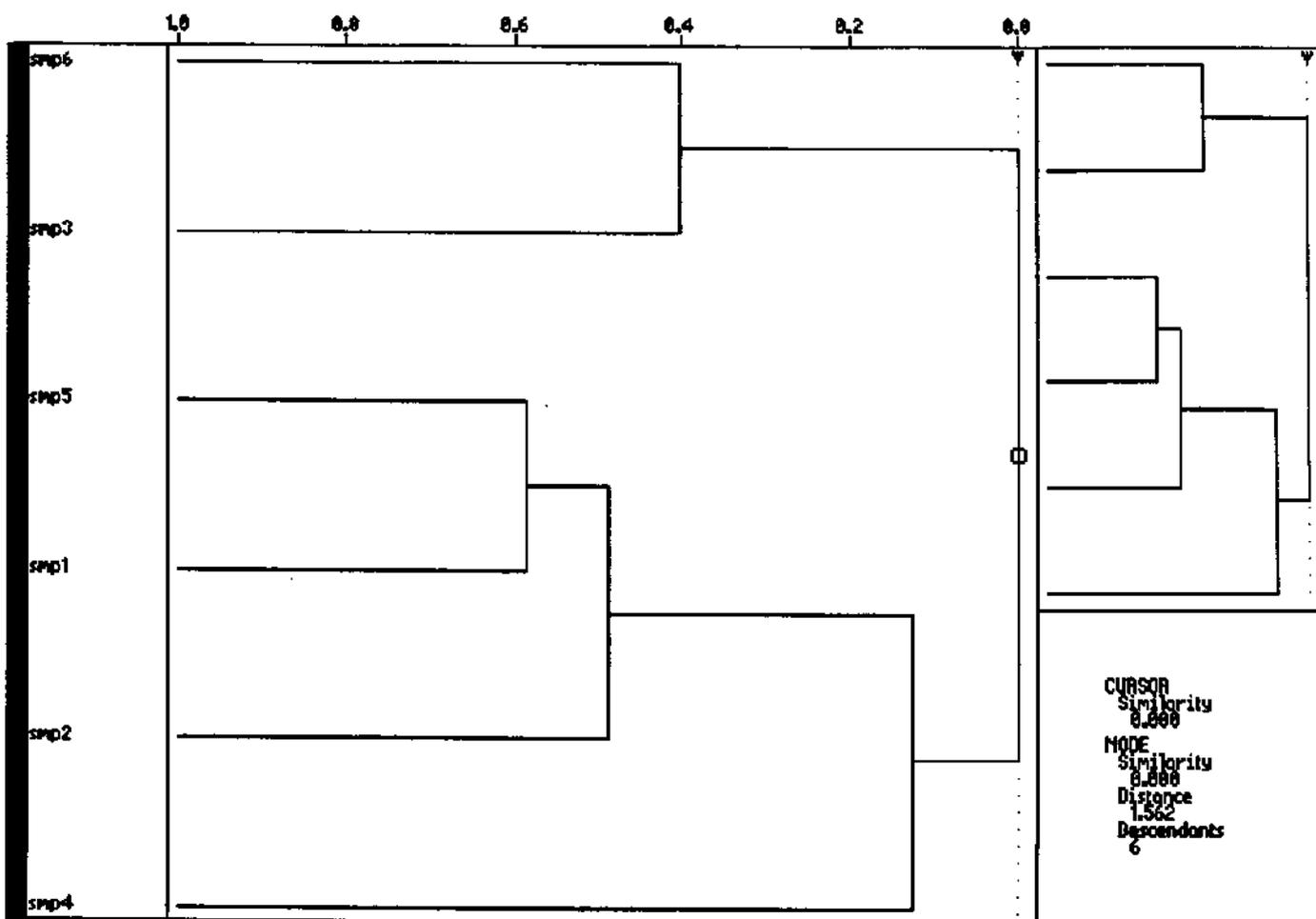


Fig. V.21 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, III, IV, V e VI, obtido com cinco parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ..., smp6, representam os progestogênios I, II, ..., VI, respectivamente.

A adição destes dois novos parâmetros não provoca muita alteração no gráfico dos escores (Fig.V.19). A molécula IV continua praticamente na mesma posição com relação ao gráfico V.16; as moléculas I, II e V aproximam-se um pouco mais da molécula IV e as moléculas III e VI, anteriormente mais agrupadas no gráfico V.16, espalham -se um pouco mais. A separação obtida no gráfico V.16 , embora não muito diferente da obtida no gráfico V.19, é de melhor qualidade com relação a esta última. Ambas as variáveis adicionadas, ( $F^e_{10}$ ) e ( $F^r_{10}$ ), apresentam valores superiores para a molécula IV com relação às outras moléculas deste grupo, como pode ser visto na tabela V.5. Por este motivo, a molécula IV continua ainda “separada” das demais. O dendograma do agrupamento hierárquico, figura V.21, mostra que a similaridade entre as moléculas III e VI diminuiu de aproximadamente 0,6, na fig.V.18, para 0,4, fig.V.21. A similaridade entre as moléculas I, II e V também diminuiu. A similaridade da molécula IV com relação a estas últimas é de aproximadamente 0,1 e de 0,0 com relação às demais moléculas deste grupo.

Adicionamos, novamente, dois novos parâmetros: densidade do elétron de fronteira na posição 7( $F^e_7$ ) e densidade do orbital de fronteira na posição 9

(F<sup>o</sup>) do EET. O gráfico dos escores, loadings e agrupamento hierárquico estão representados nas figuras V.22, V.23 e V.24, respectivamente.

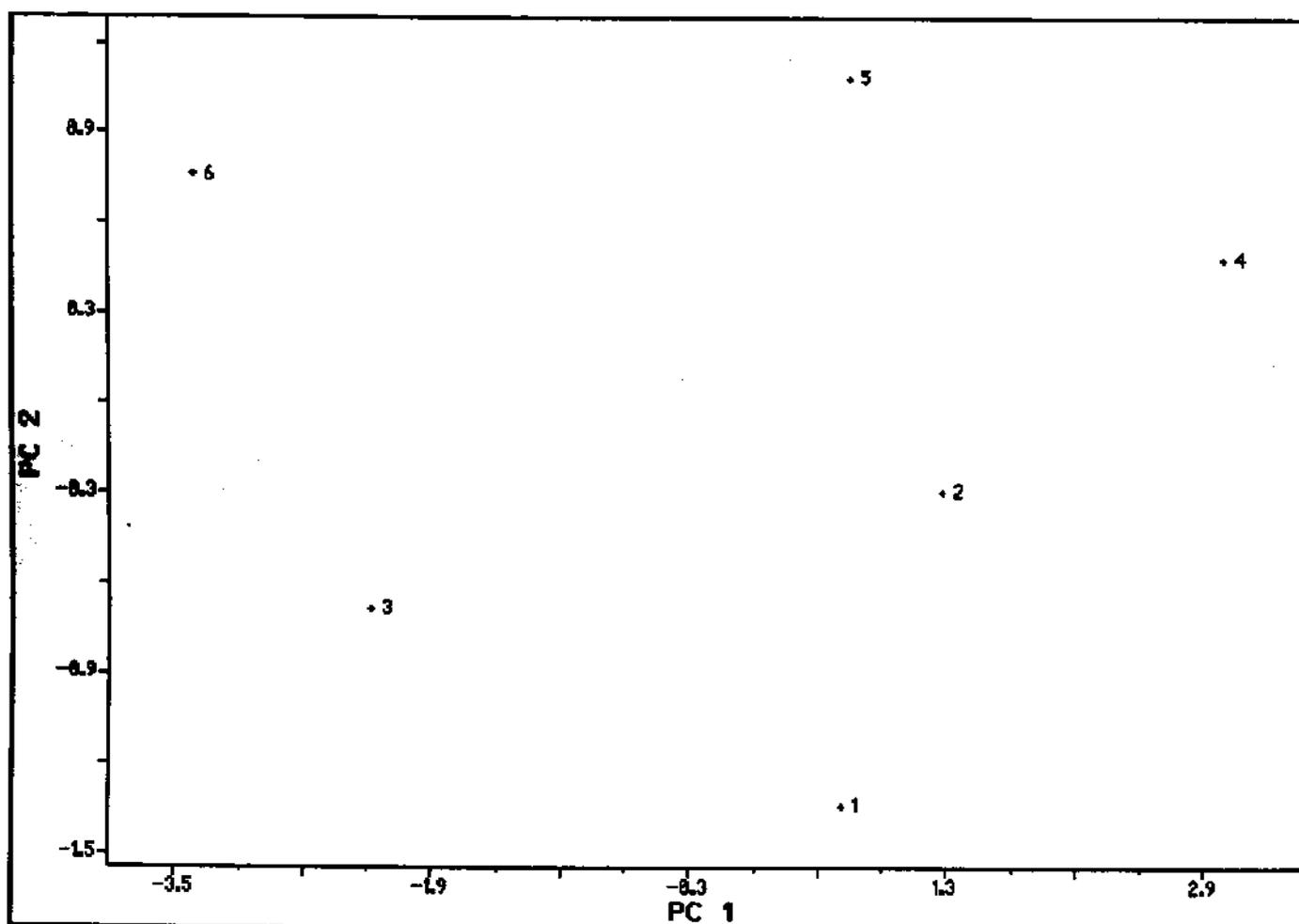


Fig. V.22 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), usando sete parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...6 são os progesterógenos (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

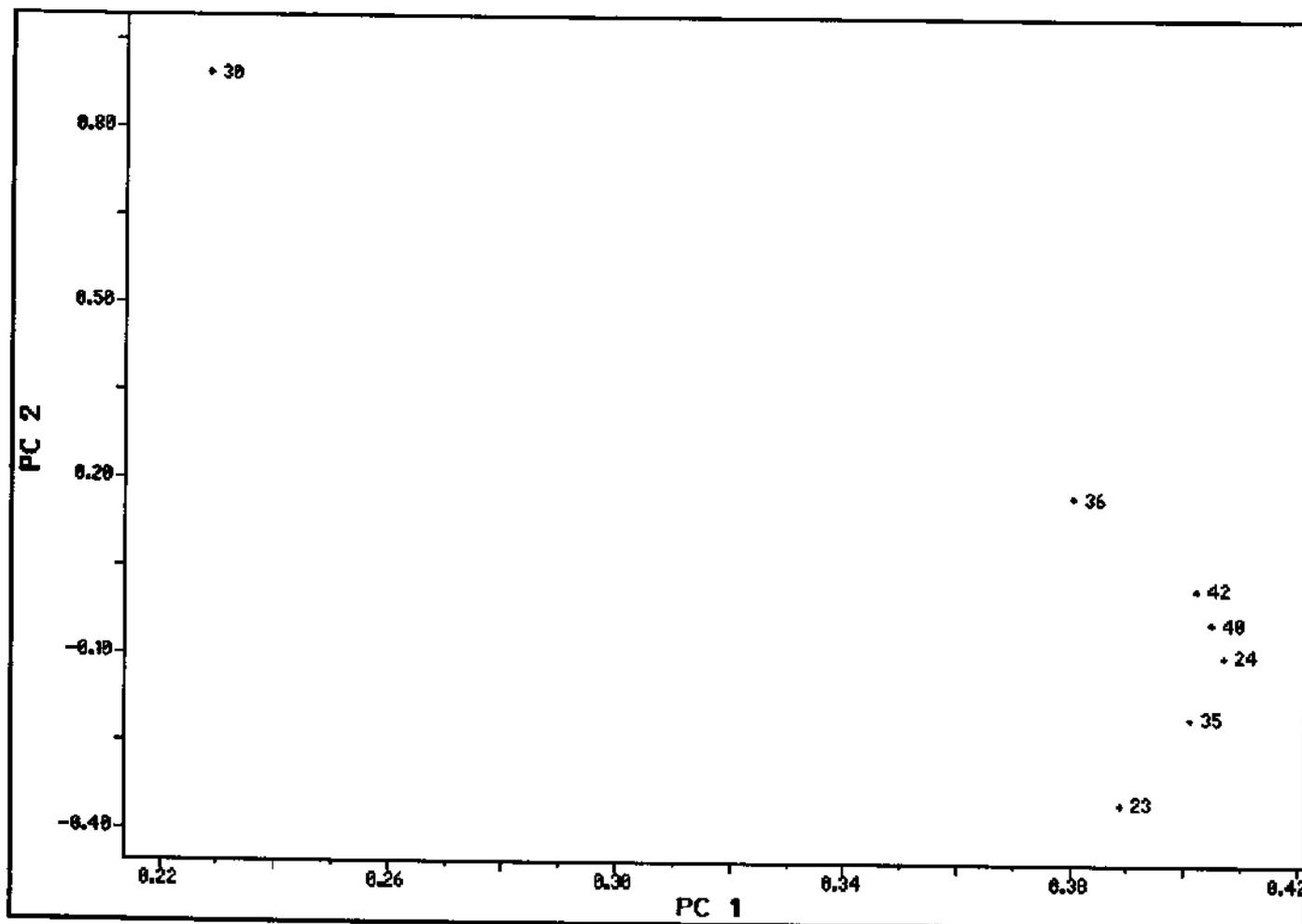


Fig. V.23 - Gráfico dos loadings, utilizando sete parâmetros físico-químicos, onde 23, 24, 30, 35 e 36 representam a densidade do elétron de fronteira na posição 7 ( $F_7^e$ ), a densidade do elétron de fronteira na posição 9 ( $F_9^e$ ), a densidade do orbital de fronteira na posição 9 ( $F_9^o$ ), a densidade do radical de fronteira na posição 7 ( $F_7^r$ ) e a densidade do radical de fronteira na posição 9 ( $F_9^r$ ), respectivamente, do esqueleto esteroidal. Os números 40 e 42 representam a densidade do elétron de fronteira na posição 10 ( $F_{10}^e$ ) e a densidade do radical de fronteira na posição 10 ( $F_{10}^r$ ), respectivamente do EET.

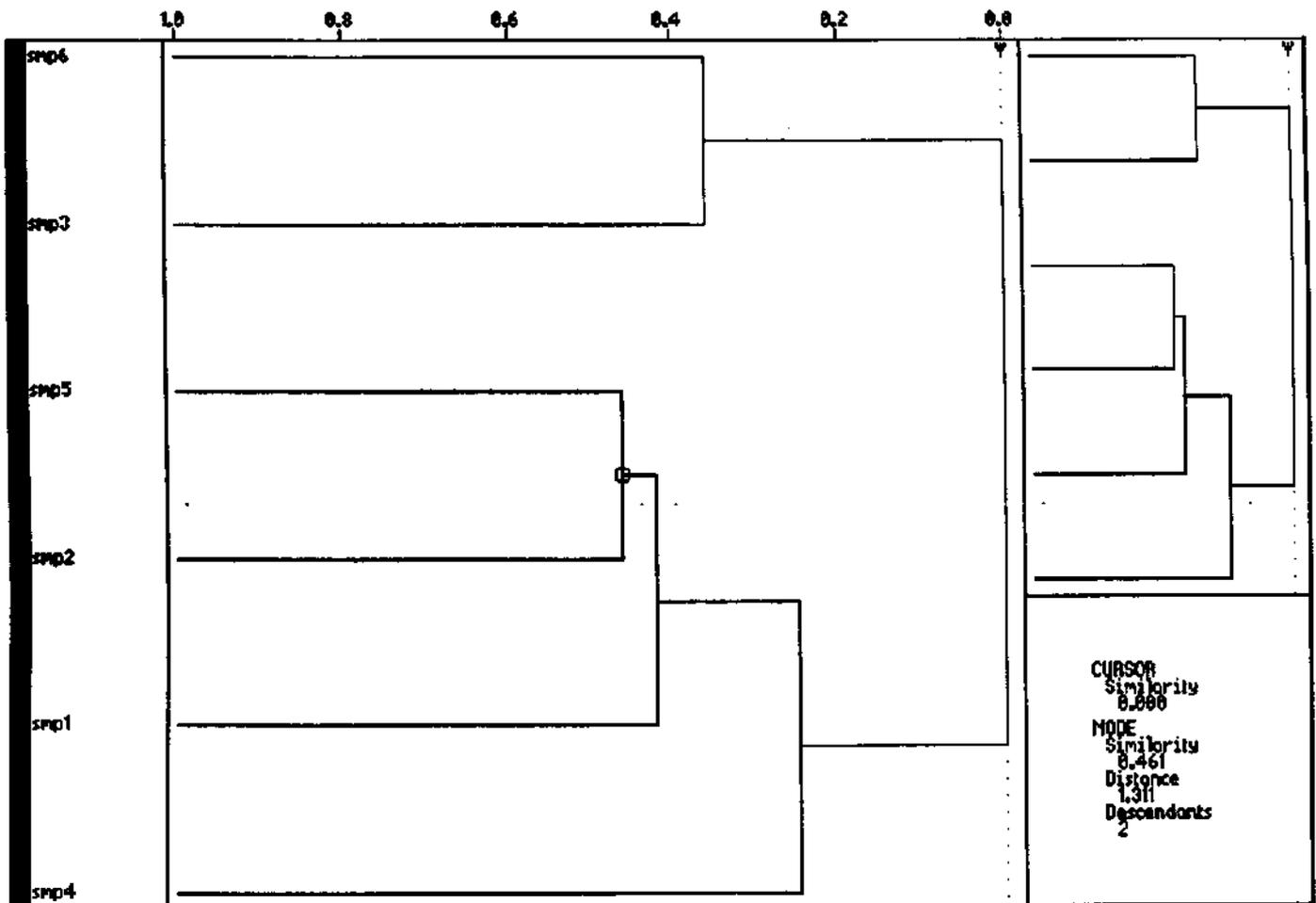


Fig. V.24 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, III, IV, V e VI, obtido com sete parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ..., smp6, representam os progestogênios I, II, ..., VI, respectivamente.

De maneira geral, a inclusão destes novos parâmetros não mudou significativamente a “separação” das moléculas deste grupo. De acordo com o dendograma do agrupamento hierárquico, Fig. V.24, a similaridade entre as moléculas III e VI diminuiu com relação à similaridade obtida com 5 parâmetros. O mesmo ocorreu com as moléculas I, II e V. Porém, a similaridade da molécula IV com relação à estas últimas continua bem pequena, de aproximadamente 0,2 e de 0,0 com relação às primeiras. A molécula IV possui os valores de densidade do elétron de fronteira na posição 7 e densidade do orbital de fronteira na posição 9 do esqueleto esteroidal, de maneira geral, superiores com relação aos demais valores para o restante do grupo. Por esta razão, continua havendo “alguma separação” desta molécula IV com relação ao grupo.

Reproduzimos, na tabela V.5, a seguir, os valores dos índices de fronteira selecionados pelos métodos PCA e Hier, que se correlacionam com a atividade androgênica decrescente dos progestogênios estudados :

Tabela V.5 - Densidade do elétron de fronteira nas posições 7, 9 e 10 ( $F^e_7$ ,  $F^e_9$  e  $F^e_{10}$ , respectivamente) do EET; densidade do orbital de fronteira na posição 9 ( $F^o_9$ ) do EET e densidade do radical de fronteira nas posições 7, 9 e 10 ( $F^r_7$ ,  $F^r_9$  e  $F^r_{10}$ , respectivamente) do EET.

Molécula	$F^e_7$	$F^r_7$	$F^o_9$	$F^e_9$	$F^r_9$	$F^e_{10}$	$F^r_{10}$
(IV) levonorgestrel	$4,26 \cdot 10^{-2}$	$2,85 \cdot 10^{-2}$	$5,10 \cdot 10^{-2}$	$1,62 \cdot 10^{-2}$	$3,36 \cdot 10^{-2}$	$6,68 \cdot 10^{-2}$	$3,41 \cdot 10^{-2}$
(II) noretisterona	$3,37 \cdot 10^{-2}$	$2,26 \cdot 10^{-2}$	$4,24 \cdot 10^{-2}$	$1,35 \cdot 10^{-2}$	$1,67 \cdot 10^{-2}$	$6,43 \cdot 10^{-2}$	$3,27 \cdot 10^{-2}$
(I) progesterona	$4,18 \cdot 10^{-2}$	$2,65 \cdot 10^{-2}$	$3,08 \cdot 10^{-2}$	$1,05 \cdot 10^{-2}$	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$4,51 \cdot 10^{-2}$	$2,32 \cdot 10^{-2}$
(III) norgestimato	$1,26 \cdot 10^{-2}$	$1,02 \cdot 10^{-2}$	$1,45 \cdot 10^{-2}$	$9,39 \cdot 10^{-3}$	$1,19 \cdot 10^{-2}$	$2,69 \cdot 10^{-2}$	$1,40 \cdot 10^{-2}$
(V) desogestrel	$2,48 \cdot 10^{-2}$	$2,03 \cdot 10^{-2}$	$2,63 \cdot 10^{-2}$	$1,65 \cdot 10^{-2}$	$2,14 \cdot 10^{-2}$	$5,25 \cdot 10^{-2}$	$2,97 \cdot 10^{-2}$
(VI) gestodene	$4,19 \cdot 10^{-3}$	$7,80 \cdot 10^{-3}$	$4,53 \cdot 10^{-3}$	$1,32 \cdot 10^{-2}$	$8,87 \cdot 10^{-3}$	$5,62 \cdot 10^{-3}$	$3,42 \cdot 10^{-3}$

\* Parâmetros que melhor separam a molécula IV do restante do grupo.

A partir da observação da tabela V.5, podemos verificar que o progestogênio que possui maior caráter androgênico está relacionado com os índices de fronteira mais elevados; progestogênio de menor caráter androgênico, com os menores índices de fronteira.

Interessante notar que, ao verificarmos os parâmetros que tentam explicar a atividade contraceptiva oral (item V.1), estes dizem respeito às cargas atômicas nas posições 10, 13, 17 do esqueleto esteroidal; ao potencial de ionização das moléculas; à eletronegatividade de Mulliken; à afinidade eletrônica .

Ao verificarmos os parâmetros que tentam explicar a atividade androgênica deste mesmo grupo molecular ( item V.2), notamos que os mesmos referem-se aos índices de fronteira, tais como : densidade do elétron de fronteira nas posições 7, 9 e 10; densidade do orbital de fronteira na posição 9; densidade do radical de fronteira nas posições 7, 9 e 10 do esqueleto esteroidal. Esta região ou, mais precisamente, as posições 7, 9 e 10 do esqueleto esteroidal devem estar relacionadas ao caráter androgênico dos progestogênios.

#### **V.2.a-)Interações fármaco - receptor**

Como visto, no item V.2, os índices de fronteira que melhor classificam as moléculas estudadas no capítulo V, de acordo com suas atividades androgênicas são: densidade do elétron de fronteira nas posição 9 e densidade do radical de fronteira nas posições 7 e 9 do esqueleto esteroidal (EET).

A utilização de índices de fronteira tem se mostrado útil na previsão das posições-chave, em moléculas de fármacos, onde se dão as principais interações com o receptor.

A molécula mais androgênica da série molecular estudada, neste capítulo, apresenta valores mais elevados dos índices de fronteira, acima

citados, conforme já discutido no item V.2, com relação aos demais índices das outras moléculas da série.

De acordo com os postulados fundamentais da teoria dos orbitais de fronteira propostos por Fukui et al., podemos interpretar a relação entre os índices de fronteira selecionados e a atividade androgênica da seguinte maneira:

Progestogênios mais androgênicos tenderão a interagir com reagente (neste caso, algum sítio ativo presente no receptor de androgênio) eletrofílico na posição 9 do EET e/ou com radicais nas posições 7 e 9 do EET. As maiores densidades do elétron e do radical de fronteira exibidas, nestas posições, favorecem interações com reagentes eletrofilicos e radicalares, respectivamente, nestas posições.

A interação do progestogênio com reagente eletrofílico, pode ocorrer como na figura V.25:

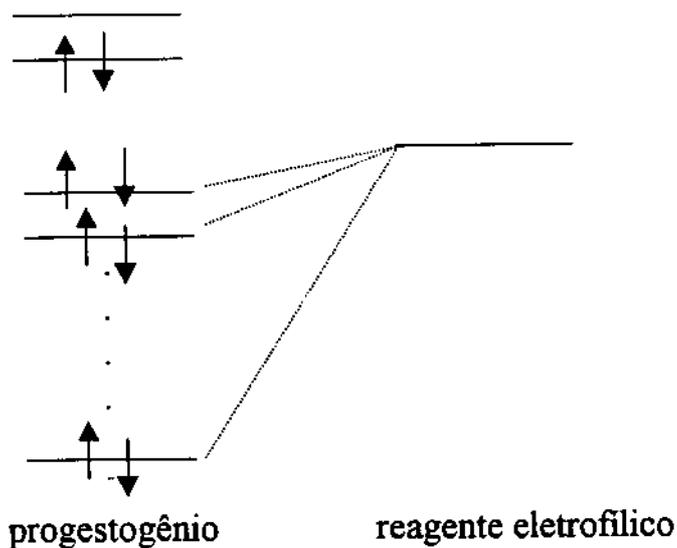


Fig.V.25 - Interação proposta entre progestogênio e reagente eletrofilico na posição 9 do EET.

A interação do progestogênio com reagentes radicalares pode ser esquematizada como na figura V.26, abaixo:

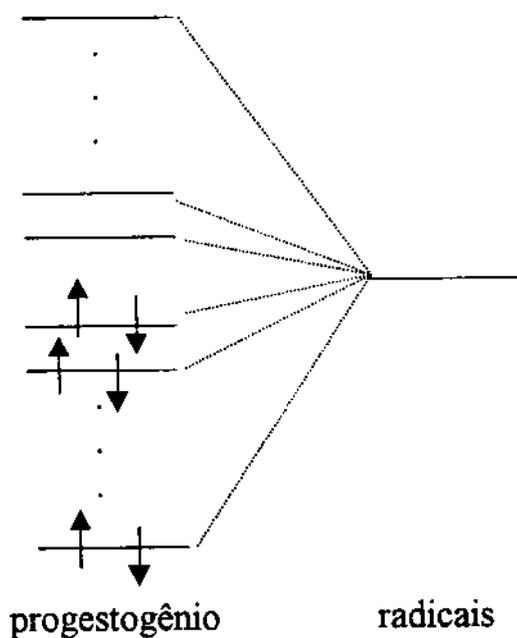


Fig.V.26 - Interação proposta do progestogênio com reagentes radicalares nas posições 7 e 9 do EET.

É importante ressaltar que os sítios ativos presentes nas moléculas de progestogênios, determinados neste estudo, variam, de maneira geral, conforme a atividade biológica estudada. Ou seja, as posições 10, 13 e 17 do EET estão relacionadas à atividade contraceptiva oral, enquanto que as posições 7, 9 e provavelmente a 10 do EET estão relacionadas à atividade androgênica.

## **CAPÍTULO VI - Atividade Progestacional oral de uma série de 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas**

### **VI.1 - Atividade progestacional oral de 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas**

A formação de 17-acetoxiprogesterona, a partir da progesterona, foi um importante ponto de partida no desenvolvimento de numerosos progestogênios. A manipulação da molécula 17- acetoxiprogesterona, primariamente no carbono 6, produziu potentes progestogênios orais (17).

A introdução de substituintes na molécula 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona leva, em geral, a um aumento na atividade oral progestacional (10).

Neste capítulo, utilizamos os métodos de reconhecimento de padrão, como PCA e Hier, para tentar explicar, à nível molecular, quais as propriedades fisico-químicas responsáveis pela atividade progestacional oral relativa dos progestogênios, listados no capítulo II, item II.3, tabela II.10.

Dos 34 parâmetros fisico-químicos, utilizados para os cálculos, onze foram selecionados através dos mesmos, como o melhor conjunto para explicar a atividade progestacional oral relativa das 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

A seguir, estão representados os gráficos dos escores das duas componentes principais (figura VI.1), gráfico dos loadings (figura VI.2) e dendograma representando o agrupamento hierárquico (figura VI.3), utilizando 11 parâmetros físico-químicos, para os progestogênios I, II, ... IX e XVII, XVIII, ... XXI (tabela II.10, capítulo II).

Os 11 parâmetros físico-químicos utilizados são: potencial de ionização; dureza molecular; densidade do elétron de fronteira nas posições 3 e 10 do esqueleto esteroideal (EET); densidade do orbital de fronteira nas posições 3 e 10 do EET; densidade do radical de fronteira nas posições 3, 10 e 17 do EET, carga atômica na posição 6 e carga atômica na posição 17 do EET. Estes parâmetros foram escolhidos por promoverem a melhor separação entre as moléculas “mais” e “menos” ativas.

Este subconjunto molecular foi o primeiro a ser escolhido, pois as moléculas I, II, ... IX apresentam ABs menor ou igual a um (relativas à molécula de noretisterona, cuja AB foi igualada à unidade) e as moléculas XVII, XVIII, ... XXI possuem ABs 10 vezes superior (ou mais) a atividade da noretisterona. Dizemos, portanto que este subconjunto molecular é formado pelas moléculas “menos” e “mais” ativas, respectivamente do nosso conjunto original.

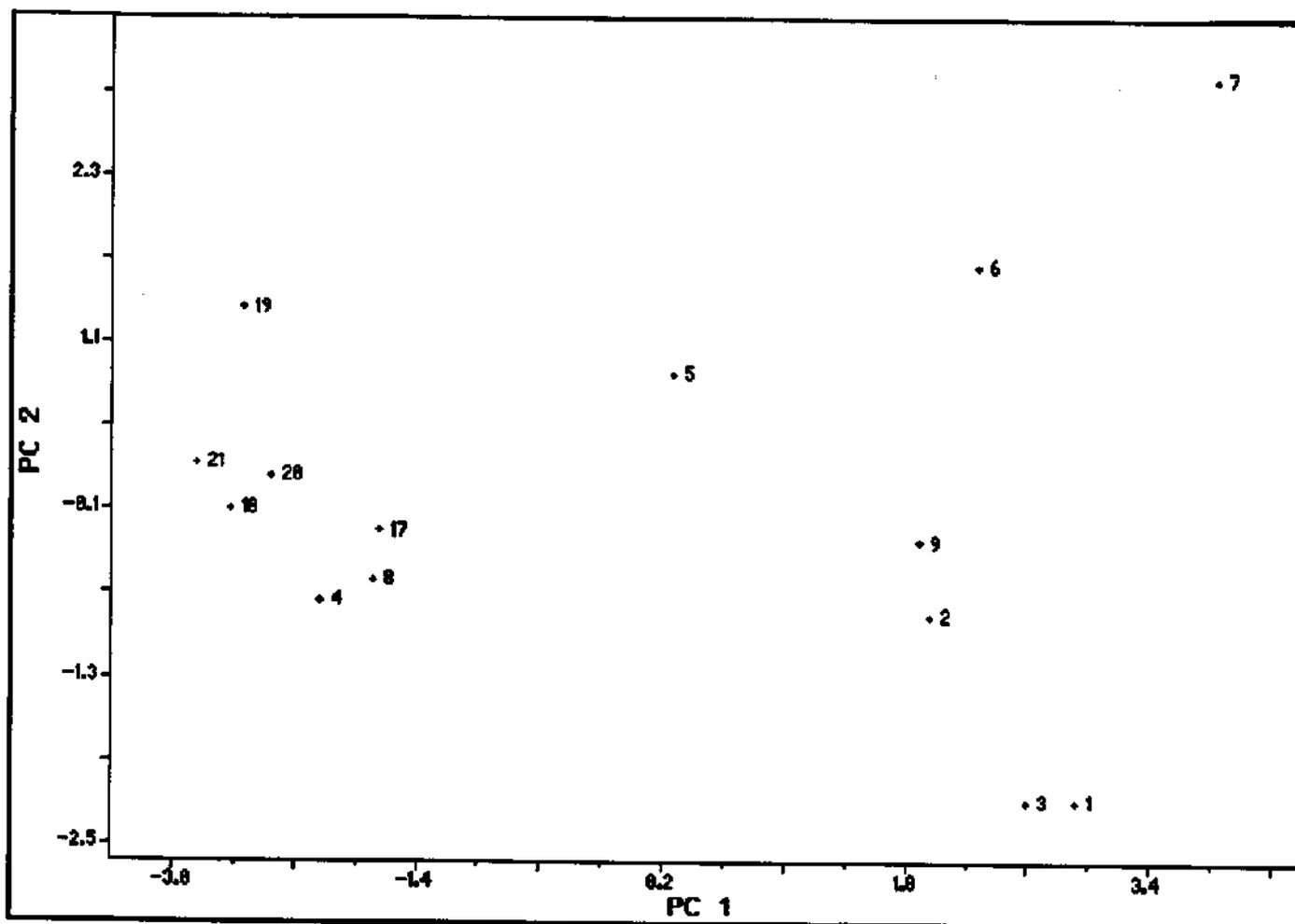


Fig. VI.1 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), usando onze parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...21 são os progestogênios (I),(II),(III)...(XXI), respectivamente. A região, à direita, agrupa as moléculas menos ativas e a região, à esquerda, agrupa as moléculas mais ativas.

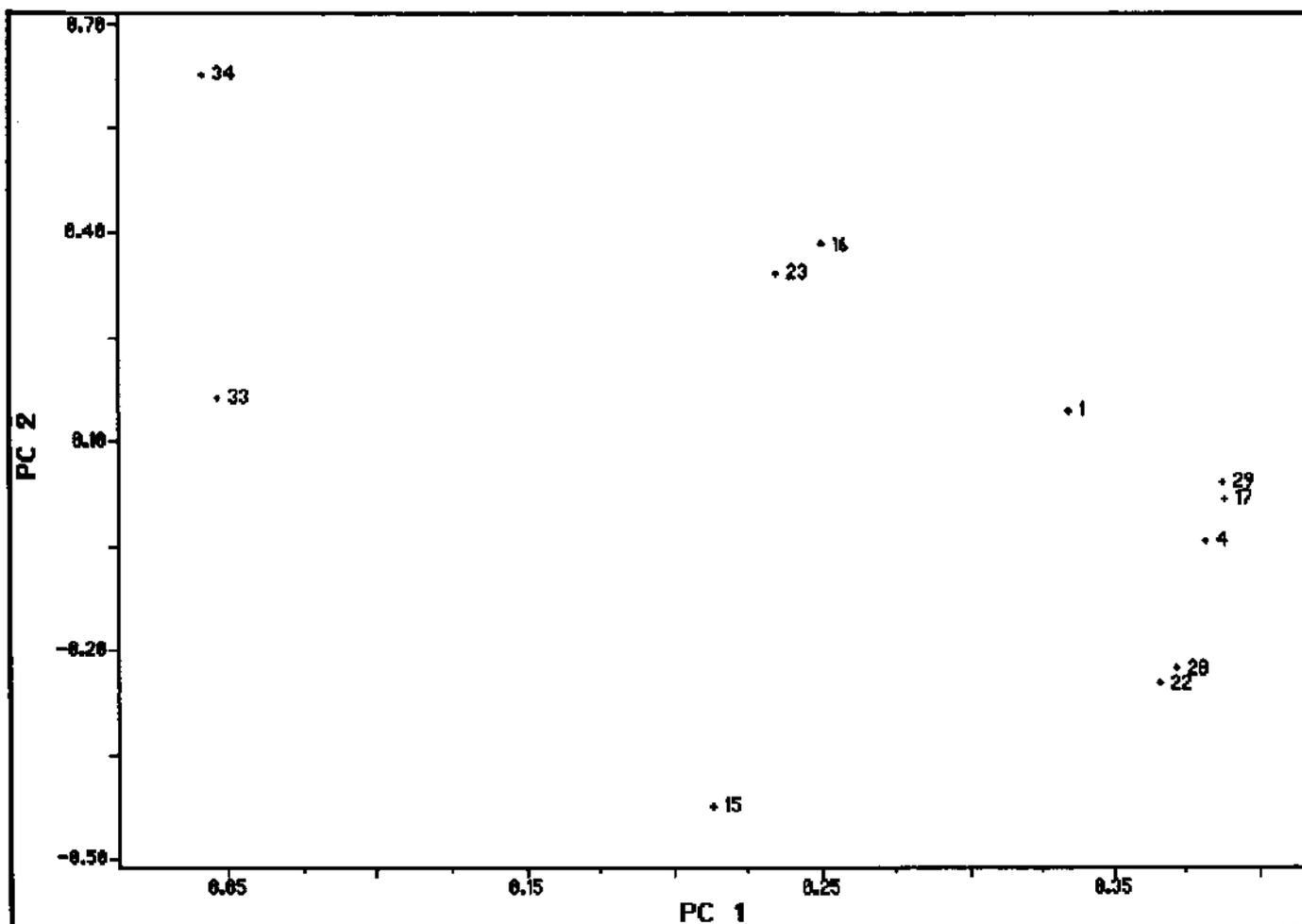


Fig.VI.2 - Gráfico dos loadings, utilizando onze parâmetros físico-químicos, onde 1, 4, 15, 16, 17, 22, 23 28, 29, 33 e 34 representam potencial de ionização, dureza molecular, carga atômica na posição 17, densidade do elétron de fronteira nas posições 3 e 10, densidade do orbital de fronteira nas posições 3 e 10, densidade do radical de fronteira nas posições 3 , 10 e 17 e carga atômica na posição 6 do esqueleto esteroidal, respectivamente.

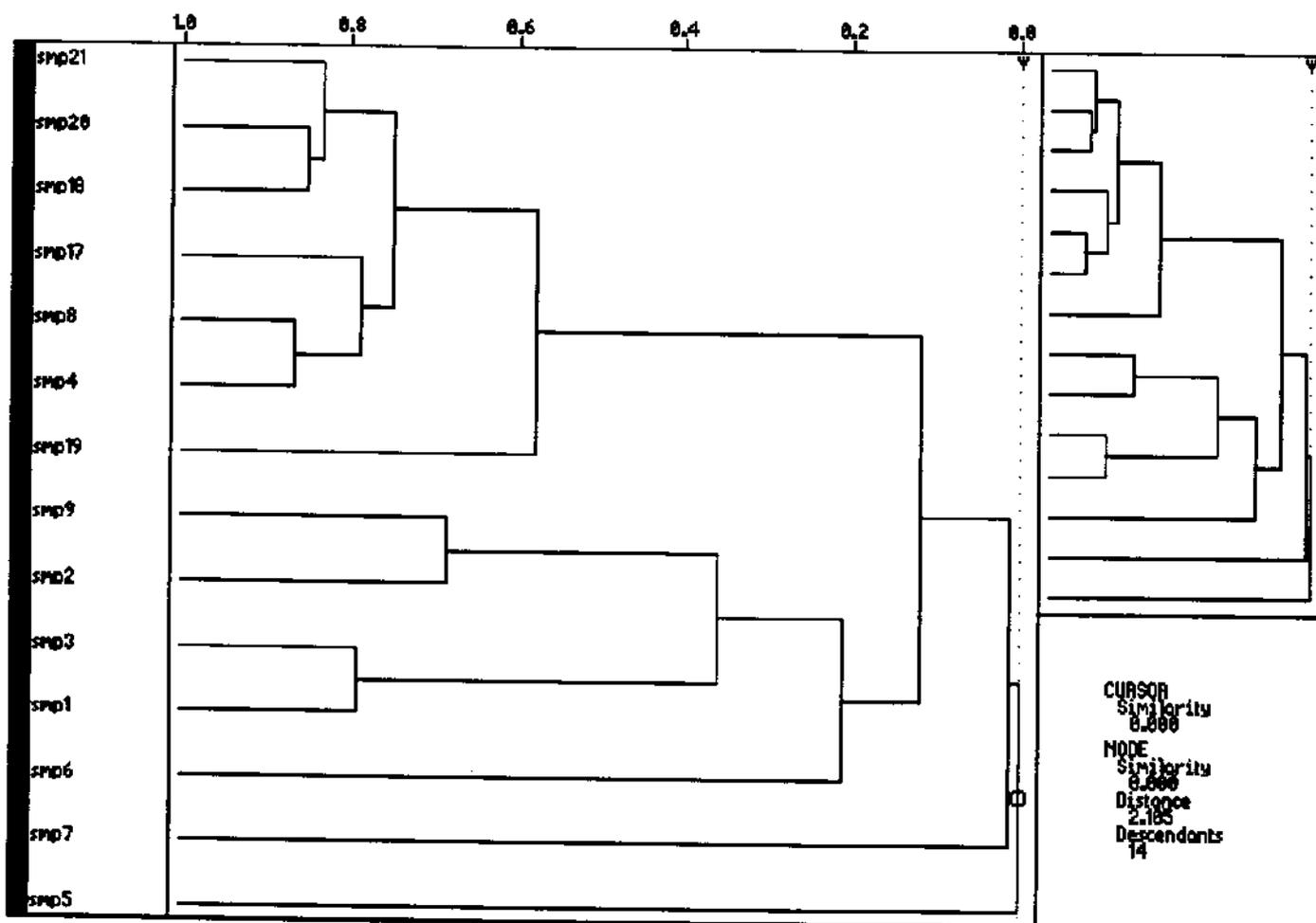


Fig.VI.3 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico(Hier), para os progestogênios I, II, ... IX , XVII, XVIII, ... XXI, obtido com onze parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp21 representam os progestogênios I, II, ... XXI, respectivamente .

Observando a figura VI.1, podemos dizer que nosso subconjunto molecular encontra-se distribuído em duas regiões distintas no gráfico dos escores das duas PCs. Na região, à direita do gráfico, encontram-se as moléculas menos ativas; na região, à esquerda, encontram-se as de maior atividade. Nesta região, à esquerda, encontram-se também as moléculas IV e VIII (que são menos ativas) e, portanto esperaríamos que estivessem na região mais à direita do gráfico VI.1.

Adicionamos, a seguir, mais sete moléculas, moléculas X, XI, ... XVI da tabela II.10, capítulo II, cujas atividades variam de 2 a 8 vezes a atividade da noretisterona, no intuito de observar a separação desse novo subconjunto molecular. Utilizamos os mesmos 11 parâmetros. Quando comparadas com a atividade das moléculas XVII, XVIII, ... XXI, cujas ABs variam de 10 a 50 vezes a da noretisterona(NET), é razoável esperar que, pelo menos as moléculas X, XI, XII e XIII (que possuem ABs de 2 a 6 vezes a da NET) juntem-se ao grupo de moléculas que pertencem à categoria das menos ativas. Efetuamos cálculos de reconhecimento de padrão e os resultados estão mostrados nas figuras: VI.4 (gráfico dos escores das duas PCs), VI.5 (gráfico dos loadings) e VI.6 (dendograma do agrupamento hierárquico), a seguir:

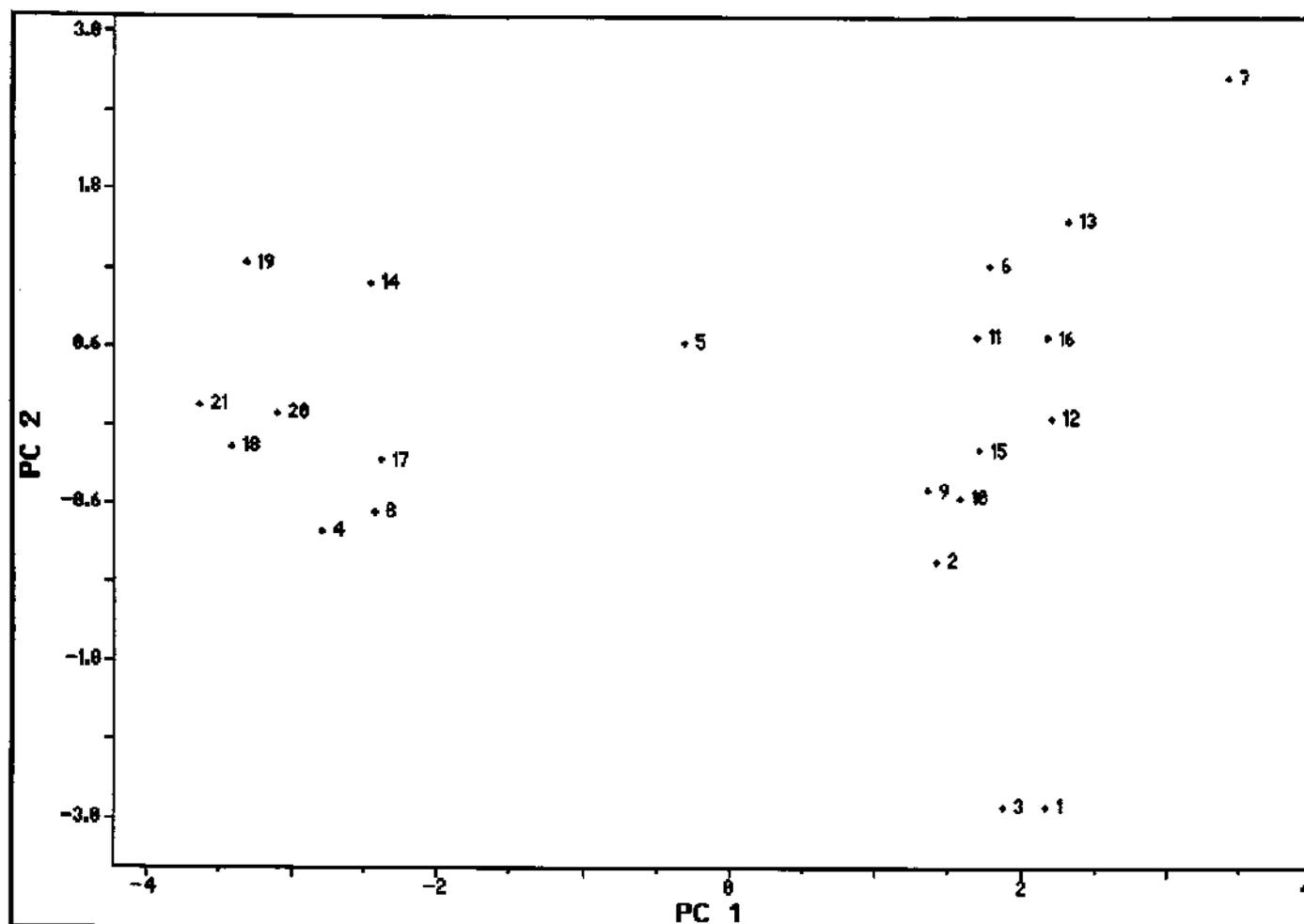


Fig.VI.4 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), usando onze parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...21 são os progestogênios (I),(II),(III)...(XXI), respectivamente. A região, à direita, agrupa as moléculas menos ativas e a região, à esquerda, agrupa as moléculas mais ativas.

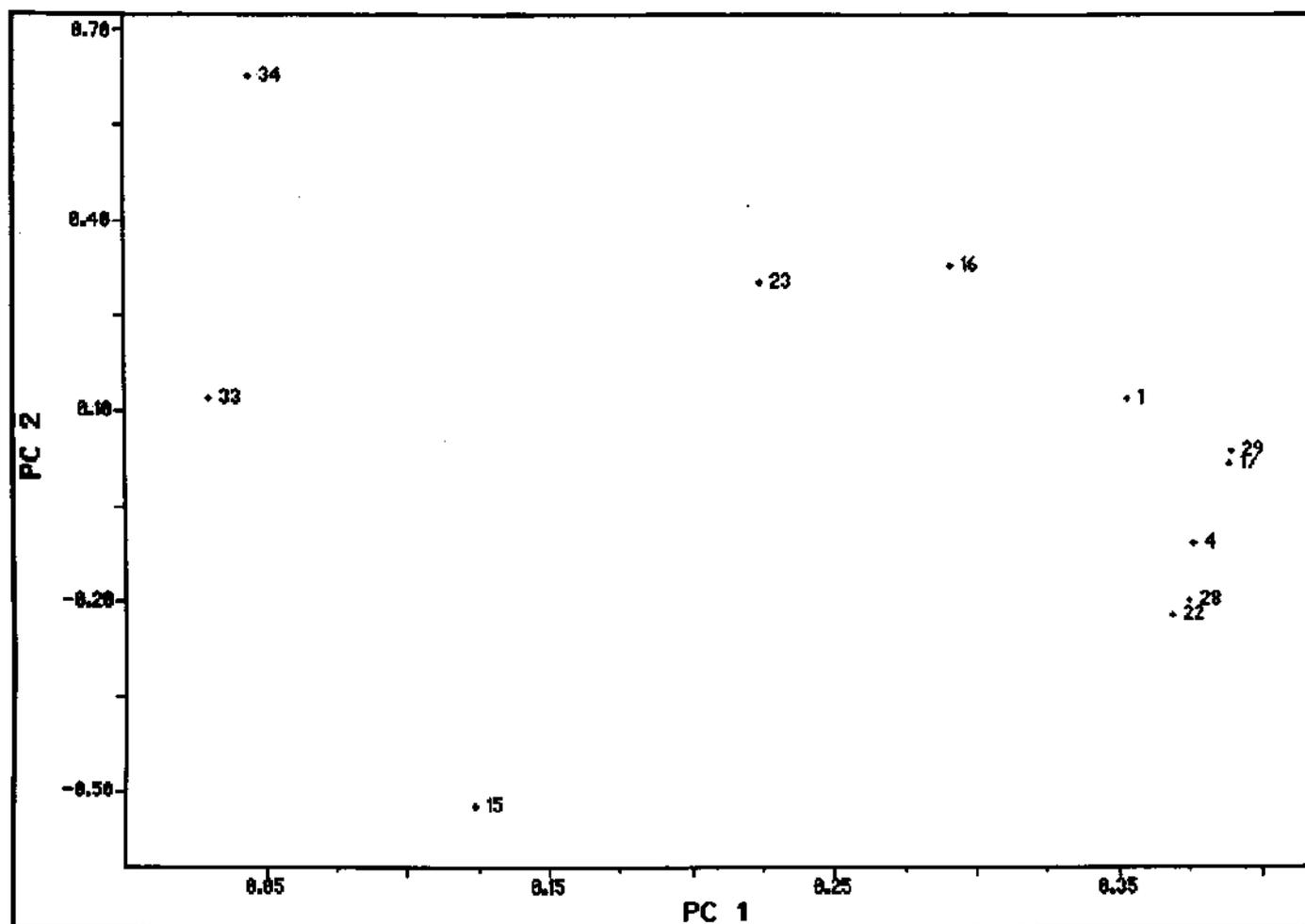


Fig. VI.5 - Gráfico dos loadings, utilizando onze parâmetros físico-químicos, onde 1, 4, 15, 16, 17, 22, 23 28, 29, 33 e 34 representam potencial de ionização, dureza molecular, carga atômica na posição 17, densidade do elétron de fronteira nas posições 3 e 10, densidade do orbital de fronteira nas posições 3 e 10, densidade do radical de fronteira nas posições 3 , 10 e 17 e carga atômica na posição 6 do esqueleto esteroidal, respectivamente.

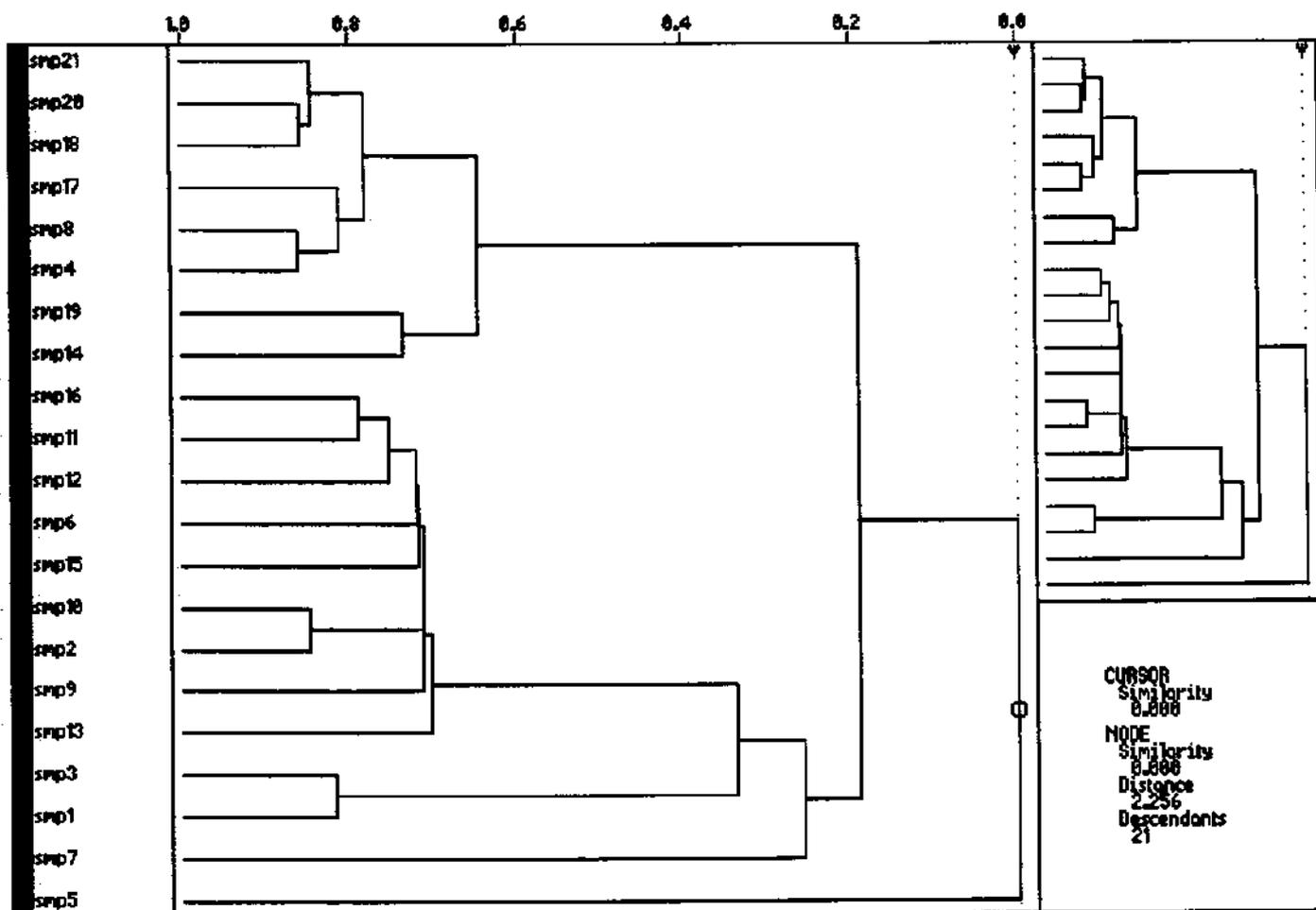


Fig. VI.6 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, ... XXI, obtido com onze parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp21 representam os progestogênios I, II, ... XXI, respectivamente .

Como pode ser observado no gráfico dos escores das PCs (fig.VI.4), continua havendo uma distribuição desse novo subconjunto molecular em duas regiões distintas no espaço: a região, à direita do gráfico VI.4, agrupa as moléculas menos ativas; a região, à esquerda do gráfico, agrupa as mais ativas. Da mesma maneira, que no gráfico VI.1, as moléculas IV e VIII continuam localizadas no lado esquerdo do gráfico VI.4, posição contrária à suas categoria. As moléculas X, XI, XII e XIII agrupam-se às menos ativas como esperado; também as moléculas XV e XVI (que possuem ABs 8 vezes a da NET) agruparam-se às menos ativas. A molécula XIV (cuja AB é também 8 vezes a da NET) foi para o lado das mais ativas. Das sete novas moléculas adicionadas, seis delas ocuparam a região à direita do gráfico VI.4, ou seja, foram classificadas como menos ativas.

Outro fato a observar, é a disposição das moléculas I e III (noretisterona e  $17\alpha$ -etinitestosterona) no gráfico VI.4. Estas duas moléculas situam-se na região das moléculas menos ativas, o que está de acordo com suas categorias, porém não se agrupam completamente às mesmas. Ao observarmos a estrutura molecular destas moléculas, notamos que existe uma diferença substancial na posição 17 do esqueleto esteroidal destas duas moléculas com relação às  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas: estas duas moléculas não possuem o grupo  $[\text{OC}=\text{O}(\text{CH}_3)]$  na posição  $17\alpha$ , mas o grupo  $(\text{C}\equiv\text{CH})$  em seu lugar; não possuem tampouco o grupo  $[\text{C}=\text{O}(\text{CH}_3)]$  na posição  $17\beta$ , mas o grupo  $(\text{OH})$

em seu lugar. Estas diferenças estruturais, que levam às diferenças nos parâmetros calculados, são provavelmente responsáveis pelo deslocamento destas moléculas do grupo.

A molécula VII (6 $\alpha$ -flúor 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona) encontra-se também um pouco deslocada do grupo das moléculas menos ativas, embora esteja próximo a ele, no gráfico VI.4. O átomo de flúor, na posição 6 $\alpha$ , provavelmente tenha algum efeito particular sobre o esqueleto esteroidal, modificando assim o modelo seguido por outras moléculas como as moléculas IX, X e XI (que possuem, respectivamente, bromo, metil e cloro na posição 6 $\alpha$ ).

A molécula V (6 $\alpha$ -nitro 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona), localizada na região mais central, no gráfico VI.4, com relação ao grupo das moléculas menos ativas ao qual ela pertence, não segue rigorosamente a mesma distribuição (tal qual a molécula VII) das moléculas que possuem substituintes nesta mesma posição como as moléculas IX, X e XI já citadas anteriormente. O grupo (-NO<sub>2</sub>), presente na posição 6 $\alpha$ , é o de maior poder receptor de elétrons de todos os outros substituintes nesta mesma posição. Provavelmente, seu efeito sobre o esqueleto esteroidal confere o comportamento peculiar observado para a molécula V, 6 $\alpha$ -nitro 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona.

Finalmente, a molécula XIV, 1,6 bisdehidro 6 $\alpha$ -flúor 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona, também ocupa a região das mais ativas, contrária às

moléculas XV e XVI, que possuem o mesmo valor de atividade biológica (8 vezes a da NET). Aspectos estruturais devem levar à esse comportamento como presença de flúor na posição 6 do EET e duas insaturações , uma na posição um e outra na posição 6 do EET.

Adicionamos, mais uma vez, duas moléculas inativas (XXII e XXIII, tabela II.10). Repetimos os cálculos de reconhecimento de padrão, cujos resultados estão representados nas figuras VI.7, VI.8 e VI.9, a seguir.

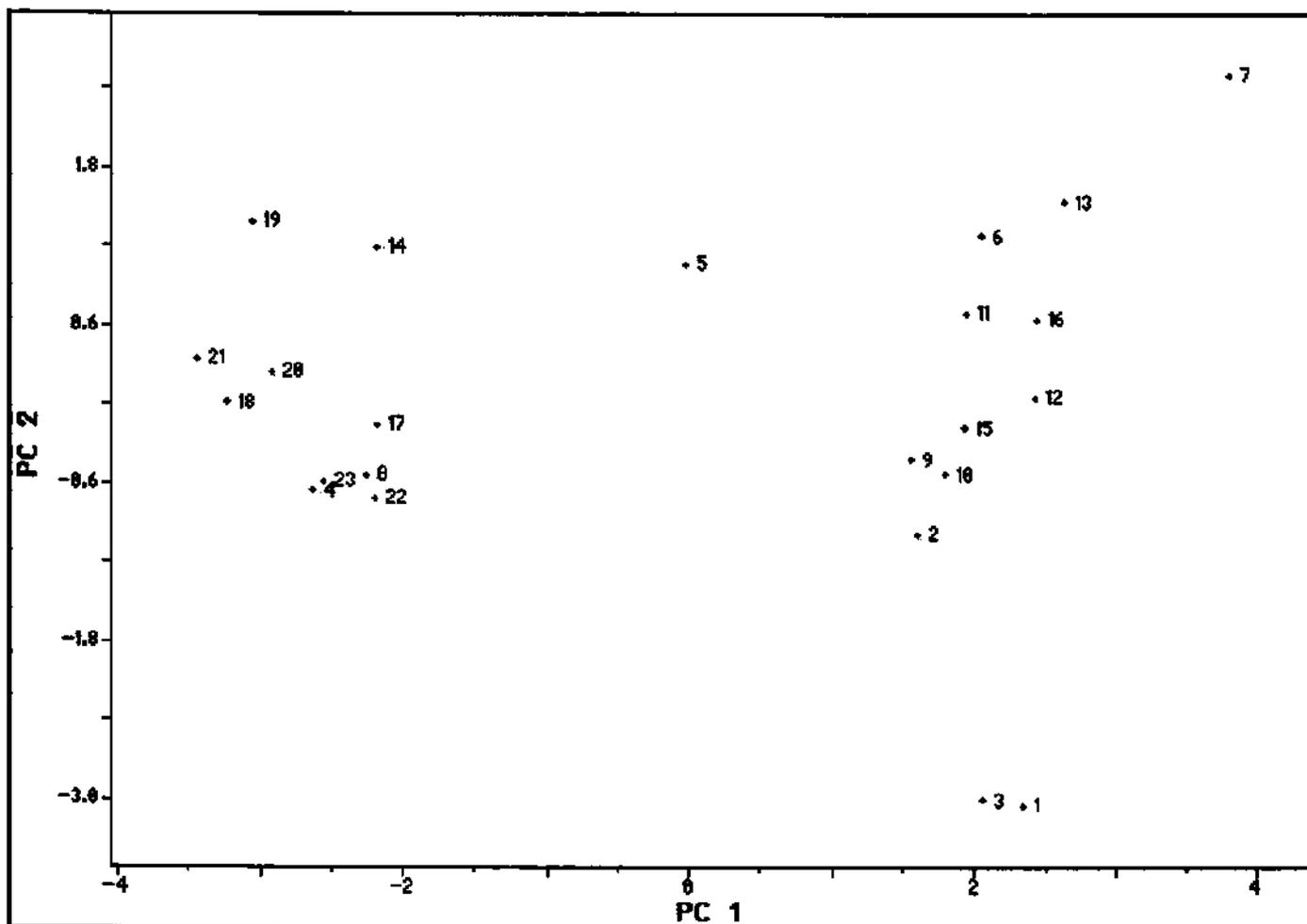


Fig. VI.7 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), usando onze parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...23 são os progestogênios (I),(II),(III)...(XXIII), respectivamente. A região, à direita, agrupa as moléculas menos ativas e a região, à esquerda, agrupa as moléculas mais ativas.

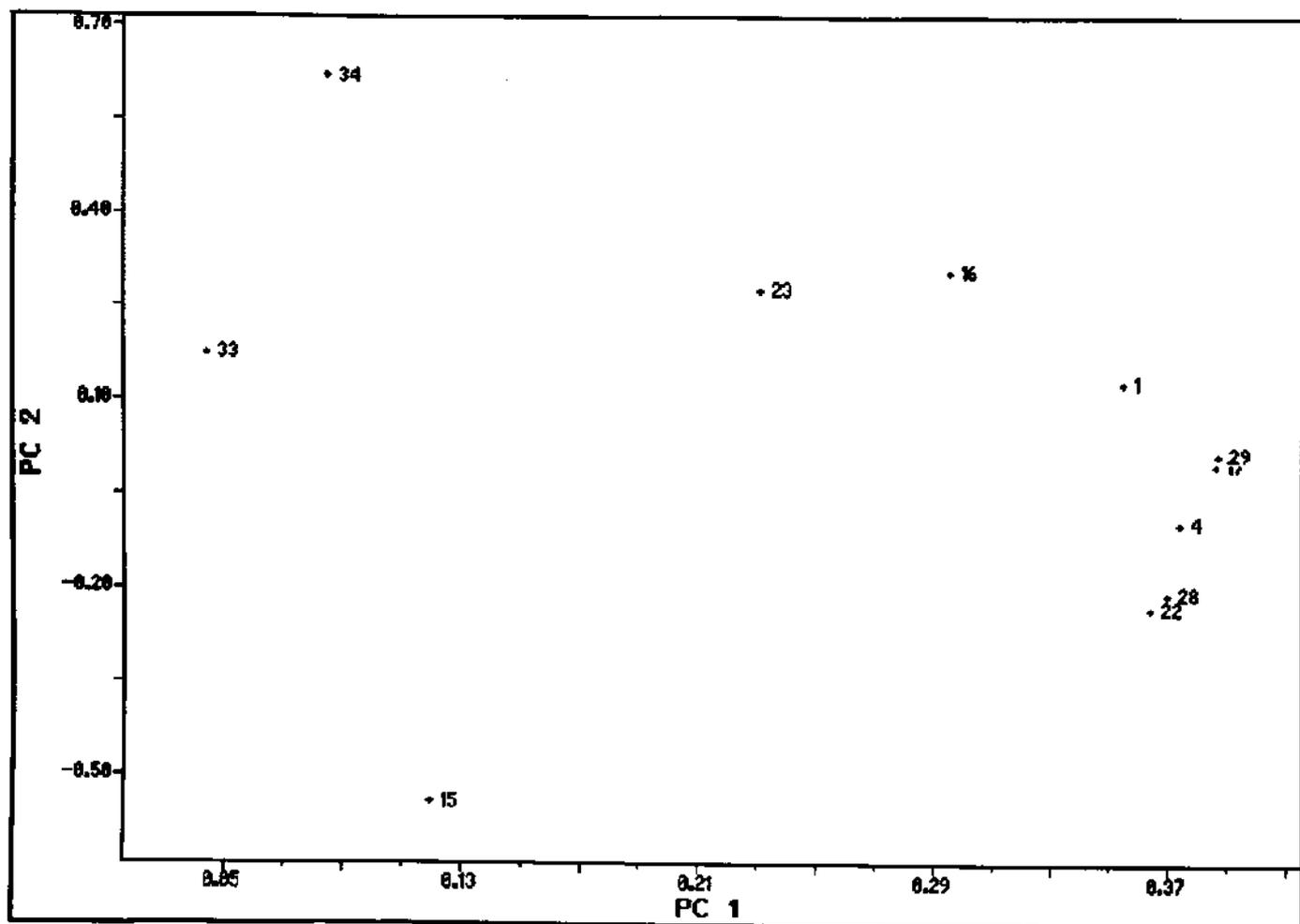


Fig.VI.8 - Gráfico dos loadings, utilizando onze parâmetros físico-químicos, onde 1, 4, 15, 16, 17, 22, 23, 28, 29, 33 e 34 representam potencial de ionização, dureza molecular, carga atômica na posição 17, densidade do elétron de fronteira nas posições 3 e 10, densidade do orbital de fronteira nas posições 3 e 10, densidade do radical de fronteira nas posições 3, 10 e 17 e carga atômica na posição 6 do esqueleto esteroidal, respectivamente.

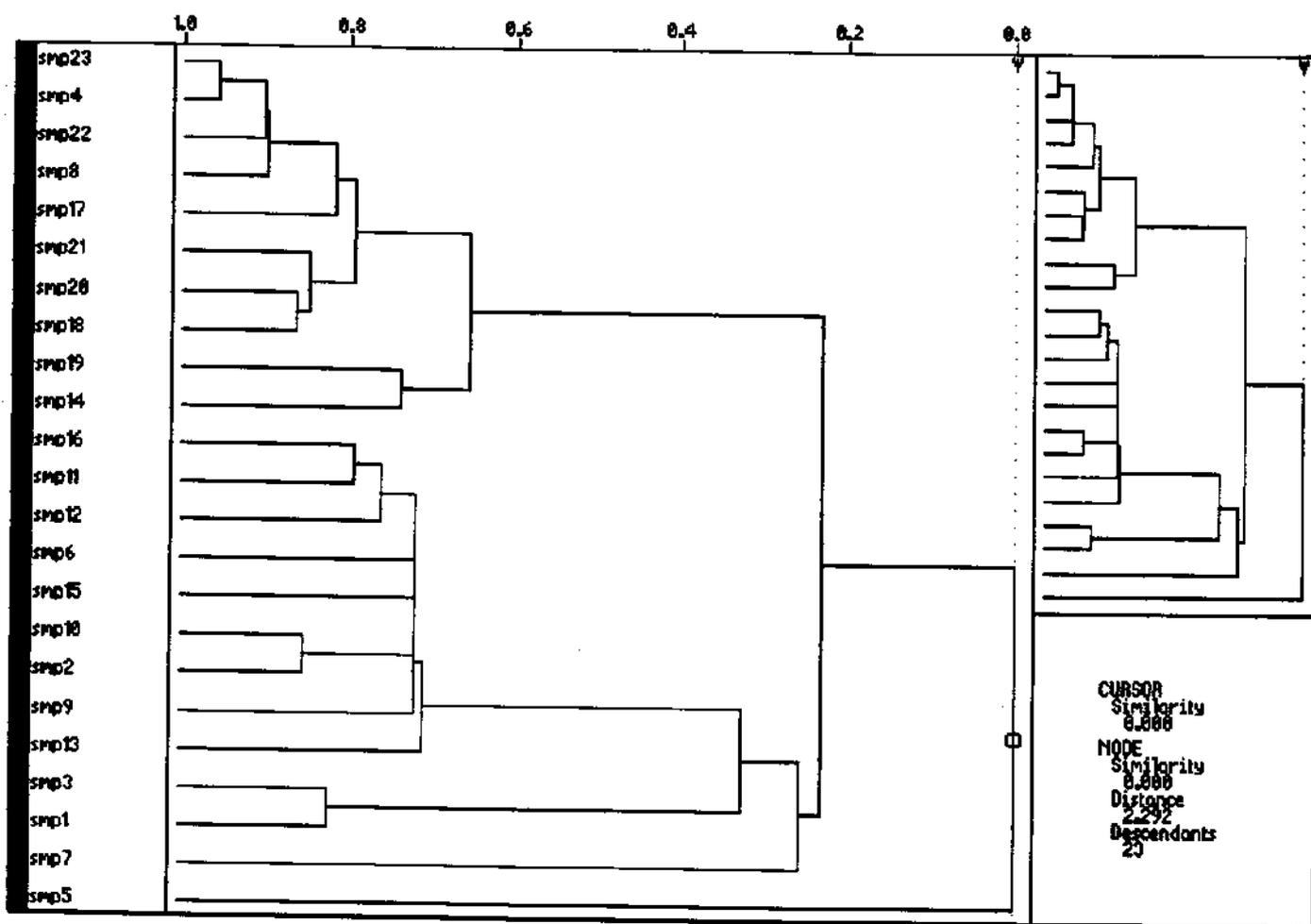


Fig. VI.9 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, ... XXIII, obtido com onze parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp23 representam os progestogênios I, II, ... XXIII, respectivamente .

A primeira observação que devemos fazer, ao analisar a figura VI.7, é relativa à separação das moléculas deste grupo molecular. Como podemos ver, as moléculas menos ativas continuam a ocupar a região à direita do gráfico VI.7; as mais ativas, a região à esquerda deste gráfico. As moléculas IV e VIII, contrariamente à nossa previsão, ocupam a região mais à esquerda do gráfico, e as novas moléculas adicionadas, ambas inativas, agrupam -se a elas. Essas quatro moléculas (IV, VIII, XXII e XXIII) chegam a se sobrepor neste gráfico. Se observarmos a tabela II.10, item II.3, capítulo II, podemos verificar que todas as 4 moléculas (e nenhuma mais do grupo) possuem em comum um substituinte na posição 21 e todas as 4 possuem duas insaturações: uma na posição 1 e outra na posição 6 do esqueleto esteroidal. Isto torna as 4 moléculas estruturalmente bastante semelhantes.

É importante realçar que as moléculas consideradas mais ativas (moléculas XVII, XVIII, XIX, XX e XXI) são todas classificadas corretamente no gráfico dos escores das PCs. Entre todas as moléculas menos ativas e inativas, as moléculas IV, VIII, XIV, XXII e XXIII são classificadas incorretamente, aparecendo misturadas às mais ativas no gráfico dos escores das PCs.

Analisando os gráficos dos loadings, para os três casos (figuras VI.2, VI.5 e VI.8), vemos que os parâmetros mais importantes responsáveis pelo agrupamento das moléculas mais ativas são: a carga atômica na posição 6

(CA06), a densidade do radical de fronteira na posição 17 ( $F_{17}^r$ ) e a carga atômica na posição 17 (CA17) do esqueleto esteroidal.

Os parâmetros como: potencial de ionização (PI), dureza molecular ( $\eta$ ), densidade do elétron de fronteira na posição 3 ( $F_3^e$ ), densidade do orbital de fronteira na posição 3 ( $F_3^o$ ), densidade do radical de fronteira na posição 3 ( $F_3^r$ ), densidade do elétron de fronteira na posição 10 ( $F_{10}^e$ ), densidade do orbital de fronteira na posição 10 ( $F_{10}^o$ ), densidade do radical de fronteira na posição 10 ( $F_{10}^r$ ) do esqueleto esteroidal são os que mais contribuem para o agrupamento dos progestogênios menos ativos nos três casos (figura VI.2, VI.5 e VI.8).

De acordo com a tabela A.1.2.a, item A.1.2, apêndice A.1, valores de PIs mais elevados entre 10,001 a 10,567eV agrupam as moléculas menos ativas, enquanto que as mais ativas possuem valores de PIs de 9,275 a 9,480eV; com exceção das moléculas IV, VIII, XIV, XXII e XIII (que possuem PIs de 9,440; 9,453; 9,562; 9,540 e 9,457eV, respectivamente comportando-se como as moléculas mais ativas).

De uma maneira geral, valores maiores de dureza molecular (da ordem de 4,828 a 5,004) correspondem aos progestogênios menos ativos, progestogênios mais ativos possuem  $\eta$  da ordem de 4,317 a 4,392; também neste caso as exceções ocorrem para as moléculas IV, VIII, XIV e XXII e XXIII, cujos  $\eta$  são da ordem de 4,381, 4,407, 4,348, 4,415 e 4,389,

respectivamente, comportando-se como progestogênios mais ativos. Estas moléculas, como já mencionado, aparecem misturadas às mais ativas nos gráficos dos escores das PCs.

Os valores das densidades do elétron de fronteira na posição 3 do esqueleto esteroidal (EET) são da ordem de 10 vezes maiores para progestogênios menos ativos. Exceções são registradas para as moléculas IV, V, VIII, XIV e XXII que possuem  $F^{\circ}_3$  similares aos das moléculas mais ativas.

Densidades do elétron de fronteira na posição 10 do EET também possuem uma ordem de grandeza aproximadamente 10 vezes maiores para as moléculas menos ativas. Exceções são observadas para as moléculas IV, V, VIII, XIV, XXII e XXIII.

Valores de densidade do orbital de fronteira na posição 3 do EET na faixa de  $3,17 \cdot 10^{-1}$  a  $4,24 \cdot 10^{-1}$  relacionam-se às moléculas menos ativas; valores de  $F^{\circ}_3$  na faixa de  $2,07 \cdot 10^{-1}$  a  $3,04 \cdot 10^{-1}$  relacionam-se às moléculas mais ativas. Novamente exceções são exibidas pelas moléculas IV ( $F^{\circ}_3=2,75 \cdot 10^{-1}$ ), VIII ( $F^{\circ}_3=2,79 \cdot 10^{-1}$ ), XIV ( $F^{\circ}_3=2,84 \cdot 10^{-1}$ ), XXII ( $F^{\circ}_3=2,90 \cdot 10^{-1}$ ) e XXIII ( $F^{\circ}_3=2,73 \cdot 10^{-1}$ ), cujos valores de  $F^{\circ}_3$  estão na faixa das moléculas mais ativas.

As densidades do orbital de fronteira na posição 10 do EET são, em geral, de uma ordem de 10 vezes menores para as moléculas mais ativas. As moléculas IV, VI, XXII e XXIII são exceções por apresentam valores de  $F^{\circ}_{10}$  similares aos das moléculas mais ativas.

Densidades do radical de fronteira na posição 3 do EET, dentro de uma faixa de  $1,59 \cdot 10^{-1}$  a  $2,14 \cdot 10^{-1}$  relacionam-se às moléculas menos ativas;  $F^r_3$  na faixa de  $1,04 \cdot 10^{-1}$  a  $1,52 \cdot 10^{-1}$ , às moléculas mais ativas. As moléculas IV, VIII, XIV, XXII e XXIII apresentam  $F^r_3$  de  $1,38 \cdot 10^{-1}$ ,  $1,40 \cdot 10^{-1}$ ,  $1,42 \cdot 10^{-1}$ ,  $1,45 \cdot 10^{-1}$  e  $1,37 \cdot 10^{-1}$ , respectivamente, valores pertencentes à faixa das mais ativas.

De maneira geral, densidades do radical de fronteira na posição 10 do EET mais elevadas, de uma ordem de grandeza de 10 vezes, estão relacionadas aos progestogênios menos ativos; mais uma vez ocorreram exceções para as moléculas IV, V, VIII, XIV, XXII e XXIII que apresentam  $F^r_{10}$  na faixa de valores correspondentes aos progestogênios mais ativos.

A tendência das densidades do radical de fronteira, na posição 17, é serem menores ( de uma ordem de aproximadamente 10 vezes) no caso de progestogênios mais ativos; com exceção das moléculas IV, VIII e XIV (menos ativas) e moléculas XXII e XXIII (inativas) que possuem  $F^r_{17}$  na faixa dos mais ativos.

Cargas atômicas na posição 17 do EET tendem a valores menores no caso de progestogênios mais ativos; as CA17 são todas positivas. Progestogênios mais ativos possuem CA17 na faixa de 0,0483 a 0,0506; os menos ativos na faixa de 0,0506 a 0,1903. Embora os limites superior e inferior das CA17, no caso de progestogênios mais e menos ativos,

respectivamente, não sejam bem definidos, somente duas moléculas apresentam valores de CA17 no limite. O restante apresentam valores de CA17 dentro das faixas e portanto seus valores são bem estabelecidos; somente uma exceção ocorre com a molécula XV, cuja CA17 é de 0,0496, na faixa de progestogênios mais ativos.

Cargas atômicas na posição 6 do EET são, em geral, negativas. CA06 no intervalo de -0,0956 a 0,0630 relacionam-se aos progestogênios mais ativos; enquanto CA06 mais negativas ou mais positivas, que os limites deste intervalo, relacionam-se aos progestogênios menos ativos, geralmente. Algumas exceções são registradas, neste caso, por moléculas diferentes (moléculas V, VI, X, XI, XV e XVI) daquelas já esperadas. Por esta razão, preferimos associar aos limites de variação de CA06, apenas uma tendência na atividade progestacional em aumentar ou diminuir. Um maior número de compostos ajudaria em determinações mais consistentes com respeito às variações de CA06 com a atividade progestacional.

Na tabela VI.1, estão representados os intervalos de variação dos parâmetros selecionados por PCA, para as moléculas mais e menos ativas.

Tabela VI.1 - Intervalo de variação dos parâmetros selecionados por PCA, para as moléculas mais e menos ativas.

<b>Parâmetros Selecionados</b>	<b>Intervalo de variação para moléculas mais ativas</b>	<b>Intervalo de variação para moléculas menos ativas</b>
PI (eV)	9,275 - 9,480	10,001 - 10,567
$\eta$ (eV)	4,317 - 4,392	4,828 - 5,004
$F^{(e)}_3$	10x menores	
$F^{(e)}_{10}$	10x menores	
$F^{(o)}_3$	$2,07 \cdot 10^{-1} - 3,04 \cdot 10^{-1}$	$3,17 \cdot 10^{-1} - 4,24 \cdot 10^{-1}$
$F^{(o)}_{10}$	10x menores	
$F^{(r)}_3$	$1,04 \cdot 10^{-1} - 1,52 \cdot 10^{-1}$	$1,59 \cdot 10^{-1} - 2,14 \cdot 10^{-1}$
$F^{(r)}_{10}$	10x menores	
$F^{(r)}_{17}$	10x menores	
CA17	$4,83 \cdot 10^{-2} - 5,06 \cdot 10^{-2}$	$5,06 \cdot 10^{-2} - 1,90 \cdot 10^{-1}$
CA06	$-9,56 \cdot 10^{-2} - 6,30 \cdot 10^{-2}$	abaixo ou acima do limite, em geral

As figuras VI.3, VI.6 e VI.9, que correspondem ao dendograma do agrupamento hierárquico, são consistentes com os seus respectivos gráficos dos escores das PCs, agrupando os progestogênios mais ativos (juntamente com aqueles menos ativos, mas que se comportam como os primeiros) na parte superior do dendograma e progestogênios menos ativos na parte inferior.

Através deste estudo, chegamos a 11 parâmetros importantes para a atividade progestacional oral das 17 $\alpha$ - acetoxiprogesteronas substituídas. Alguns dos parâmetros selecionados, como cargas atômicas nas posições 6 e 17 do EET vêm a ser uma confirmação proporcionada, através de nossos cálculos, de que estas posições são importantes, já que a literatura (10) anteriormente descreveu a importância de substituintes nestas posições.

### **VI.1.a-) Interações fármaco - receptor**

Neste estudo, chegou-se à conclusão de que valores menores de dureza molecular ( $\eta$ ) estão relacionados aos progestogênios mais ativos com respeito à atividade progestacional.

A dureza molecular, definida como  $\eta=1/2(\text{PI} -\text{AE})$ , capítulo III, pode ser escrita como  $\eta\cong 1/2(\epsilon_{\text{Lumo}} - \epsilon_{\text{Homo}})$ , que é uma consequência do teorema de Koopmans. Consequentemente  $\eta$  representa a metade da separação entre os dois orbitais de fronteira.

Segundo os resultados de nossos estudos, podemos concluir que a atividade progestacional das 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas é favorecida quando a separação entre LUMO e HOMO, das 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas, é de menor proporção. Diz-se que uma molécula é mole, quando a separação dos orbitais de fronteira é pequena e a distribuição dos elétrons é facilmente rearranjada por uma perturbação. Com a molécula dura ocorre o inverso.

Portanto, as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas mais moles parecem estar associadas com maiores atividades progestacionais.

Decorre do trabalho de Pearson (78) que moléculas moles ligam-se fortemente à moléculas moles, devido à proximidade entre as energias dos orbitais envolvidos. Com isto, podemos imaginar que os sítios ativos presentes nos receptores de progesterona devam ser também moles.

Outra conclusão, pertinente a este estudo, estabelece que as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas com atividades progestacionais mais elevadas tendem a possuir valores inferiores de índices de fronteira, tais como densidade do elétron de fronteira nas posições 3 e 10 do EET; densidade do orbital de fronteira também nas posições 3 e 10 do EET e densidade do radical de fronteira nas posições 3, 10 e 17 do EET.

No estudo anterior, capítulo V, item V.2, chegamos à conclusão de que índices de fronteira mais elevados, tais como densidade do elétron de fronteira na posição 9 e densidade do radical de fronteira nas posições 7 e 9 do EET, estavam associados à maiores atividades androgênicas. É provável que também no caso das  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas o mesmo ocorra. Isto é, se moléculas que possuem índices de fronteira menos elevados (como densidade do elétron de fronteira nas posições 3 e 10, densidade do orbital de fronteira nas posições 3 e 10 e densidade do radical de fronteira nas posições 3, 10 e 17 do EET) estão associadas com maiores atividades progestacionais, isto

significa que as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas, cujos índices de fronteira são menos elevados, ligam-se preferencialmente aos receptores de progesterona, proporcionando maiores atividades progesterônicas; os índices de fronteira mais elevados, nestas posições, como posições 3, 7 e 10 do EET, para as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas, devem favorecer as interações com os receptores de androgênio, elevando a atividade androgênica. Se esta suposição realmente ocorrer fica explicado o fato das  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas com atividades progesterônicas mais elevadas, possuírem valores inferiores de índices de fronteira.

As cargas atômicas determinadas na posição 17 do EET, para as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas estudadas, são todas positivas. Cargas atômicas negativas, presentes nos receptores de progesterona, devem interagir nesta posição do EET.

Cargas atômicas na posição 6 do EET, para as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas estudadas, são, em geral, negativas. Algumas cargas positivas ocorrem também, nesta posição, para determinados progestogênios. Presume-se que os sítios ativos, com os quais as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas interagem nesta posição, presentes nos receptores de progesterona, não sejam sempre os mesmos. É possível que os receptores de progesterona possam acomodar substituintes com características diversas na posição 6 do EET.

As interações entre as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas e o receptor de progesterona podem ser esquematizadas, simplificadamente, como na figura VI.10, a seguir:

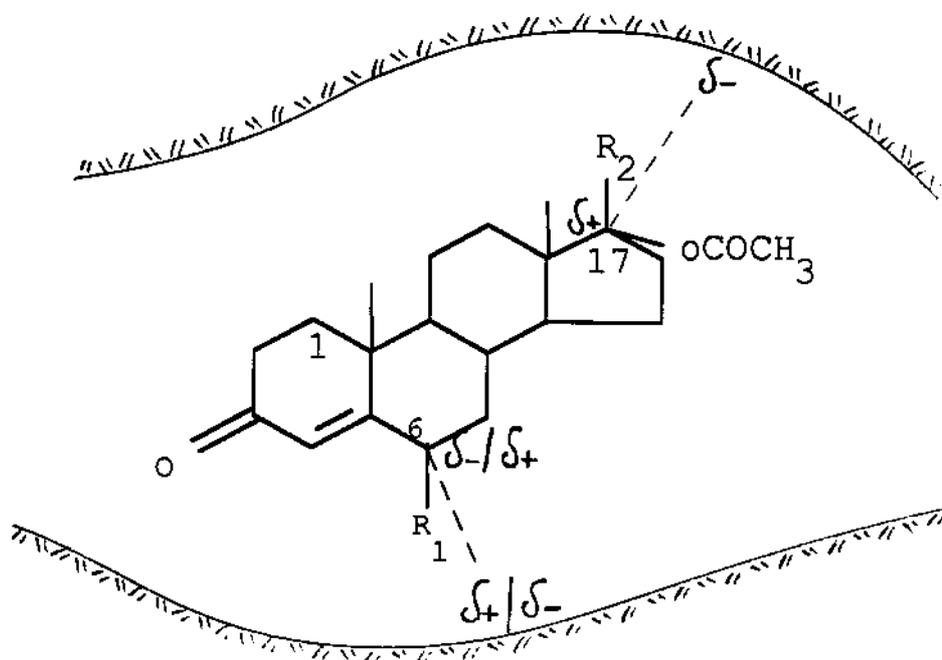


Fig.VI.10 - Modelo representativo das interações entre as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas e o receptor de progesterona.

## **VI.2 – Análise preditiva para os três novos progestogênios através de PCA**

Os três novos progestogênios, norgestimato, desogestrel e gestodene, são potentes agentes progestacionais. Desejamos verificar, se o modelo obtido, no item anterior, para as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas, é também obedecido por estes progestogênios. Ou seja, desejamos verificar, se ao aplicarmos o método de reconhecimento de padrão, como PCA, para estas três novas moléculas, a partir dos parâmetros já estabelecidos para as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas, é possível prevermos as categorias das mesmas.

Inserimos, desta forma, as três novas moléculas na lista dos 23 progestogênios estudados no item anterior (moléculas XXIV, XXV e XXVI, norgestimato, desogestrel e gestodene, respectivamente). Realizamos cálculos, novamente, de PCA, com os mesmos parâmetros determinados anteriormente. O gráfico dos escores das PCs está apresentado, a seguir, na figura VI.11.

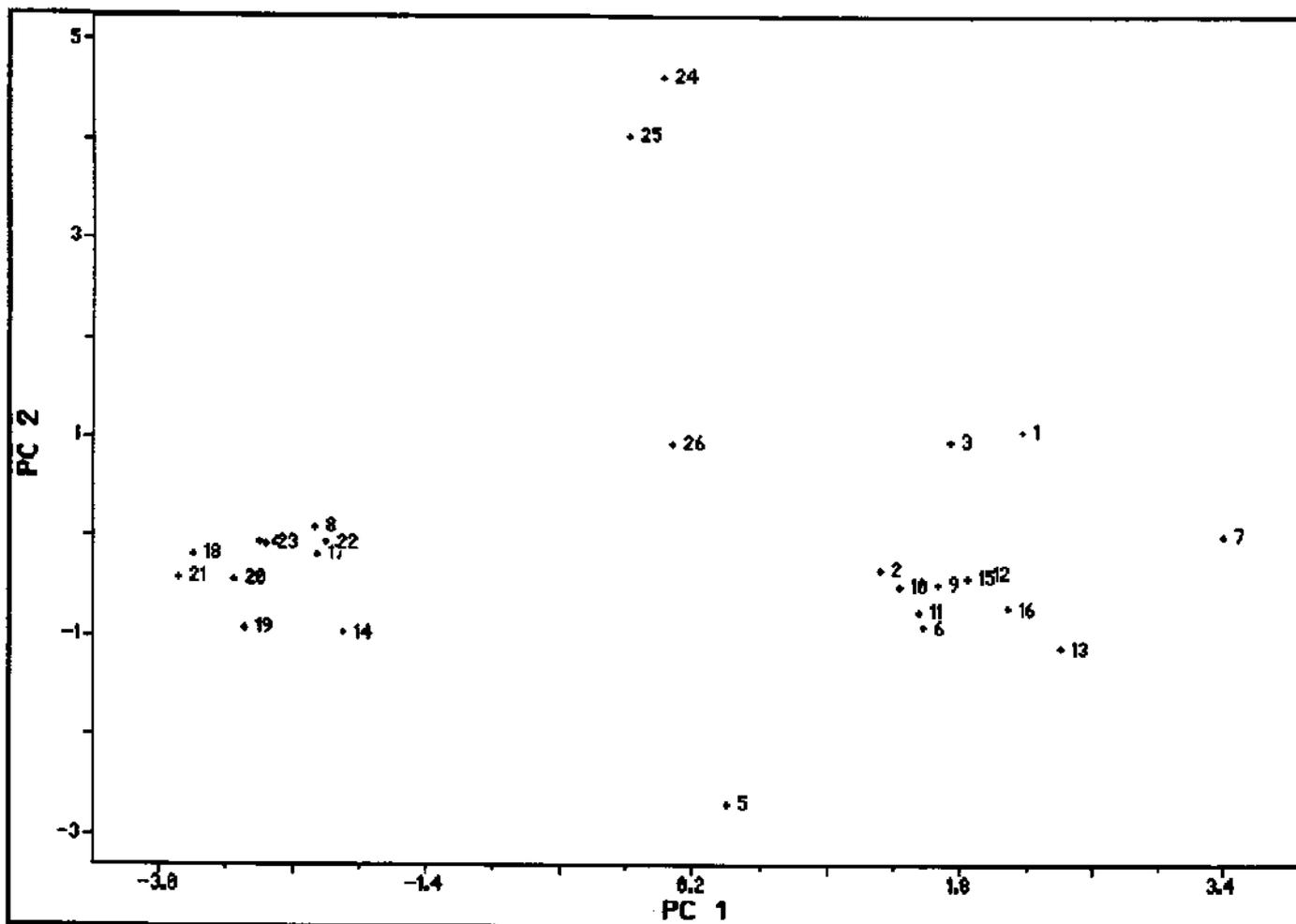


Fig.VI.11 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), usando onze parâmetros físico-químicos, onde 1,2,3,...23 são os progestogênios (I),(II),(III)...(XXIII), respectivamente; 24, 25 e 26 são norgestimato, desogestrel e gestodene, respectivamente.

Como pode ser observado na figura VI.11, gráfico dos escores das PCs, os progestogênios XXIV, XXV e XXVI (norgestimato, desogestrel e gestodene, respectivamente) encontram-se em uma posição intermediária entre os progestogênios “mais ativos” e os “menos ativos”. Se por um lado, os três novos progestogênios não se juntaram aos mais ativos neste gráfico, já que são “mais ativos”, por outro lado, também não se juntaram aos “menos ativos”. Não temos tabela de atividade biológica, que contenha valores de atividade para este conjunto de 26 progestogênios . Sabemos, porém que estes três novos progestogênios tratam-se de moléculas bastante ativas quando comparadas com progesterona. Para que se possa discutir, com exatidão, qualquer coisa a respeito das atividades relativas desse novo grupo de 26 progestogênios, seriam necessários valores de atividade biológica obtidos nas mesmas condições (mesmo teste biológico) para todos estes progestogênios.

Podemos atribuir o fato, destes três novos progestogênios, estarem na região central da figura VI.11, gráfico dos escores das PCs, ou por estas três moléculas apresentarem diferença estrutural significativa, na posição 17 do esqueleto esteroideal, com relação às  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas, ou por estas três novas moléculas pertencerem à uma nova categoria de progestogênios. Se a segunda hipótese for verdadeira, nosso conjunto de 26 progestogênios ficaria assim classificado: grupo das moléculas “menos ativas”, grupo das moléculas “intermediárias” com respeito à atividade e grupo das moléculas “mais

ativas”, onde os três novos progestogênios pertenceriam à 2ª categoria, provavelmente.

Com respeito aos 11 parâmetros selecionados, para as acetoxiprogesteronas, verificamos que suas tendências (em aumentar ou diminuir) com relação à atividade não são, em geral, as mesmas para os três novos progestogênios. Conclui-se, portanto que outro conjunto de parâmetros deva ser testado caso se queira adicionar moléculas que não pertençam à família das acetoxiprogesteronas. Talvez moléculas estruturalmente bastante diversas não forneçam modelos adequados para análise SAR.

### **VI.3 – Análise preditiva para o subconjunto de 14 17 $\alpha$ - acetoxiprogesteronas substituídas através de PCA**

O objetivo deste estudo é verificar a capacidade preditiva do método de análise de componentes principais. Para tal finalidade, utilizamos o subconjunto formado pelas 14 17 $\alpha$  - acetoxiprogesteronas substituídas, citado no item VI.1. Estas moléculas correspondem às de número I, II, ... IX e XVII, XVIII, ... XXI (tabela II.10, capítulo II). Retiramos uma molécula por vez (leave one out) , do grupo das 14 moléculas, selecionamos novos parâmetros, capazes de separar as moléculas restantes em suas categorias. Em seguida,

devolvemos a molécula retirada ao grupo e verificamos se o método conseguiu prever a categoria da mesma.

Procuramos variar, na medida do possível, o número e tipo de parâmetros utilizados, para que, ao repor cada molécula, não se repetisse os mesmos parâmetros já utilizados na introdução da molécula anterior, o que garantiria sua correta predição em categorias.

Na tabela VI.2, estão os resultados obtidos a partir desta análise, onde N° representa o número de parâmetros selecionados capazes de separar as moléculas em suas categorias; TPS é o tipo de parâmetro selecionado; MRET é o número da molécula retirada, segundo a tabela II.10, capítulo II; PRED é a predição da categoria da mesma molécula, após ser resposta no subconjunto.

Tabela VI.2 – Predição de categorias para o subconjunto das 14 17 $\alpha$  - acetoxiprogesteronas substituídas, onde N<sup>o</sup> representa o número de parâmetros selecionados capazes de separar as moléculas em suas categorias; TPS é o tipo de parâmetro selecionado; MRET é o número da molécula retirada; PRED é a predição da categoria da mesma molécula, após ser repostada no subconjunto.

N <sup>o</sup>	TPS	MRET	PRED
7	PI, $\eta$ , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>10</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	I	menos ativa - correto
8	PI, $\eta$ , CA17, F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>10</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	II	menos ativa - correto
8	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>10</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	III	menos ativa - correto
6	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>r</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	IV	mais ativa - incorreto*
4	PI, $\eta$ , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , CA06	V	menos ativa - correto
4	PI, $\eta$ , F <sup>r</sup> <sub>3</sub> , CA06	VI	menos ativa - correto
3	PI, $\eta$ , F <sup>r</sup> <sub>3</sub>	VII	menos ativa - correto
6	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	VIII	mais ativa - incorreto*
6	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	IX	menos ativa - correto
6	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	XVII	mais ativa - correto
5	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>r</sup> <sub>3</sub> , CA06	XVIII	mais ativa - correto
5	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub>	XIX	mais ativa - correto
6	PI, $\eta$ , F <sup>o</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>10</sub> , F <sup>r</sup> <sub>17</sub> , CA06	XX	mais ativa - correto
6	PI, $\eta$ , F <sup>e</sup> <sub>10</sub> , F <sup>r</sup> <sub>3</sub> , F <sup>r</sup> <sub>10</sub> , CA06	XXI	mais ativa - correto

\* A predição para estas 2 moléculas foi incorreta através de PCA, mas também a classificação das mesmas é incorreta pelo uso do mesmo método, independentemente dos diferentes conjuntos de parâmetros utilizados.

A figura VI.12, a seguir, representa o gráfico dos escores das componentes principais, no qual a molécula XVIII foi omitida e, a figura VI.13 representa o mesmo gráfico, no qual a mesma foi reposta.

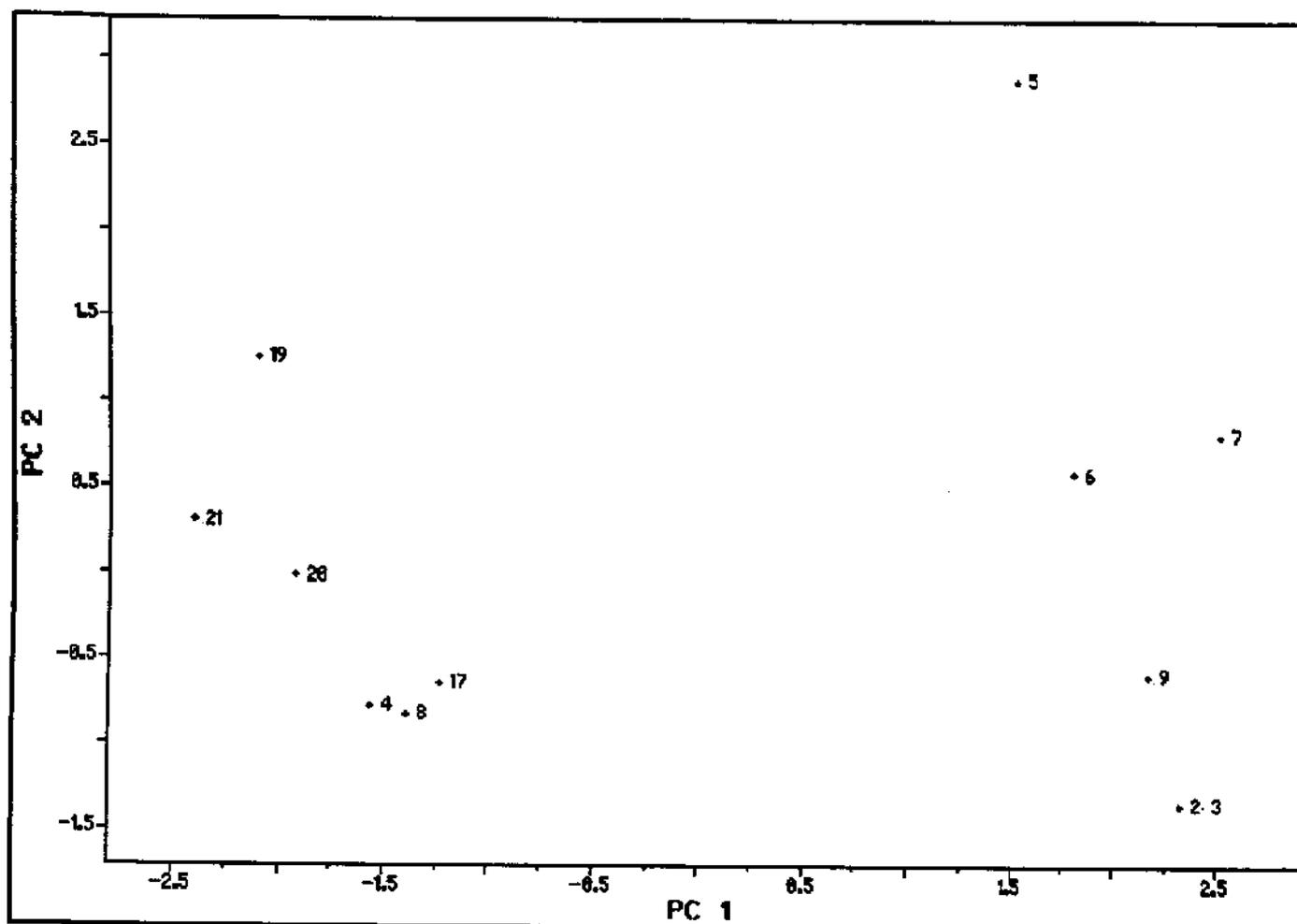


Figura VI.12 - Gráfico dos escores das componentes principais, no qual a molécula XVIII foi omitida, onde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 19, 20 e 21 representam as moléculas I, II, III,....., IX e XVII,....., XXI. No lado direito estão as moléculas menos ativas e no lado esquerdo as mais ativas.

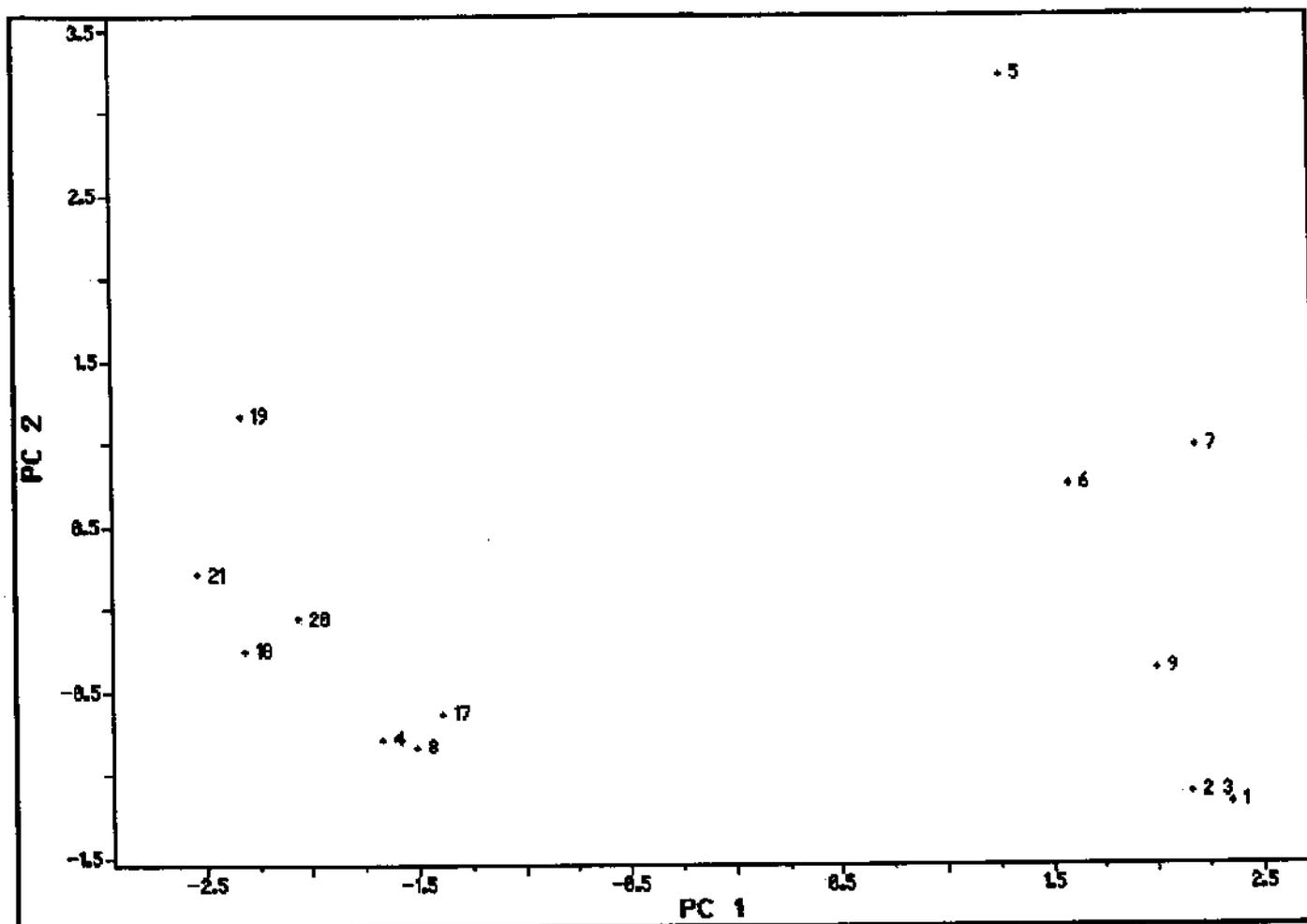


Figura VI.13 – Gráfico dos escores das componentes principais, no qual a molécula XVIII foi repostada, onde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 18, 19, 20 e 21 representam as moléculas I, II, III,...., IX e XVII,...., XXI. No lado direito estão as moléculas menos ativas e no lado esquerdo as mais ativas.

Como pode ser visto, no gráfico VI.13, a molécula XVIII é classificada como mais ativa, corretamente, de acordo com sua categoria.

Exemplificando mais um caso, de análise preditiva, por análise de componentes principais, mostramos a figura VI.14, a seguir, que representa o gráfico dos escores das componentes principais, no qual a molécula IV foi omitida e, a figura VI.15 representa o mesmo gráfico, no qual a mesma foi reposta.

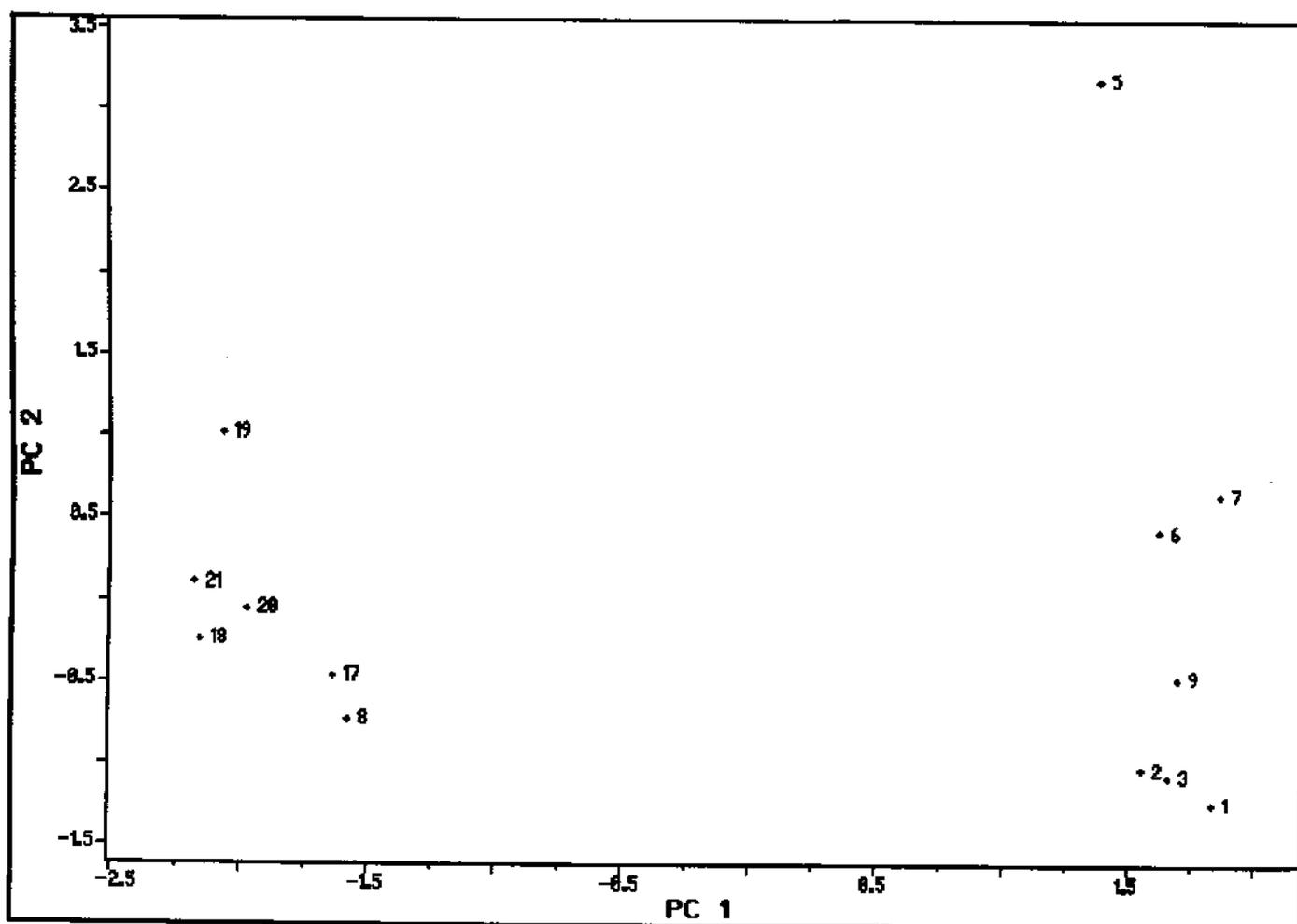


Figura VI.14 - Gráfico dos escores das componentes principais, no qual a molécula IV foi omitida, onde 1, 2, 3, ... , 9 e 17, ..., 21 representam as moléculas I, II, III, ..., IX e XVII, ..., XXI. No lado direito estão as moléculas menos ativas e no lado esquerdo as mais ativas.

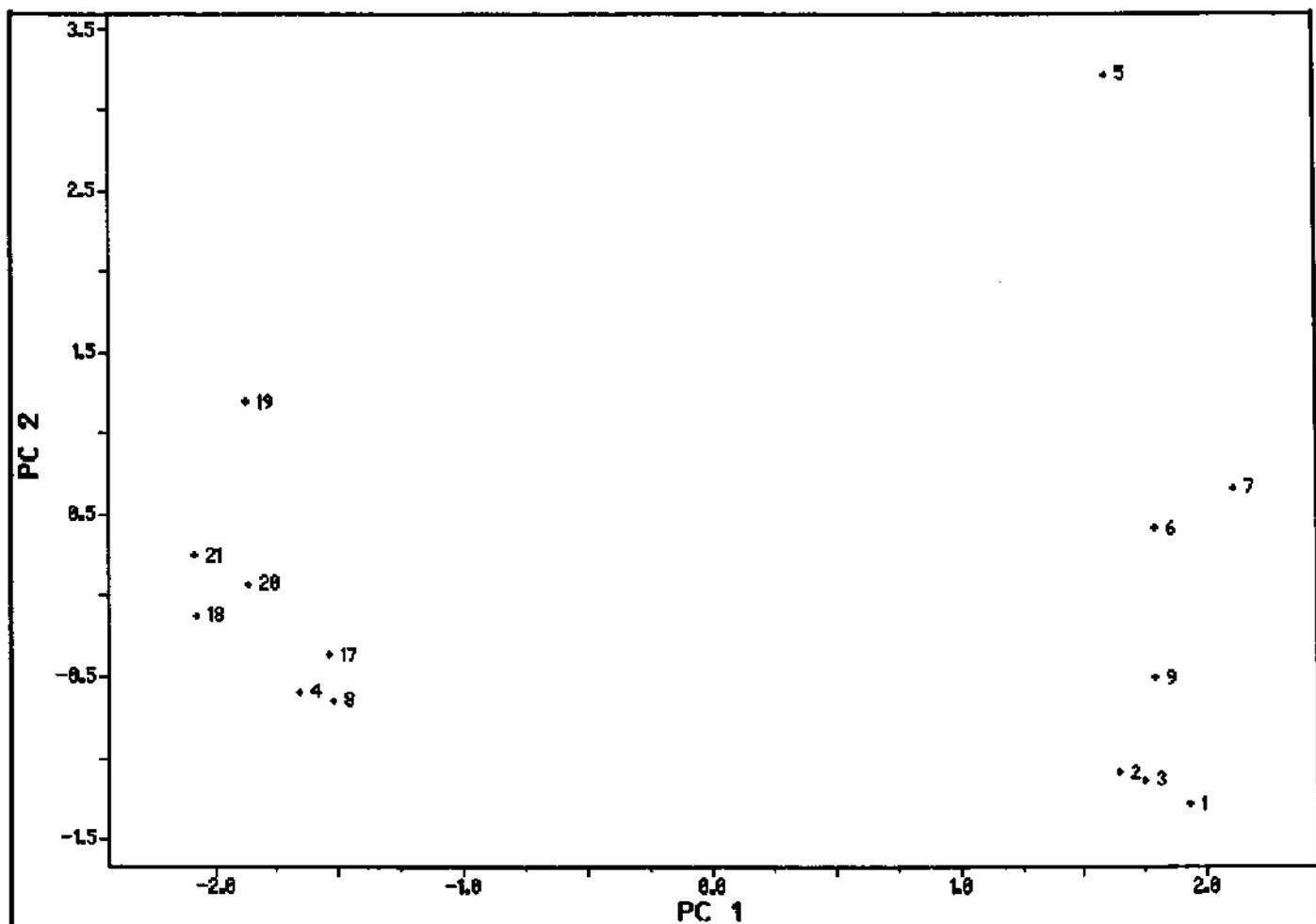


Figura VI.15 – Gráfico dos escores das componentes principais, no qual a molécula IV foi repostada, onde 1, 2, 3, ... , 9 e 17, ..., 21 representam as moléculas I, II, III, ..., IX e XVII, ..., XXI. No lado direito estão as moléculas menos ativas e no lado esquerdo as mais ativas.

Como pode ser visto, no gráfico VI.15, a previsão da categoria da molécula IV é incorreta. Pode-se observar também que nos gráficos VI.12 e VI.13 sua classificação também é incorreta. Como os parâmetros selecionados, para os subconjuntos moleculares, não conseguem classificá-la corretamente, é de se esperar que a previsão de sua categoria também seja incorreta.

## **VI.4 - SAR através da utilização de rede neural para as 17 $\alpha$ - acetoxiprogesteronas substituídas**

A metodologia empregada nos cálculos através de rede neural é diversa da utilizada na análise de componentes principais (PCA). Porém, o objetivo destes dois métodos completamente distintos é comum: separar grupos moleculares em diferentes categorias baseados em seus parâmetros físico-químicos, designados neurônios na terminologia da rede neural. Os fundamentos do modelo da rede neural estão discutidos no capítulo III.

### **VI.4.1 - Aplicação de rede neural para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, utilizando 11 parâmetros físico-químicos.**

Nosso objetivo, neste item, é comparar os dois métodos, PCA e rede neural, utilizando-se os mesmos 11 parâmetros empregados nos cálculos de PCA, item VI.1.

Para a criação do modelo de rede neural, utilizou-se o programa PSDD (Perceptron-type Neural Network Simulator) (119, 120, 121, 122, 123, 124), obtido do QCPE 615 (Quantum chemistry Program Exchange, Program No. 615) (125). O modelo neural inicial é treinado para reproduzir as classificações moleculares, de acordo com suas categorias. Os resultados deste

treinamento estão reproduzidos nos vetores chamados “padrão de saída” nas tabelas VI.3, VI.4, VI.5 e VI.6, a seguir. Utilizando-se as mesmas variáveis do “padrão de saída”, testamos o modelo de previsão, chamado classificação prevista nas tabelas a seguir, pelo método “leave one out”. Este método retira sequencialmente cada um dos compostos do conjunto e prevê a sua posição relativa ao modelo criado, a partir dos restantes.

Repetimos, através da utilização de rede neural, a mesma análise efetuada no item VI.1 (com o método de PCA), para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. Dividimos, como no item VI.1, o grupo das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas em 2 subconjuntos: o primeiro subconjunto formado pelas moléculas I, II, ..., IX e XVII, ..., XXI, moléculas menos e mais ativas, respectivamente do conjunto original; o segundo subconjunto formado pelas moléculas I, II, ..., XXI. Posteriormente, adicionamos mais 2 moléculas, ambas inativas, que correspondem aos números XXII e XXIII, completando o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

Os resultados obtidos, através da rede neural, estão apresentados a seguir, onde a tabela VI.3 os listam para o primeiro subconjunto, a tabela VI.4 e VI.5, para o segundo subconjunto e a tabela VI.6, para as 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, respectivamente.

Tabela VI.3 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 14 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. N<sup>o</sup> representa o número de moléculas utilizadas; item representa a numeração empregada para as moléculas (que é a mesma utilizada no item VI.1); categoria 1 representa as moléculas menos ativas, categoria 2 representa moléculas mais ativas; padrão de treinamento 1 0 corresponde às moléculas menos ativas, 0 1 às moléculas mais ativas; padrão de saída é a classificação obtida após treinamento da rede e classificação prevista é a previsão da classificação para determinada molécula, após a mesma ser retirada do grupo e posteriormente devolvida ao mesmo.

ALPHA=12 HALPHA=13 no. neurônios da 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> camadas = 11

N <sup>o</sup>	Item	categoria	Padrão de treinamento	padrão de saída	classificação prevista
1	I	1	1 0	1.000 0.000	0.999 0.000
2	II	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
3	III	1	1 0	1.000 0.000	0.941 0.024
4	IV	1	1 0	0.991 0.001	0.998 0.040
5	V	1	1 0	0.991 0.001	0.612 0.285
6	VI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
7	VII	1	1 0	0.986 0.000	0.981 0.043
8	VIII	1	1 0	0.991 0.001	0.990 0.005
9	IX	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
10	XVII	2	0 1	0.001 0.988	0.000 1.000
11	XVIII	2	0 1	0.002 0.986	0.004 1.000
12	XIX	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
13	XX	2	0 1	0.000 0.999	0.000 0.999
14	XXI	2	0 1	0.000 0.997	0.000 0.988
<b>Porcentagem de acerto</b>				100%	100%

Para o primeiro subconjunto das 17 $\alpha$ - acetoxiprogesteronas, composto por 14 moléculas, os padrões de atividade foram 100% reproduzidos pelo modelo de rede neural, não ocorrendo nenhuma classificação errada. No caso da análise de componentes principais (PCA), item VI.1, ocorreram duas

classificações erradas, moléculas IV e VIII, para este mesmo subconjunto molecular, ocorrendo portanto 86% de acerto nos padrões de atividade. Para este subconjunto molecular, o método da rede neural mostrou-se mais vantajoso que PCA no caso da análise de padrões de atividade.

Na classificação prevista dos compostos, por exclusão sucessiva de cada um deles, o modelo também acertou 100% das classificações dos 14 compostos. Embora a molécula V não tenha seu vetor de saída, no caso preditivo, muito próximo a 1 0, como no padrão de treinamento, também não podemos dizer que a previsão de sua classificação seja incorreta.

Tratamento estatístico similar foi realizado através do método de PCA no item VI.3. Como PCA não foi capaz de classificar corretamente as moléculas IV e VIII, a previsão da classificação destas mesmas moléculas foram incorretas.

Portanto, tanto no modelo de classificação não-preditiva quanto preditiva o método de rede neural foi superior ao método de PCA, alcançando 100% de classificação correta nos dois modelos, enquanto PCA alcançou 86% de classificação correta em ambos os modelos, com os mesmos parâmetros físico-químicos.

Para fins de testar a capacidade de classificação, através de rede neural, com a variação do número de neurônios na segunda camada da rede,

aumentamos para 14, 16 e 22 neurônios a respectiva camada e mantivemos o número de parâmetros. Com 14 neurônios na segunda camada, o modelo não-preditivo errou a classificação de 2 moléculas (moléculas V e VII); com 16 neurônios, o mesmo modelo errou a classificação de 1 molécula (molécula V); com 22 neurônios, tal modelo errou a classificação de todas as moléculas. Para este subconjunto molecular, o aumento de neurônios na segunda camada não melhorou a qualidade da classificação. É oportuno observar que o aumento do número de neurônios na segunda camada eleva consideravelmente o tempo computacional despendido na realização dos cálculos.

Inserindo mais 7 moléculas no primeiro subconjunto molecular, moléculas X, XI, XII, XIII, XIV, XV e XVI, obtemos o segundo subconjunto molecular. Para efeito de comparação com o método de PCA, usaremos os mesmos parâmetros físico-químicos selecionados para o primeiro subconjunto de 14 moléculas e os mesmos  $\alpha$  e  $H\alpha$  (parâmetros de não-linearidade). Ou seja, manteremos as mesmas condições iniciais, como em PCA, com a finalidade de verificar qual a predição em categorias, segundo o método de rede neural, ocorrerá para as 7 moléculas adicionadas. Os resultados estão na tabela VI.4.

Tabela VI.4 - Resultados da predição em categorias obtidos, com o método de rede neural, para as sete  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas adicionadas.

ALPHA=12 HALPHA=13 no. neurônios da 1ª e 2ª camadas = 11

Nº	Item	categoria	Padrão de treinamento	Padrão de saída	Classificação prevista
1	I	1	1 0	1.000 0.000	
2	II	1	1 0	1.000 0.000	
3	III	1	1 0	1.000 0.000	
4	IV	1	1 0	0.991 0.001	
5	V	1	1 0	0.991 0.001	
6	VI	1	1 0	1.000 0.000	
7	VII	1	1 0	0.986 0.000	
8	VIII	1	1 0	0.991 0.001	
9	IX	1	1 0	1.000 0.000	
10	XVII	2	0 1	0.001 0.988	
11	XVIII	2	0 1	0.002 0.986	
12	XIX	2	0 1	0.000 1.000	
13	XX	2	0 1	0.000 0.999	
14	XXI	2	0 1	0.000 0.997	
<b>Predição</b>					
15	X	1			1.000 0.000
16	XI	1			1.000 0.000
17	XII	1			1.000 0.000
18	XIII	1			0.994 0.000
19	XIV	2			0.000 1.000
20	XV	1			1.000 0.000
21	XVI	1			0.999 0.000

Das 7 moléculas adicionadas, somente a molécula XIV foi classificada como mais ativa, pelo método de rede neural. O mesmo resultado foi obtido com PCA, cujo método classificou exatamente da mesma maneira as 7 moléculas adicionadas e cujos resultados já foram discutidos anteriormente.

Continuando nossos estudos para este subconjunto de 21 moléculas, procuramos encontrar alguns parâmetros (operacionais da rede neural) que pudessem proporcionar melhor ajuste da rede e conseqüentemente que pudessem reproduzir mais acertadamente as classificações relativas às categorias moleculares.

O melhor ajuste da rede foi obtido com  $\alpha = 12$  e  $H\alpha = 14,5$ . Os resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 21  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas com  $\alpha = 12$  e  $H\alpha = 14,5$  estão na tabela VI.5.

Tabela VI.5 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 21 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

ALPHA=12 HALPHA=14,5 no. neurônios da 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> camadas = 11

Nº	Item	categoria	padrão de treinamento	padrão de saída	classificação prevista
1	I	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
2	II	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
3	III	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
4	IV	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
5	V	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
6	VI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
7	VII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
8	VIII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
9	IX	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
10	X	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
11	XI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
12	XII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
13	XIII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
14	XIV	1	1 0	0.000 1.000	0.000 1.000
15	XV	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
16	XVI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
17	XVII	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
18	XVIII	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
19	XIX	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
20	XX	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
21	XXI	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
<b>Porcentagem de acerto</b>				95%	95%

Como pode ser visto na tabela VI.5, para o segundo subconjunto das 17 $\alpha$ - acetoxiprogesteronas, composto por 21 moléculas, os padrões de atividade foram 95% reproduzidos pelo modelo de rede neural, ocorrendo uma classificação errada (molécula XIV). No caso da análise de componentes principais (PCA), item VI.1, ocorreram três classificações erradas, moléculas IV, VIII e XIV, para este mesmo subconjunto molecular, ocorrendo portanto 86% de acerto nos padrões de atividade.

Também para este subconjunto molecular, o método da rede neural mostrou-se mais vantajoso que PCA no caso da análise de padrões de atividade.

Na classificação prevista dos compostos, por exclusão sucessiva de cada um deles, o modelo errou 1 classificação num total de 21 compostos, correspondendo a 95% de acerto. A previsão errada foi para o composto XIV. O composto XIV foi previsto como mais ativo, contrariamente à sua categoria, pelo modelo da rede neural. Não foi realizado tratamento estatístico similar através do método de PCA, não possibilitando estudo comparativo entre métodos preditivos.

Adicionando-se mais duas moléculas ao segundo subconjunto, moléculas XXII e XXIII, obtemos o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas, cujos resultados da classificação obtida com o método de rede neural, estão na tabela VI.6.

Tabela VI.6 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

ALPHA=10 HALPHA=12,5 no. neurônios da 1ª e 2ª camadas = 11

Nº	Item	categoria	padrão de treinamento	padrão de saída	classificação prevista
1	I	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
2	II	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
3	III	1	1 0	0.999 0.000	1.000 0.000
4	IV	1	1 0	0.999 0.001	0.998 0.003
5	V	1	1 0	0.999 0.000	0.953 0.060
6	VI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
7	VII	1	1 0	0.999 0.000	0.993 0.003
8	VIII	1	1 0	0.999 0.001	0.999 0.001
9	IX	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
10	X	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
11	XI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
12	XII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
13	XIII	1	1 0	1.000 0.000	0.999 0.001
14	XIV	1	1 0	0.000 0.002	0.000 1.000
15	XV	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
16	XVI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
17	XVII	2	0 1	0.002 0.999	0.459 0.559
18	XVIII	2	0 1	0.002 0.999	0.001 0.999
19	XIX	2	0 1	0.000 0.998	0.000 1.000
20	XX	2	0 1	0.001 0.997	0.000 1.000
21	XXI	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
22	XXII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
23	XXIII	1	1 0	0.999 0.001	0.999 0.001
<b>Porcentagem de acerto</b>				95%	95%

Para o conjunto das 17 $\alpha$ - acetoxiprogesteronas, composto por 23 moléculas, os padrões de atividade foram 95% reproduzidos pelo modelo de rede neural, ocorrendo, novamente, uma classificação errada para a molécula XIV. No caso da análise de componentes principais (PCA), item VI.1, ocorreram cinco classificações erradas, moléculas IV, VIII, XIV, XXII e

XXIII, para este conjunto molecular, ocorrendo portanto 78% de acerto nos padrões de atividade.

Mais uma vez, para este conjunto molecular, o método da rede neural mostrou-se mais vantajoso que PCA no caso da análise de padrões de atividade.

Na classificação prevista dos compostos, por exclusão sucessiva de cada um deles, o modelo errou 1 classificação num total de 23 compostos, correspondendo a 95% de acerto. A previsão errada foi, novamente, para o composto XIV.

Resumidamente, tabelamos os percentuais de acerto, na classificação molecular em categorias:

- Para o modelo não preditivo, através dos métodos de PCA e rede neural (ReNe), Tabela VI.7.
- Para o modelo preditivo, através dos métodos de PCA e ReNe, tabela VI.8.

Tabela VI.7 - Percentual (%) de acerto na classificação molecular, através de modelo não preditivo, utilizando PCA e ReNe, para o subconjunto das 14 (sc-14) e 21 (sc-21)  $17\alpha$  - acetoxiprogesteronas e para o conjunto das 23 (cj-23)  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

% de acerto	sc-14	sc-21	cj-23
ReNe	100%	95%	95%
PCA	86%	86%	78%

Tabela VI.8- Percentual (%) de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo, utilizando PCA e ReNe, para o subconjunto das 14 (sc-14) e 21 (sc-21) 17 $\alpha$  - acetoxiprogesteronas e para o conjunto das 23 (cj-23) 17 $\alpha$  - acetoxiprogesteronas substituídas.

<b>% de acerto</b>	<b>sc-14</b>	<b>sc-21</b>	<b>cj-23</b>
ReNe	100%	95%	95%
PCA	86%	NC*	NC*

\* NC – Não Calculado

**VI.4.2 – SAR através da utilização de rede neural para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, utilizando 4 parâmetros físico-químicos.**

Através dos cálculos de análise de componentes principais (PCA), item VI.1, selecionamos 11 parâmetros físico- químicos, responsáveis pela separação das 17 $\alpha$ - acetoxiprogesteronas em categorias e aplicamos, no item VI.4.1, cálculos de rede neural, utilizando-se os mesmos 11 parâmetros, para efeito de comparação entre os métodos.

Neste item, eliminamos alguns dos 11 parâmetros selecionados por PCA, precisamente 7 parâmetros e mantivemos somente 4 dos 11 inicialmente selecionados. O critério de eliminação foi a observação, nos gráficos dos loadings, figuras VI.2, VI.5 e VI.8, da disposição dos parâmetros que mais

contribuem para a separação entre o grupos moleculares mais e menos ativos. Assim parâmetros que ocupam a região mais central nos gráficos dos loadings ou parâmetros muito próximos foram eliminados.

O objetivo deste estudo é verificar se os resultados da classificação molecular em categorias por rede neural são influenciados pela redução de parâmetros selecionados por PCA.

Neste estudo, foram mantidos os parâmetros de número 22, 29, 33 e 34 (densidade do orbital de fronteira na posição 3 do EET, densidade do radical de fronteira na posição 10 do EET, densidade do radical de fronteira na posição 17 do EET e carga atômica na posição 6 do EET, respectivamente). Os resultados da aplicação de rede neural estão nas tabelas VI.9, VI.10, e VI.11 , a seguir.

Tabela VI.9 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 14  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. N° representa o número de moléculas utilizadas; item representa a numeração empregada para as moléculas (que é a mesma utilizada no item VI.1); categoria 1 representa as moléculas menos ativas, categoria 2 representa moléculas mais ativas; padrão de treinamento 1 0 corresponde às moléculas menos ativas, 0 1 às moléculas mais ativas; padrão de saída é a classificação obtida após treinamento da rede e classificação prevista é a previsão da classificação para determinada molécula, após a mesma ser retirada do grupo e posteriormente repostas.

ALPHA = 12    HALPHA = 13    no. neurônios na 2ª camada = 11

N°	Item	Categoria	padrão de treinamento	padrão de saída	classificação prevista
1	I	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
2	II	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
3	III	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
4	IV	1	1 0	0.997 0.003	0.973 0.022
5	V	1	1 0	1.000 0.000	0.000 1.000
6	VI	1	1 0	1.000 0.000	0.660 0.339
7	VII	1	1 0	0.999 0.002	0.000 1.000
8	VIII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
9	IX	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
10	XVII	2	0 1	0.003 0.997	0.984 0.016
11	XVIII	2	0 1	0.000 1.000	0.001 0.999
12	XIX	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
13	XX	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
14	XXI	2	0 1	0.000 1.000	0.000 1.000
<b>Porcentagem de acerto</b>				100%	79%

Para este subconjunto, composto por 14 moléculas, os padrões de atividade foram 100% reproduzidos pelo modelo de rede neural; nenhuma classificação errada foi verificada. Neste caso, foram utilizados 4 parâmetros

físico-químicos. Os padrões de atividade também foram 100% reproduzidos quando utilizamos 11 parâmetros, item VI.4.1.

No modelo de classificação prevista dos compostos, por exclusão sucessiva, o modelo errou 3 classificações no total de 14 compostos, correspondendo a 79% de acerto. As previsões erradas foram para os compostos V, VII e XVII.

No modelo de classificação prevista, empregando 11 parâmetros, houve 95% de acerto na previsão de atividade.

Portanto, o uso de menor número de parâmetros, com relação aos selecionados por PCA, influencia (piora) os resultados de classificação preditiva, neste caso.

A tabela VI.10 mostra o percentual (%) de acerto na classificação molecular, para o subconjunto das 14  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, utilizando-se 11 e 4 parâmetros físico-químicos, através do modelo preditivo e não preditivo de rede neural.

Tabela VI.10 - Percentual (%) de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo e não preditivo de rede neural, utilizando 11 e 4 parâmetros físico-químicos, para o subconjunto das 14  $17\alpha$  - acetoxiprogesteronas substituídas.

<b>% de acerto</b>	<b>11 parâmetros</b>	<b>4 parâmetros</b>
<b>modelo preditivo</b>	100%	79%
<b>modelo não-preditivo</b>	100%	100%

Para o segundo subconjunto molecular, composto por 21  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, os resultados da classificação obtida por rede neural, com a utilização de 4 parâmetros físico-químicos, estão na tabela VI.11.

Tabela VI.11 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o subconjunto das 21  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

ALPHA = 12      HALPHA = 14,5      no. neurônios na 2ª camada = 11

Nº	Item	categoria	padrão de treinamento	padrão de saída	classificação prevista
1	I	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
2	II	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
3	III	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
4	IV	1	1 0	0.998 0.002	0.998 0.002
5	V	1	1 0	0.999 0.001	0.000 1.000
6	VI	1	1 0	0.999 0.001	0.999 0.001
7	VII	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
8	VIII	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
9	IX	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
10	X	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
11	XI	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
12	XII	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
13	XIII	1	1 0	0.999 0.001	0.647 0.353
14	XIV	1	1 0	0.998 0.004	0.000 1.000
15	XV	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
16	XVI	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
17	XVII	2	0 1	0.001 0.999	0.000 1.000
18	XVIII	2	0 1	0.001 0.997	0.001 0.999
19	XIX	2	0 1	0.000 0.997	0.499 0.502
20	XX	2	0 1	0.002 0.997	0.049 0.951
21	XXI	2	0 1	0.000 1.000	0.361 0.640
<b>Porcentagem de acerto</b>				100%	90%

Para este subconjunto, composto por 21 moléculas, os padrões de atividade foram 100% reproduzidos pelo modelo de rede neural. Os padrões

de atividade foram 95% reproduzidos quando da utilização de 11 parâmetros, item VI.4.1.

No modelo de classificação prevista dos compostos, por exclusão sucessiva, o modelo errou 2 classificações no total de 21 compostos, correspondendo a 90% de acerto. As previsões erradas foram para os compostos V e XIV. As previsões para as moléculas XIII, XIX e XXI não são incorretas, mas não são tão bem definidas como no caso da utilização de 11 parâmetros. No modelo de classificação prevista, empregando 11 parâmetros, houve 95% de acerto na previsão de atividade.

Portanto, também neste caso, quando utilizamos menor número de parâmetros, há uma redução na porcentagem de acerto na predição das categorias moleculares. Porém, os padrões de atividade foram mais acertados com a utilização de 4 parâmetros.

A tabela VI.12 mostra o percentual (%) de acerto na classificação molecular, para o subconjunto das 21  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, utilizando-se 11 e 4 parâmetros físico-químicos, através do modelo preditivo e não preditivo de rede neural.

Tabela VI.12 - Percentual (%) de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo e não preditivo de rede neural, utilizando 11 e 4 parâmetros físico-químicos, para o subconjunto das 21  $17\alpha$  - acetoxiprogesteronas substituídas.

<b>% de acerto</b>	<b>11 parâmetros</b>	<b>4 parâmetros</b>
<b>modelo preditivo</b>	95%	90%
<b>modelo não-preditivo</b>	95%	100%

A tabela VI.13 lista os resultados, obtidos com 4 parâmetros, através de rede neural, para o conjunto das 23  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

Tabela VI.13 - Resultados da classificação obtida, com o método de rede neural, para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

ALPHA = 10      HALPHA = 12,5      no. neurônios na 2ª camada = 11

Nº	Item	Categoria	padrão de treinamento	padrão de saída	classificação prevista
1	I	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
2	II	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
3	III	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
4	IV	1	1 0	0.998 0.002	0.999 0.001
5	V	1	1 0	0.999 0.001	0.000 1.000
6	VI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
7	VII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
8	VIII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
9	IX	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
10	X	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
11	XI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
12	XII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
13	XIII	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
14	XIV	1	1 0	0.997 0.003	0.000 1.000
15	XV	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
16	XVI	1	1 0	1.000 0.000	1.000 0.000
17	XVII	2	0 1	0.002 0.998	0.000 1.000
18	XVIII	2	0 1	0.001 0.999	0.004 0.996
19	XIX	2	0 1	0.002 0.998	0.485 0.515
20	XX	2	0 1	0.003 0.997	0.047 0.953
21	XXI	2	0 1	0.000 1.000	0.117 0.884
22	XXII	1	1 0	0.999 0.001	1.000 0.000
23	XXIII	1	1 0	0.998 0.002	0.997 0.003
<b>Porcentagem de acerto</b>				100%	91%

Para o conjunto de 23 moléculas, os padrões de atividade foram 100% reproduzidos pelo modelo de rede neural, utilizando-se 4 parâmetros físico-químicos; nenhuma classificação errada foi verificada. Os padrões de atividade foram 95% reproduzidos utilizando-se 11 parâmetros, item VI.4.1.

No modelo de classificação prevista dos compostos, por exclusão sucessiva, o modelo errou 2 classificações no total de 23 compostos,

correspondendo a 91% de acerto, utilizando-se 4 parâmetros. As previsões erradas foram para os compostos V e XIV. A classificação do composto XIX não é incorreta, mas não é tão bem definida como quando utilizamos 11 parâmetros. No modelo de classificação prevista, empregando 11 parâmetros, houve 95% de acerto na previsão de atividade.

Neste caso, mais uma vez, quando utilizamos menor número de parâmetros, houve uma redução no acerto da predição das categorias moleculares. Os padrões de atividade foram mais acertados com a utilização de 4 parâmetros.

A tabela VI.14 mostra o percentual (%) de acerto na classificação molecular, para o subconjunto das 23  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, utilizando-se 11 e 4 parâmetros físico-químicos, através do modelo preditivo e não preditivo de rede neural.

Tabela VI.14 - Percentual (%) de acerto na classificação molecular, através de modelo preditivo e não preditivo de rede neural, utilizando 11 e 4 parâmetros físico-químicos, para o conjunto das 23  $17\alpha$  - acetoxiprogesteronas substituídas.

<b>% de acerto</b>	<b>11 parâmetros</b>	<b>4 parâmetros</b>
<b>modelo preditivo</b>	95%	91%
<b>modelo não-preditivo</b>	95%	100%

Através da análise dos resultados obtidos, utilizando-se 11 e 4 parâmetros físico-químicos, chegamos às seguintes conclusões:

1-) Para o modelo não-preditivo, utilizando rede neural, os resultados de classificação obtidos, através do uso de 4 parâmetros, foram ligeiramente melhores que os obtidos com 11 parâmetros.

2-) No modelo preditivo, os resultados de classificação obtidos, através do uso de 4 parâmetros, foram de pior qualidade quando comparados com os obtidos através da utilização de 11 parâmetros.

3-) Um método de classificação tem utilidade se for capaz de prever as categorias de compostos. Neste sentido, a utilização de todos os parâmetros selecionados por PCA proporciona melhores resultados.

4-) A utilização do gráfico dos loadings, obtido pelo método de análise de componentes principais, pode ser um critério de escolha de parâmetros para rede neural, já que os resultados na classificação molecular, utilizando parâmetros assim obtidos, tiveram boas porcentagens de acerto. Porcentagens essas superiores às obtidas por análise de componentes principais.

Nas tabelas VI.15 e VI.16, reproduzimos as % de acerto na classificação molecular, para o subconjunto de 14 e 21 moléculas e conjunto de 23 moléculas, usando 4 e 11 parâmetros. Na tabela VI.15, o modelo utilizado é o preditivo e na tabela VI.16, o modelo é o não preditivo.

Tabela VI.15 - Percentual de acerto na classificação molecular, para os subconjuntos de 14(sc-14) e 21(sc-21) moléculas e conjunto de 23(cj-23) moléculas, usando 11 e 4 parâmetros. Modelo preditivo.

<b>% de acerto</b>	<b>sc-14</b>	<b>sc-21</b>	<b>sc-23</b>
<b>11 parâmetros</b>	100%	95%	95%
<b>4 parâmetros</b>	79%	90%	91%

Tabela VI.16 - Percentual de acerto na classificação molecular, para os subconjuntos de 14(sc-14) e 21(sc-21) moléculas e conjunto de 23(cj-23) moléculas, usando 11 e 4 parâmetros. O modelo utilizado é o não-preditivo.

<b>% de acerto</b>	<b>sc-14</b>	<b>sc-21</b>	<b>sc-23</b>
<b>11 parâmetros</b>	100%	95%	95%
<b>4 parâmetros</b>	100%	100%	100%

O fato da rede neural classificar com alta porcentagem de acerto o grupo das 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas pode ser atribuído ao modo de operação não-linear da rede. Pode-se observar que os parâmetros selecionados possuem faixas de variação nitidamente correlacionadas com compostos mais e menos ativos, porém nem sempre o aumento ou diminuição de determinado parâmetro implica em aumento ou diminuição proporcional da atividade. O método da rede neural reflete o caráter não linear da relação entre os parâmetros físico-químicos e a atividade progestacional.

## **VI.5 - QSAR através da utilização de rede neural para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.**

A rede neural pode ser utilizada para realizar correlação entre estrutura-atividade (SAR), como visto nos itens anteriores e também correlação quantitativa entre estrutura-atividade (QSAR).

Em geral, o modo de ajuste das equações de regressão múltipla é linear, enquanto que o da rede neural é não-linear, podendo ocorrer ajuste linear em casos especiais.

A estrutura da rede neural usada para correlação quantitativa é a mesma utilizada para a classificação em categorias, exceto no fato de que o número de neurônios na 3<sup>a</sup> camada é um. O modo como opera a rede no caso de QSAR e suas equações estão no capítulo III.

Valores relativos de atividade biológica para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas estão na tabela II.10, capítulo II.

Iniciamos os cálculos de treinamento da rede, utilizando os 11 parâmetros selecionados por PCA. Treinar a rede significa fazer com que a mesma reproduza os valores relativos de atividade biológica para as 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

Testamos diferentes valores de alpha, parâmetro de não-linearidade. Começamos com seu valor default (igual a 1.0) e aumentamos seu valor

sistematicamente, variando de 5.0 a 40.0 de 5 em 5 unidades. Os melhores resultados foram encontrados para alpha igual a 10.0, na tabela VI.17.

Tabela VI.17 - Análise QSAR para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. N<sup>0</sup> representa a numeração empregada para as moléculas (que é a mesma utilizada no item VI.1); intensidade de saída é o valor da intensidade obtida após treinamento da rede e intensidade prevista é a previsão da intensidade para determinada molécula, após a mesma ser retirada do grupo e, posteriormente, reposta.

ALPHA=10 No. neurônios na 2<sup>a</sup> camada = 22

N <sup>0</sup>	intensidade de saída	intensidade prevista
I	0.7687	6.3102
II	-0.1952	-0.1395
III	-0.0731	-7.0658
IV	0.2080	1.1995
V	0.0156	-2.3686
VI	0.3861	2.2427
VII	0.8731	27.1134
VIII	0.8661	0.3402
IX	0.8626	4.1418
X	2.4086	4.2978
XI	2.3028	2.3222
XII	5.9400	8.3702
XIII	5.9206	-8.7302
XIV	7.9470	18.9306
XV	7.9344	6.6085
XVI	7.7999	11.711
XVII	9.9014	-2.6106
XVIII	11.9090	29.8671
XIX	14.9477	29.8654
XX	34.9214	27.9020
XXI	49.9247	36.2263
XXII	-0.0634	0.6387
XXIII	-0.2691	-0.0926
$\delta$	0.13	5.98
$s$	12.17	13.05
$s^2$	148.17	170.36

$\delta$  é o desvio-médio,  $s$  é o desvio-padrão e  $s^2$  é a variância.

Como podemos observar na tabela VI.17 , os valores de intensidade de saída, de um modo geral, são aceitáveis. Algumas valores, como para as moléculas II, III e V são distantes dos experimentais. Porém, estes valores calculados são pequenos, e apesar de não reproduzirem os valores experimentais, também não superestimam os mesmos. Os valores negativos calculados de intensidade para as moléculas II e III indicam tão somente que estes valores são pequenos.

Já o modelo preditivo, leave one out, não é capaz de prever, de um modo geral, a intensidade correspondente a cada molécula. Na tentativa de encontrar melhores resultados, mantivemos o valor de alpha igual a 10 e variamos o número de neurônios da 2ª camada para 33, 44 e 55. Como pode ser visto na tabela VI.18, onde empregamos 44 neurônios na 2ª camada, nenhuma melhora nos resultados foi observada.

Tabela VI.18 – Análise QSAR para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas. N<sup>o</sup> representa a numeração empregada para as moléculas (que é a mesma utilizada no item V.1); intensidade de saída é o valor da intensidade obtida após treinamento da rede e intensidade prevista é a previsão da intensidade para determinada molécula, após a mesma ser retirada do grupo e, posteriormente, reposta.

ALPHA=10 No. neurônios na 2<sup>a</sup> camada = 44

N <sup>o</sup>	intensidade de saída	Intensidade prevista
I	0.9989	4.2136
II	0.0909	0.5762
III	0.2148	-6.8662
IV	-0.1262	-1.3191
V	0.0282	10.1683
VI	0.3934	-5.4920
VII	0.8979	20.1680
VIII	0.8380	-0.6871
IX	0.7969	1.4901
X	2.3034	0.1492
XI	2.3682	1.0072
XII	5.8851	6.8860
XIII	5.8740	0.4556
XIV	7.8624	21.5012
XV	7.7831	8.6896
XVI	7.7895	8.6456
XVII	9.8319	-1.2175
XVIII	11.8473	36.6493
XIX	14.9049	37.9224
XX	34.8624	22.5307
XXI	49.8644	29.9439
XXII	-0.1033	2.4545
XXIII	-0.0038	1.9313
$\delta$	0.13	7.41
$s$	12.14	13.02
$s^2$	147.38	169.52

Ainda na tentativa de melhores resultados, principalmente nos que se referem à intensidade prevista, variamos o valor de epsilon ( $\epsilon$ ) para 0.1, 0.2 e 0.3. O valor default de  $\epsilon$  é de 0.15. Os melhores resultados foram obtidos para  $\epsilon=0.2$ , ilustrados na tabela VI.19. Mesmo assim os valores previstos de intensidade não resultaram satisfatórios.

Tabela VI.19 - Análise QSAR para o conjunto das 23 17 $\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas.

ALPHA=10 No. neurônios na 2ª camada = 22  $\epsilon=0.2$

N <sup>o</sup>	intensidade de saída	Intensidade prevista
I	0.9993	-0.4302
II	0.0853	0.9735
III	0.2175	0.5515
IV	0.2916	-0.2154
V	0.2906	49.2471
VI	0.6126	0.3151
VII	0.8947	8.8957
VIII	1.0031	0.3280
IX	0.8797	4.3327
X	2.3938	8.7641
XI	2.3108	6.1897
XII	5.8075	-4.3982
XIII	5.8329	-10.0408
XIV	7.9994	22.3474
XV	7.8433	10.0747
XVI	7.8142	0.2910
XVII	9.9632	7.0729
XVIII	11.9784	33.3006
XIX	14.9393	8.2074
XX	34.9547	15.5923
XXI	49.9702	35.6704
XXII	-0.0665	0.4830
XXIII	-0.1082	-0.2632
$\delta$	0.082	8.27
$s$	11.87	13.85
$s^2$	140.90	191.82

Os valores de intensidade de saída são bastante satisfatórios. O mesmo não ocorre com os valores para a intensidade prevista. Não achamos, no entanto, justificativa para o modelo preditivo de intensidade não reproduzir os valores de atividade.

## **CAPÍTULO VII - Afinidade de Ligação por Receptores de Progesterona e**

### **Afinidade de Ligação por Receptores de Androgênio.**

#### **VII.1 - Afinidade de Ligação por Receptores de Progesterona**

Como citado no capítulo II, item II.1, para um progestogênio exercer seu efeito progestacional, ele deve primeiro ligar-se a um receptor de progesterona (RP). Similarmente, para um progestogênio induzir uma resposta androgênica, ele deve primeiro ligar-se a um receptor de androgênio (RA). Estudos de ligação com o receptor medem a *afinidade* de um esteróide particular por um receptor. Devemos lembrar que a afinidade relativa de uma substância por um receptor particular é somente uma determinação de seu efeito farmacológico. A resposta biológica para tal agente é também afetada por suas propriedades farmacocinéticas.

Valores de afinidade de ligação por receptores de progesterona e de afinidade de ligação por receptores de androgênio encontram-se no capítulo II, item II.3, tabela II.11, para os progestogênios estudados neste capítulo.

Como pode ser observado nesta tabela, a molécula I, dihidrotestosterona (DHT), apresenta a menor afinidade de ligação por RPs da série. As moléculas II, III e IV (progesterona, 17-acetil norgestimato e norgestimato,

respectivamente) apresentam valores de afinidade de ligação por RPs de uma ordem de 10, 11 e 13 vezes maior, respectivamente, que o da molécula I, DHT. As moléculas V, VI e VII (levonorgestrel, 3-ceto desogestrel e gestodene, respectivamente) apresentam valores de afinidade de ligação por RPs de uma ordem de grandeza de aproximadamente cinquenta e quatro, oitenta e seis e noventa e duas vezes maior, respectivamente, que o da molécula I, DHT.

O valor de afinidade de ligação por RPs da molécula I, DHT, é distanciado dos valores das moléculas II, III e IV, que possuem valores próximos entre si da mesma, como mencionado anteriormente. As moléculas VI e VII também possuem valores próximos entre si de afinidade de ligação por RPs e distantes do valor da molécula I e das moléculas II, III e IV. A molécula V possui afinidade de ligação por RPs intermediária entre as moléculas II, III e IV e VI e VII.

Apesar das grandes diferenças relativas nos valores de afinidade de ligação por RPs, entre as moléculas deste grupo, a grosso modo, podemos classificar a molécula I, DHT, como menos ativa, por possuir a menor afinidade de ligação por RPs da série e as moléculas II, III, IV, V, VI e VII como mais ativas por motivos óbvios. Porém, para que possamos reproduzir melhor essas diferenças nas afinidades de ligação relativas por RPs, tentaremos trabalhar com este grupo molecular da seguinte maneira: separar a molécula I, DHT, das

demais moléculas desta série (por esta apresentar a mais baixa afinidade de ligação por RPs da série); agrupar as moléculas II, III e IV (devido as mesmas apresentarem afinidades de ligação por RPs bem próximas entre si); agrupar as moléculas VI e VII (também por apresentarem afinidades de ligação por RPs próximas entre si e com valores distantes das moléculas I, II, III e IV) e conduzir a molécula V a uma posição intermediária, no gráfico dos escores das componentes principais, entre o grupo formado pelas moléculas II, III e IV e o grupo formado pelas moléculas VI e VII (já que a mesma possui valor intermediário, entre estes grupos, de afinidade de ligação por RPs). A afinidade de ligação relativa por RPs pode ser vista na figura VII.1.

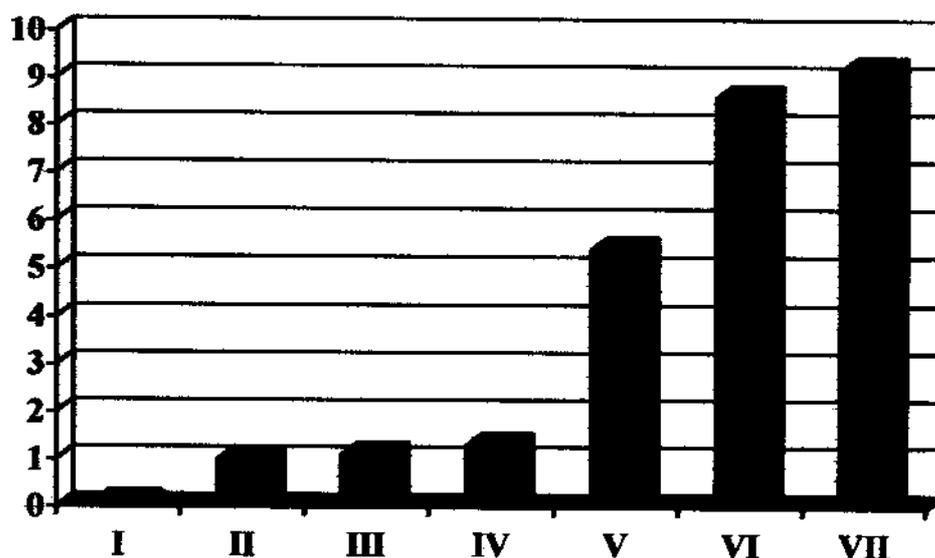


Fig. VII.1 – Afinidade de ligação relativa por receptores de progesterona.

Mais uma vez, pretendemos encontrar qual(is) as propriedades moleculares responsáveis pela maior (ou menor) afinidade de ligação por RPs. Usamos, para esse estudo, os métodos de reconhecimento de padrões como Análise de Componentes Principais (PCA) e Agrupamento Hierárquico (Hier) contidos no programa Pirouette (42).

A seguir, podemos ver os resultados obtidos, utilizando os métodos de PCA e Hier. A figura VII.2 representa o gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), a figura VII.3 representa o gráfico dos loadings das PCs e a figura VII.4 , o diagrama do agrupamento hierárquico.

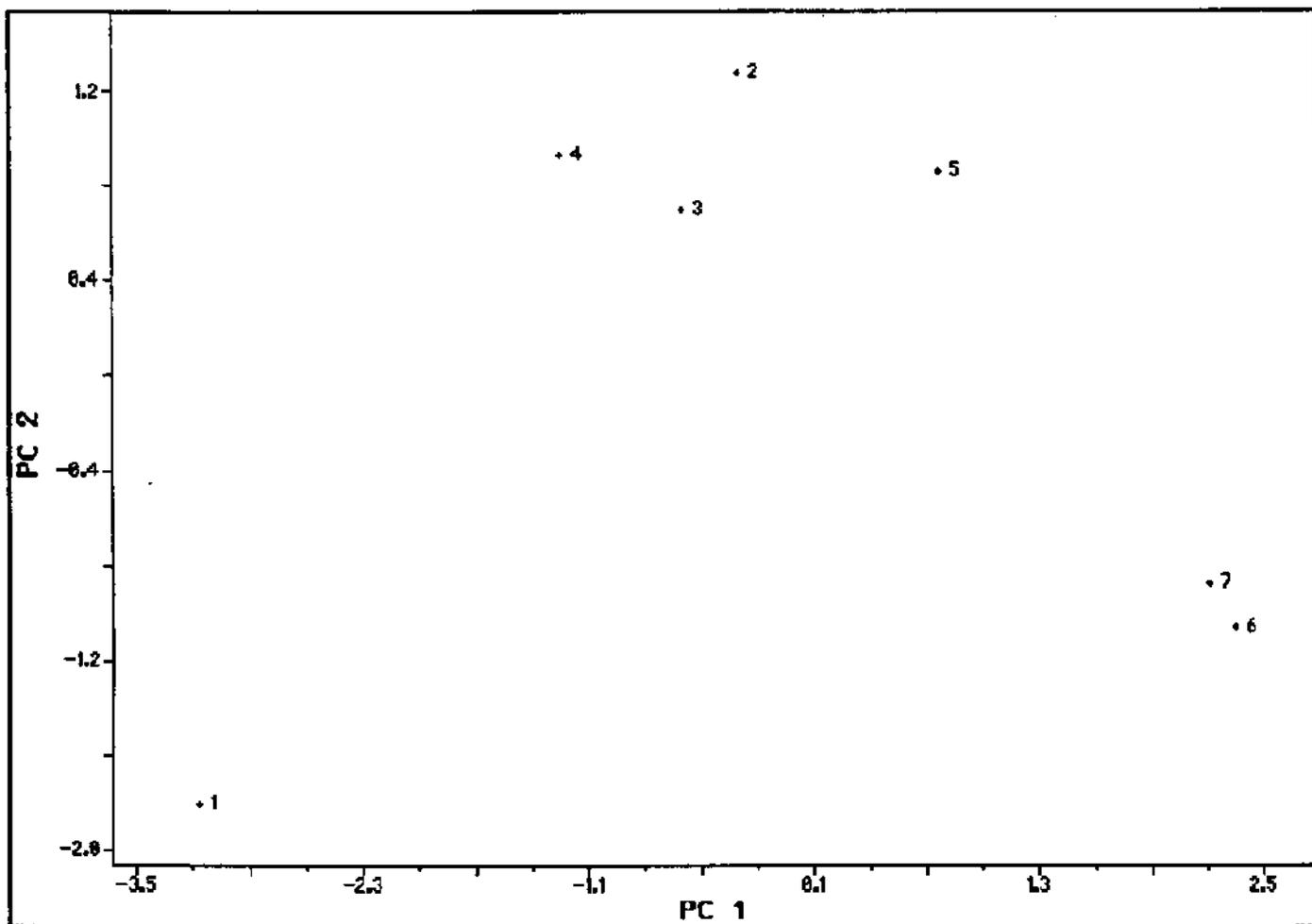
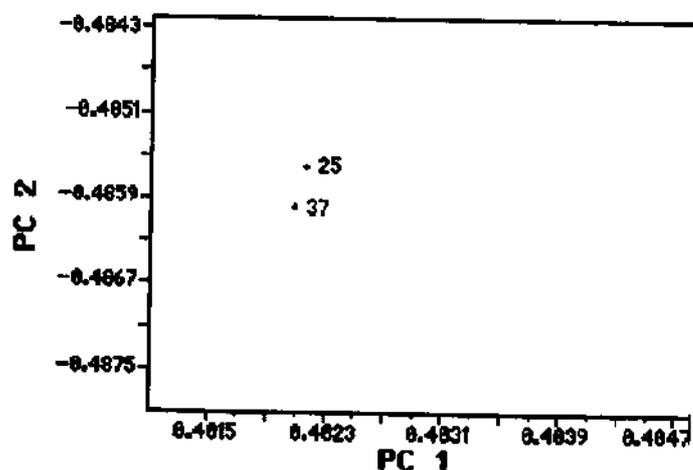
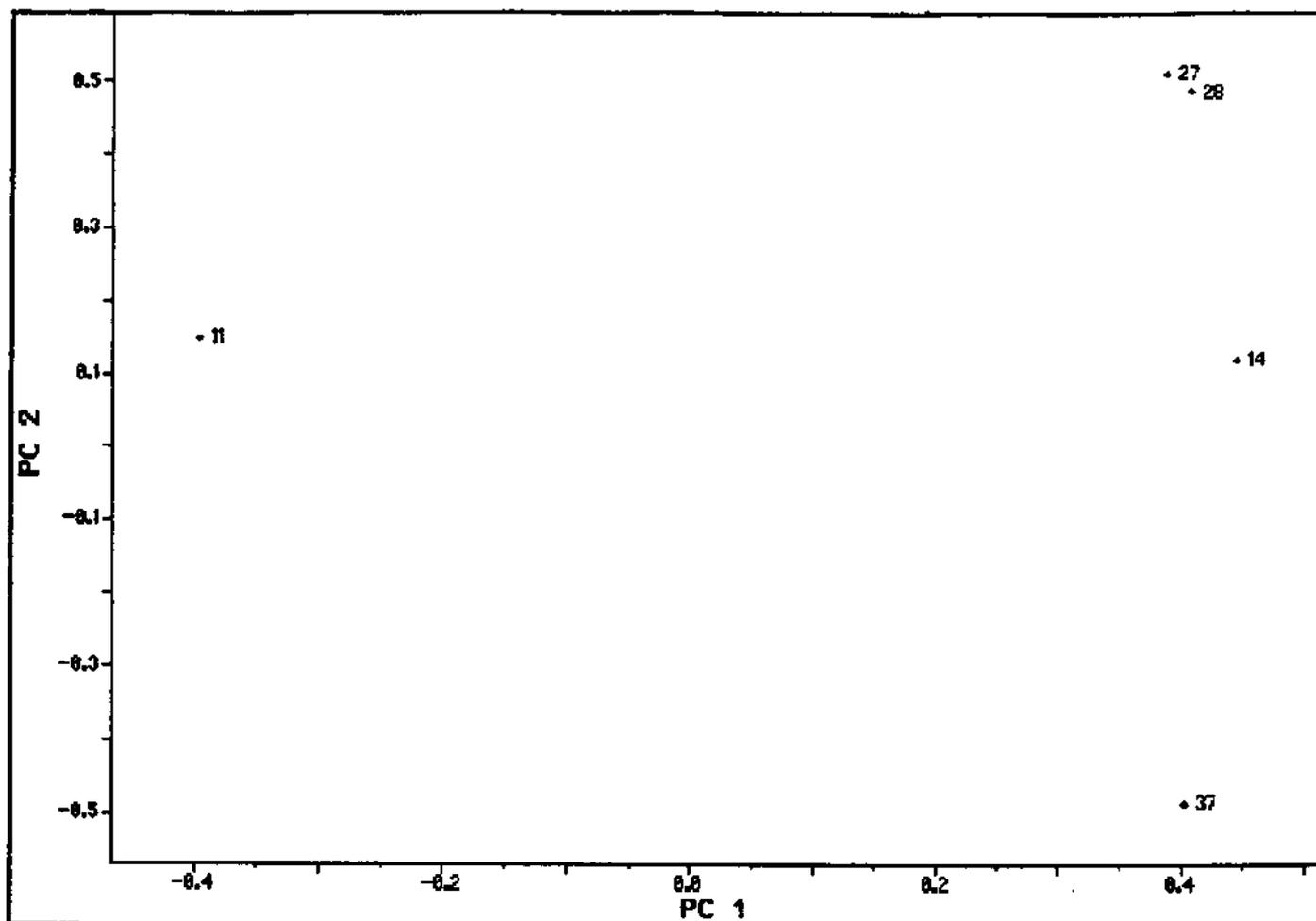


Figura VII.2 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), onde seis parâmetros físico-químicos foram utilizados; 1,2,3,...7 são os progesterônios (I),(II),(III)...(VII), respectivamente.



Detalhe da fig.VII.3, mostrando os parâmetros 25 e 37 coincidentes

Figura VII.3 - Gráfico dos loadings, utilizando seis parâmetros físico-químicos, onde 11 e 14 representam a carga atômica nas posições 13 e 16, respectivamente do esqueleto esteroidal (EET); 25 representa a densidade do elétron de fronteira na posição 13 do EET; 27 e 28 representam a densidade do orbital de fronteira nas posições 4 e 5, respectivamente do EET e 37 representa a densidade do radical de fronteira na posição 13 do EET.

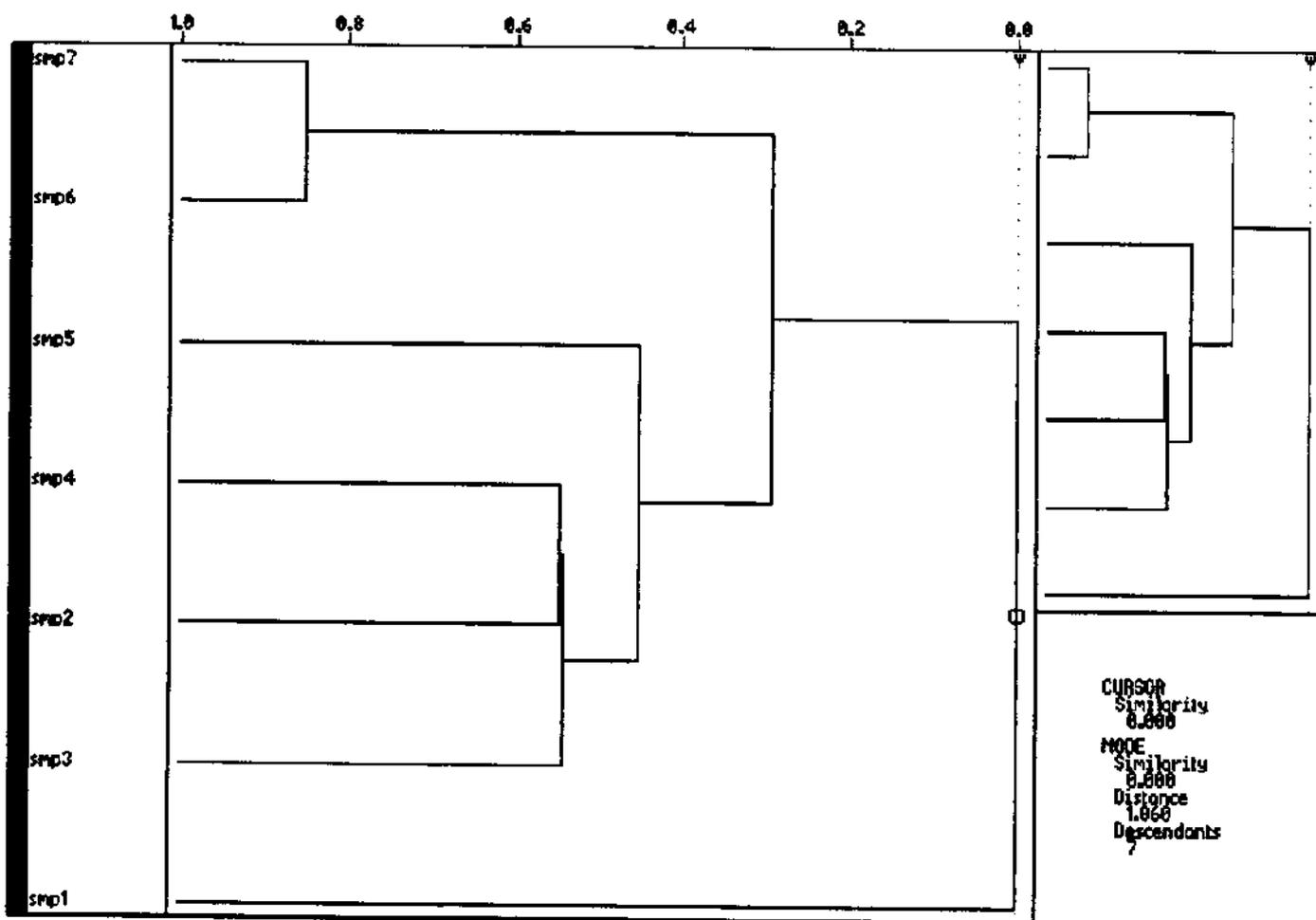


Figura VII.4 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, ... VII, obtido com seis parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp7 representam os progestogênios I, II, ... VII, respectivamente .

Como pode ser observado no gráfico VII.2, gráfico dos escores das duas PCs, ocorreu a separação da molécula I das demais moléculas da série; ocorreu também o agrupamento das moléculas II, III e IV na região superior deste gráfico; as moléculas VI e VII ficaram agrupadas numa região mais abaixo, à direita deste mesmo gráfico e a molécula V numa região praticamente intermediária entre as moléculas II, III e IV e moléculas VI e VII.

Através do gráfico VII.3, dos loadings das PCs, podemos atribuir os parâmetros que mais contribuem para as separações entre as moléculas.

Os parâmetros representados pelos números 11, 25 e 37 na figura VII.3, carga atômica na posição 13 do esqueleto esteroidal (EET), densidade do elétron de fronteira na posição 13 do EET e densidade do radical de fronteira na posição 13 do EET, são os que mais parecem contribuir para a separação da molécula I do restante da série. De um modo geral, podemos dizer que a carga atômica na posição 13 do EET ajuda a separar a molécula I das outras devido, principalmente, a presença da metila na posição 13 da mesma, enquanto as outras moléculas do grupo possuem uma etila nesta posição, com exceção da molécula II, progesterona, que também possui uma metila. Ao se observar os valores de CA13, ao longo desta série, vemos que a molécula I possui CA13 de -0,041. As moléculas II, III e IV, que possuem afinidades de ligação por receptores de progesterona (RPs) cerca de 10 vezes maior que a molécula I,

possuem CA13 de -0,039, -0,060 e -0,041, respectivamente. Já as moléculas V, VI e VII, cujas afinidades de ligação por RPs são cerca de 54, 86 e 92 vezes maior, respectivamente que a molécula I, possuem CA13 de -0,062, -0,062 e -0,066, respectivamente. Ou seja, um aumento mais significativo na afinidade de ligação por RPs está relacionado com cargas atômicas mais negativas na posição 13 do EET. Interessante comparar estes resultados com os obtidos no capítulo IV, onde escrevemos o seguinte: “para a molécula de menor atividade contraceptiva oral, progesterona, CA13 é de -0,039; para as moléculas de maior atividade contraceptiva oral, CA13 está na faixa de -0,061 a -0,072, com exceção da molécula de norgestimato, cujo CA13 é de -0,041”. Todas as três moléculas (moléculas V, VI e VII - levonorgestrel, 3ceto-desogestrel e gestodene, respectivamente) que apresentam valores de CA13 dentro da faixa encontrada para os progestogênios com altas atividades contraceptivas orais, possuem altas afinidades de ligação por RPs, de acordo com a tabela II.11, item II.3, capítulo II. Relacionamos, portanto cargas atômicas na posição 13 do EET na faixa de -0,061 a -0,072 com potentes contraceptivos orais e com elevadas afinidades de ligação por RPs. Presume-se que progestogênios que são potentes contraceptivos orais, possuem elevadas afinidades de ligação por RPs.

As densidades do elétron e do radical de fronteira também na posição 13 do EET, representadas pelos números 25 e 37, respectivamente no gráfico VII.3, também parecem participar na separação da molécula I do restante do grupo. Ao observarmos os valores relativos destes parâmetros, para esta série molecular, no apêndice A.1, verificamos tendências pouco comuns : a molécula I, dihidrotestosterona, que possui a menor afinidade de ligação por RP, possui valores intermediários de  $F_{13}^e$  de  $F_{13}^r$  de  $8,08 \cdot 10^{-3}$  e  $4,04 \cdot 10^{-3}$ , respectivamente. As moléculas II, III e IV (cujas afinidades por RPs são cerca de 10 vezes maior que da molécula I ) possuem valores de  $F_{13}^e$  e  $F_{13}^r$  inferiores ao da molécula I de ( $4,35 \cdot 10^{-3}$ ,  $6,70 \cdot 10^{-4}$  e  $3,70 \cdot 10^{-4}$ , respectivamente, no caso de  $F_{13}^e$ ) e de ( $2,09 \cdot 10^{-3}$ ,  $3,50 \cdot 10^{-4}$ ,  $2,00 \cdot 10^{-4}$ , respectivamente, no caso de  $F_{13}^r$ ). As moléculas V, VI e VII (cujas afinidades de ligação por RPs é de aproximadamente 50 a 90 vezes a afinidade da molécula I) apresentam valores de  $F_{13}^e$  e  $F_{13}^r$  superiores ao da molécula I de ( $9,70 \cdot 10^{-3}$ ,  $6,19 \cdot 10^{-2}$  e  $5,52 \cdot 10^{-2}$ , respectivamente, no caso das  $F_{13}^e$ ) e de ( $4,87 \cdot 10^{-3}$ ,  $3,10 \cdot 10^{-2}$  e  $2,76 \cdot 10^{-2}$ , respectivamente, no caso das  $F_{13}^r$ ). Neste caso, um número maior de moléculas seria de grande valor para que se pudesse ou não confirmar a tendência de variação deste parâmetro com a afinidade de ligação por RPs. Porém, pode-se observar que as moléculas VI e VII, que possuem as maiores afinidades de

ligação por RPs, possuem os maiores valores de  $F_{13}^e$  e  $F_{13}^r$  da tabela, de uma ordem de grandeza de 10 vezes.

Os parâmetros representados pelos números 27 e 28, densidades do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET, respectivamente, juntamente com o parâmetro representado pelo número 11, carga atômica na posição 13 do EET, parecem ser os que mais contribuem para o agrupamento das moléculas II, III e IV no gráfico VII.2. A diferença estrutural, deste grupo molecular, relativa às posições 4 e 5 está na ausência de uma dupla ligação entre estas posições na molécula I e na presença da mesma nas demais moléculas do grupo. Dessa forma, as densidades do orbital de fronteira, nas posições 4 e 5 do EET, são bastante próximos para as moléculas II, III, IV, V, VI e VII e distantes dos valores da molécula I. Obviamente, como as moléculas V, VI e VII estão separadas das moléculas II, III e IV, outros parâmetros diferentes de  $F_4^o$  e  $F_5^o$  entram para que se efetue esta separação. Para uma melhor observação, representamos os valores de  $F_4^o$  e  $F_5^o$  na tabela VII.1, a seguir:

Tabela VII.1 - Densidade do orbital de fronteira nas posições 4 ( $F^{\circ}_4$ ) e 5 ( $F^{\circ}_5$ ) do EET para as moléculas I, II, III, IV, V, VI e VII.

Molécula	$F^{\circ}_4$	$F^{\circ}_5$
(I) DHT	$7,34.10^{-3}$	$3,62.10^{-2}$
(II) P	$3,90.10^{-1}$	$7,51.10^{-1}$
(III) ANGM	$3,71.10^{-1}$	$6,40.10^{-1}$
(IV) NGM	$3,65.10^{-1}$	$6,43.10^{-1}$
(V) LNG	$3,99.10^{-1}$	$7,50.10^{-1}$
(VI) CDSG	$3,96.10^{-1}$	$7,55.10^{-1}$
(VII) GSD	$4,00.10^{-1}$	$7,47.10^{-1}$

É evidente, a partir da observação da tabela acima, que especialmente  $F^{\circ}_4$  agrupa as moléculas II, III e IV;  $F^{\circ}_5$  contribui mais no agrupamento das moléculas III e IV. Estes dois parâmetros também contribuem no agrupamento das moléculas VI e VII e influenciam a posição intermediária ocupada pela molécula V. De acordo com os resultados da tabela VII.1, de um modo geral, valores maiores de  $F^{\circ}_4$  e  $F^{\circ}_5$  estão associados com maiores afinidades de ligação por RPs.

A carga atômica na posição 13 do EET foi discutida anteriormente.

O parâmetro representado pelo número 37, densidade do radical de fronteira na posição 13 do EET, no gráfico VII.3, também contribui para que as moléculas VI e VII se agrupem.

As densidades do elétron e do radical de fronteira na posição 13 do EET ( $F^e_{13}$ ) e ( $F^r_{13}$ ), respectivamente, são próximos para as moléculas VI e VII de ( $6,19 \cdot 10^{-2}$  e  $5,52 \cdot 10^{-2}$ , respectivamente, no caso de  $F^e_{13}$ ) e de ( $3,10 \cdot 10^{-2}$  e  $2,76 \cdot 10^{-2}$ , respectivamente, no caso de  $F^r_{13}$ ), como dito anteriormente. Os  $F^e_{13}$  e  $F^r_{13}$  para as demais moléculas, também já citados anteriormente, são no mínimo, 10 vezes menores. É possível que afinidades de ligação por RPs mais elevadas estejam relacionadas com densidades de radical de fronteira, na posição 13 do EET, maiores.

O parâmetro, representado pelo número 14, carga atômica na posição 16 (CA16) do EET torna-se, em geral, menos negativa com o aumento da afinidade de ligação desta série molecular por RPs. Este parâmetro ajuda na separação da molécula I do restante do grupo por esta possuir a CA16 mais negativa com relação ao mesmo; o agrupamento das moléculas II, III e IV e moléculas VI e VII também são influenciados pelos valores praticamente crescentes (menos negativos) de CA16. Enquanto a molécula I possui CA16 de -0,196; as moléculas II, III e IV de -0,154, -0,185 e -0,185, respectivamente; as moléculas V, VI e VII possuem CA16 de -0,148, -0,148 e -0,151, respectivamente. É possível que afinidades de ligação por RPs maiores estejam relacionadas à cargas menos negativas na posição 16 do EET, provavelmente dentro do intervalo de -0,185 a -0,148 ou menos negativas ainda que -0,148, já

que a tendência é ser menos negativa com o aumento da afinidade de ligação por RP. Um maior número de moléculas seria de grande importância para que se estabelecesse limites mais confiáveis de variações dos parâmetros moleculares. Porém, a literatura é muito escassa de informação no que diz respeito a quantidade significativa de progestogênios e seus respectivos valores de atividades biológicas.

Analisando a figura VII.4, dendograma do agrupamento hierárquico (Hier), podemos observar que a molécula I, DHT, possui similaridade igual a zero com relação às outras moléculas do grupo.

As moléculas II, III e IV possuem similaridades bem próximas entre si de aproximadamente 0,6.

As moléculas VI e VII possuem similaridade entre si superior a 0,8 e de aproximadamente 0,3 com o restante do grupo, exceto com a molécula I, com a qual possui similaridade igual a zero.

A molécula V possui similaridade pouco superior a 0,4 com as moléculas II, III e IV e de aproximadamente 0,3 com as moléculas VI e VII.

A similaridade igual a zero da molécula I com relação ao grupo é bastante razoável, pois se trata da molécula “menos ativa” do grupo por possuir a menor afinidade de ligação por RPs.

A similaridade entre as moléculas II, III e IV, de 0,6, é significativa, já que pretendemos agrupar as mesmas por possuírem afinidades de ligação por RPs bem próximas. Estas moléculas possuem similaridade pouco superior a 0,4 com a molécula V e de aproximadamente 0,3 com as moléculas VI e VII. A similaridade de 0,3 com as moléculas VI e VII também é razoável, já que nosso objetivo é separar estes dois grupos moleculares (moléculas II, III e IV e moléculas VI e VII). Também a similaridade de aproximadamente 0,4 com a molécula V está dentro de nossa expectativa, pois a molécula V deve ocupar uma região no gráfico dos escores das PCs não muito distante das moléculas II, III e IV, o que leva-nos a concluir que estas moléculas devam ter alguma similaridade entre si.

As moléculas VI e VII, apresentam similaridade entre si superior a 0,8. Como nosso objetivo é agrupá-las no gráfico dos escores das PCs, esta similaridade é bastante razoável. Porém sua similaridade com relação ao restante do grupo é pequena, pouco superior a 0,2 e de zero com relação à molécula I. Esta similaridade pequena das moléculas VI e VII com relação ao grupo é satisfatória, pois é nosso objetivo separá-las do restante do grupo.

Deste modo, o dendograma do agrupamento hierárquico (Hier) parece refletir de maneira satisfatória os objetivos iniciais deste estudo.

### VII.1.a-) Interação entre fármaco - receptor

Como discutido no item VII.1, as cargas atômicas presentes nas posições 13(CA13) e 16(CA16) do EET são parâmetros importantes na classificação das moléculas estudadas, com respeito à afinidade de ligação por receptores de progesterona (RPs). Tanto as CA13 quanto as CA16 são negativas para todas as moléculas estudadas. Devem existir, portanto, cargas positivas no RP, interagindo nestas posições, como mostra, simplificada, a figura VII.5.

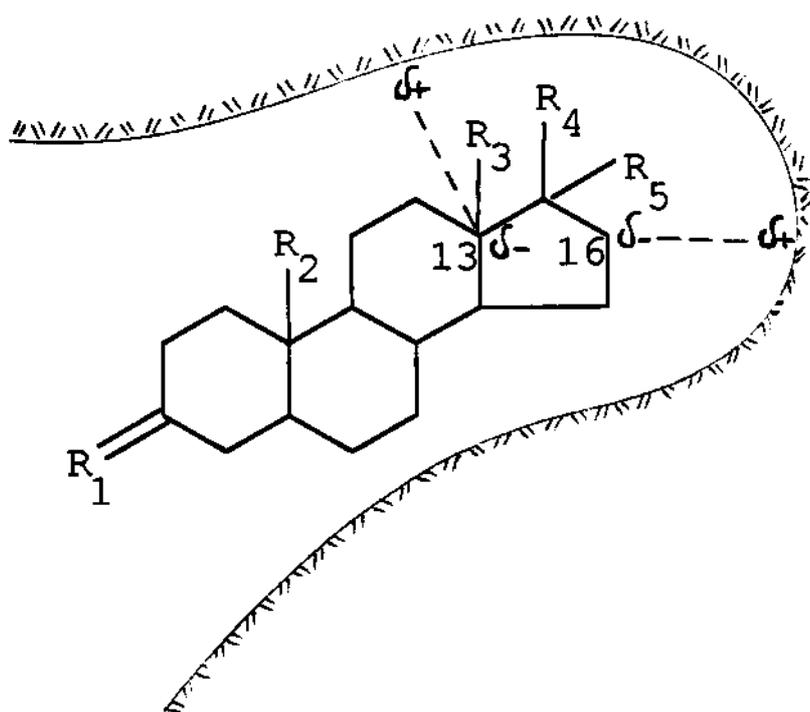


Fig.VII.5 - Modelo de interação entre progestogênio e receptor de progesterona.

As densidades do elétron e do radical de fronteira na posição 13 do EET,  $F_{13}^e$  e  $F_{13}^r$ , respectivamente, são parâmetros que também se mostraram importantes na classificação das moléculas, de acordo com suas afinidades de ligação por RPs. É bem verdade que, para moléculas com afinidades de ligação por RPs próximas entre si, estes parâmetros variaram de maneira praticamente aleatória com a crescente afinidade de ligação por RPs. Somente nos casos de moléculas com altíssimas afinidades de ligação por RPs, estes parâmetros mostraram ser nitidamente superiores com relação aos valores correspondentes às moléculas de mais baixas afinidades de ligação por RPs. Com isso, associamos valores elevados de  $F_{13}^e$  e  $F_{13}^r$  com altas afinidades de ligação por RPs. Segundo os postulados fundamentais da teoria dos orbitais de fronteira propostos por Fukui et al., capítulo III, a relação entre estes índices de fronteira e a afinidade de ligação por RPs pode ser interpretada da seguinte maneira: moléculas com altas afinidades de ligação por RPs tenderão a interagir com reagente eletrofilico ou radicalar (no caso, algum sítio ativo presente no RP) na posição 13 do EET. Os modelos para tais interações estão descritos no capítulo V, item V.2.a.

Os parâmetros como densidades do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET,  $F_4^o$  e  $F_5^o$ , respectivamente, também mostraram ser importantes na classificação das moléculas, com respeito à afinidade de ligação por RPs.

Também neste caso, moléculas com maiores afinidades de ligação por RPs estão associadas à maiores  $F^{\circ}_4$  e  $F^{\circ}_5$ . De acordo com os postulados fundamentais da teoria dos orbitais moleculares propostos por Fukui et al., podemos interpretar estes resultados da seguinte forma: moléculas com maiores afinidades de ligação por RPs tenderão a interagir com reagente nucleofílico nas posições 4 e/ou 5 do EET. Um esquema proposto para interações desta natureza está representado na figura VII.6.

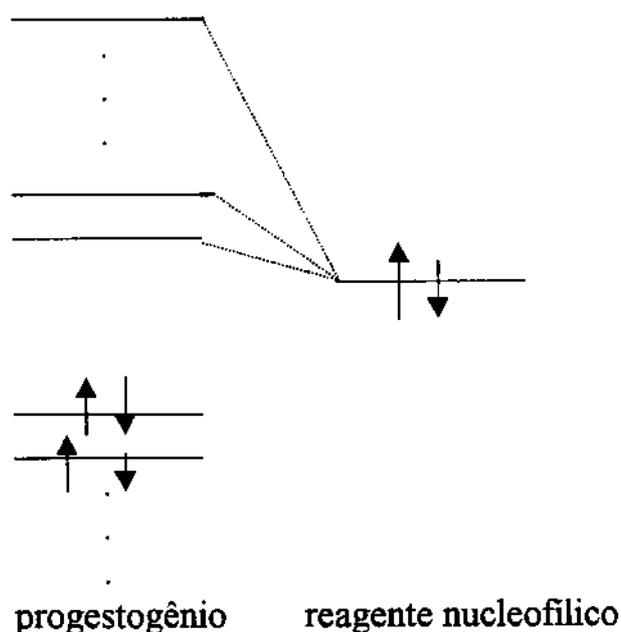


Fig. VII.6 - Interação proposta entre progesterona e reagente nucleofílico nas posições 4 e/ou 5 do EET.

Resumidamente, podemos dizer que os parâmetros importantes na classificação das moléculas, com respeito à afinidade de ligação por RPs, são:

cargas atômicas nas posições 13 e 16 do EET, densidades do elétron e do radical de fronteira na posição 13 do EET e densidades do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET.

As cargas atômicas na posição 13 do EET também mostraram-se importantes para classificar progestogênios, com respeito à atividade contraceptiva oral.

## **VII.2 - Afinidade de Ligação por Receptores de Androgênio**

Para o mesmo grupo molecular estudado no item VII.1, dispomos de valores de afinidade de ligação por receptores de androgênio (RAs), como descrito no capítulo II, item II.3, tabela II.11. A molécula I, dihidrotestosterona (DHT), apresenta a maior afinidade de ligação por RAs desta série. As moléculas IV, II e III, norgestimato, progesterona e 17-acetil norgestimato, apresentam valores de afinidade de ligação por RAs de 333, 200 e 77 vezes menor, respectivamente, que a molécula I, DHT. As moléculas VI, VII e V (3-ceto desogestrel, gestodene e levonorgestrel) possuem valores de afinidade de ligação por RAs de uma ordem de grandeza de 8,3, 6,5 e 4,5 vezes menor, respectivamente que a molécula I, DHT.

Os valores de afinidade de ligação por RAs das moléculas IV, II e III são distanciados do valor da molécula I, DHT, e dos valores das moléculas VI, VII e V; estas últimas também possuem valores de afinidades de ligação por RAs distanciados da molécula I. Apesar das grandes diferenças relativas entre as afinidades de ligação por RAs, deste grupo molecular, a grosso modo, podemos classificar a molécula I como mais ativa, por possuir a maior afinidade de ligação por RAs do grupo e as outras moléculas como menos ativas. Porém, na tentativa de reproduzir melhor, de maneira mais fiel, os valores relativos de afinidades de ligação por RAs entre as moléculas, desejamos obter uma separação molecular da seguinte maneira: isolar a molécula I das demais, por esta apresentar a maior afinidade de ligação por RAs entre o grupo; agrupar as moléculas IV, II e III por apresentarem valores relativos de afinidades de ligação por RAs reduzidos e distanciados dos demais; agrupar as moléculas VI, VII e V também por apresentarem afinidades de ligação por RAs próximas entre si e distantes do restante do grupo.

Utilizamos, mais uma vez, os métodos de reconhecimento de padrões, como PCA e Hier, do programa Pirouette (42), para efetuar os objetivos citados acima, na tentativa de encontrar os parâmetros físico-químicos que expliquem a afinidade de ligação, destes progestogênios, por RAs.

Os resultados são apresentados a seguir: a figura VII.7 representa o gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), a figura VII.8 representa o gráfico dos loadings das PCs e o gráfico VII.9 , o diagrama do agrupamento hierárquico.

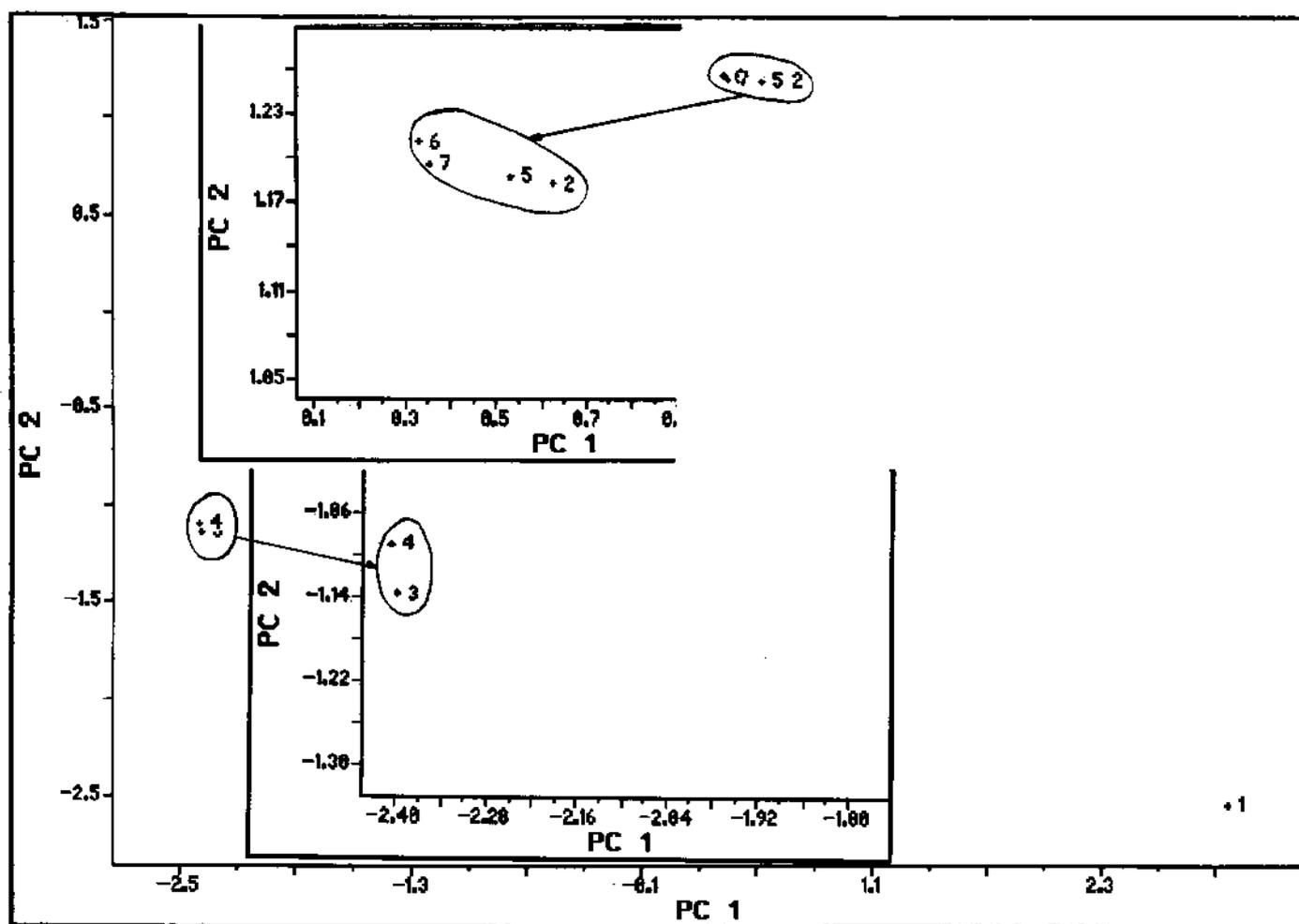


Figura VII.7 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), onde seis parâmetros físico-químicos foram utilizados; 1,2,3,...7 são os progestogênios (I),(II),(III)...(VII), respectivamente.

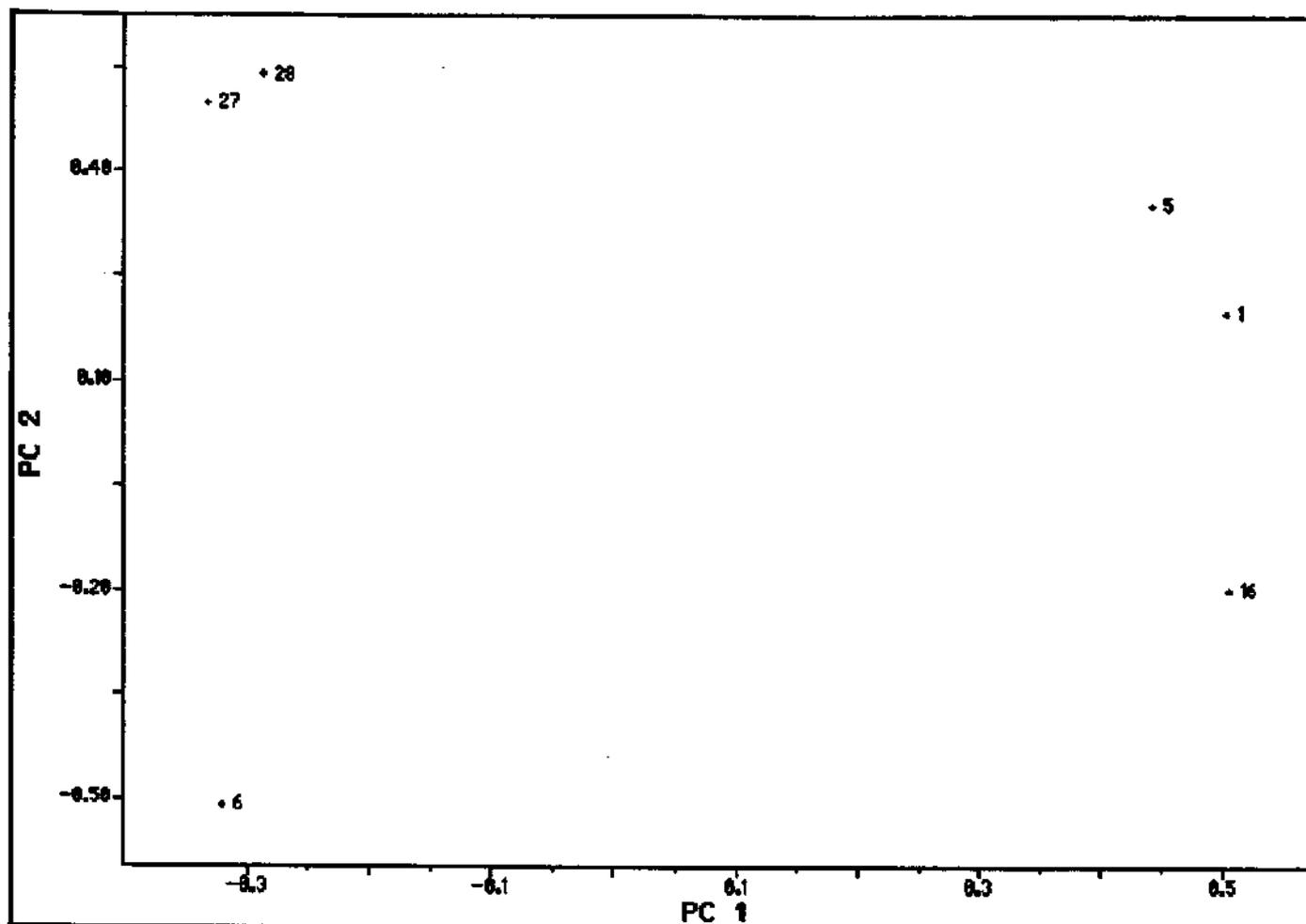


Figura VII.8 - Gráfico dos loadings, utilizando seis parâmetros físico-químicos, onde 1 representa o potencial de ionização; 5, a carga atômica na posição 3 do EET; 16, a dureza molecular; 27 e 28, as densidades do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET e 6, a carga atômica na posição 4 do EET.

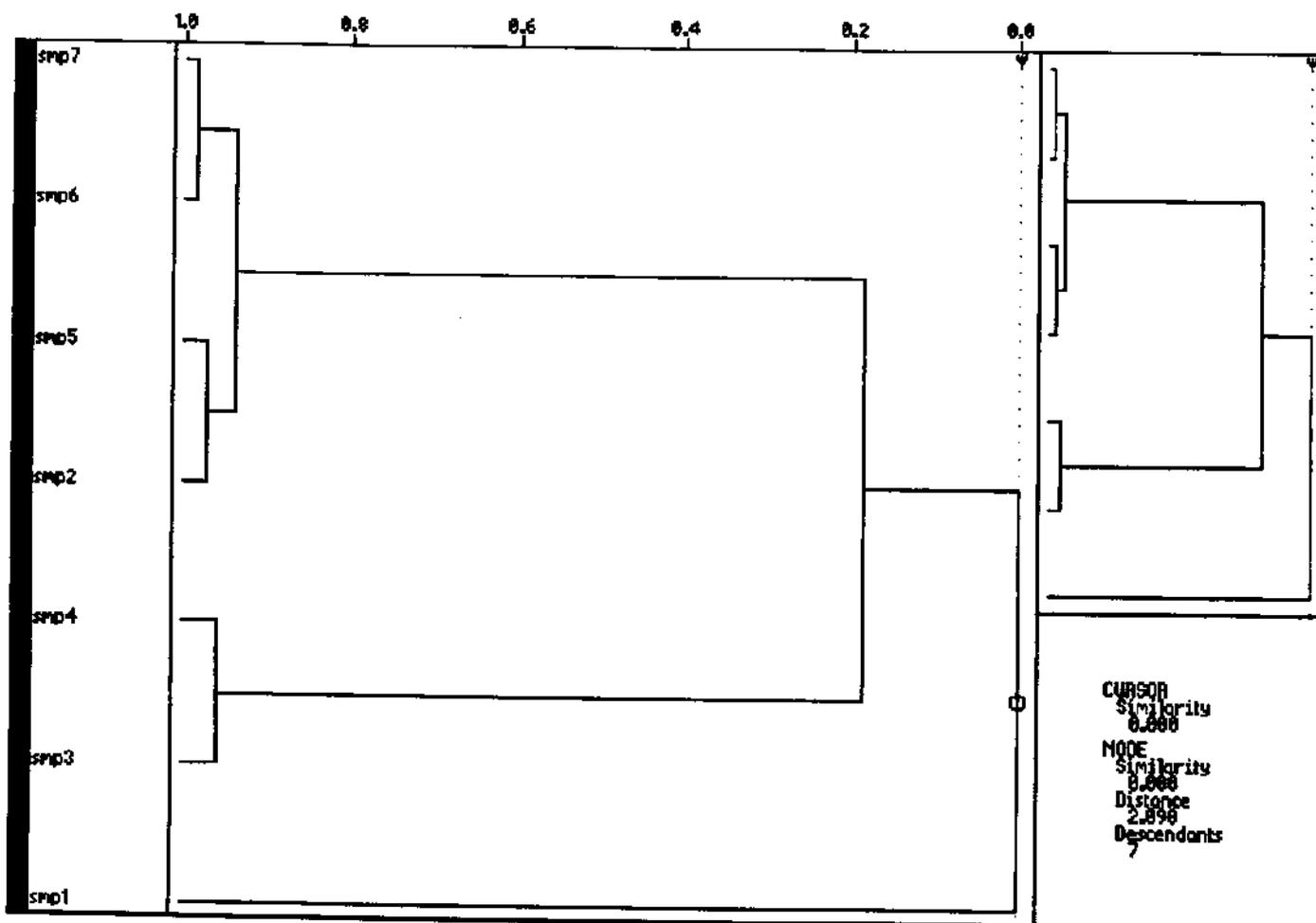


Figura VII.9 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, ... VII, obtido com seis parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp7 representam os progestogênios I, II, ... VII, respectivamente .

Como pode ser observado na figura VII.7, gráfico dos escores das PCs, ocorreu a separação da molécula I, DHT, das demais do grupo. As moléculas V, VI e VII agruparam-se na região central, na parte superior deste gráfico. As moléculas III e IV agruparam-se em uma região distinta das moléculas anteriores, no gráfico dos escores, porém a molécula II não se agrupou a elas. Ao invés disso, juntou-se às moléculas V, VI e VII, que possuem afinidade de ligação por RAs superiores a ela.

Ao observarmos as figuras VII.7 e VII.8, simultaneamente, gráficos dos escores das PCs e loadings, respectivamente, podemos verificar que, de acordo com os resultados obtidos, o parâmetro representado pelo número 16, neste último, que corresponde à Dureza Molecular ( $\eta$ ), é o que mais contribui para a separação da molécula I, DHT, do restante do grupo. Se observarmos a tabela VII.2, a seguir, onde estão listados os parâmetros físico-químicos, selecionados pelos métodos de PCA e Hier, dispostos de acordo com a ordem crescente de afinidade de ligação por RAs, do grupo molecular estudado, podemos verificar quantitativamente a variação deste parâmetro com a afinidade de ligação por RAs.

Tabela VII.2 - Ordem crescente de afinidade de ligação por RAs e parâmetros físico-químicos selecionados pelos métodos de PCA e Hier.

Molécula	Afinidade de ligação por RAs	PI	CA03	$\eta$	$F_4^o$	$F_5^o$	CA04
IV (NGM)	0,003	9,050	-0,038	4,652	$3,65 \cdot 10^{-1}$	$6,43 \cdot 10^{-1}$	-0,175
II (P)	0,005	10,055	0,261	5,002	$3,90 \cdot 10^{-1}$	$7,51 \cdot 10^{-1}$	-0,247
III (ANGM)	0,013	9,097	-0,039	4,664	$3,71 \cdot 10^{-1}$	$6,40 \cdot 10^{-1}$	-0,170
VI (CDSG)	0,12	9,906	0,260	4,924	$3,96 \cdot 10^{-1}$	$7,55 \cdot 10^{-1}$	-0,248
VII (GSD)	0,154	9,917	0,262	4,935	$4,00 \cdot 10^{-1}$	$7,47 \cdot 10^{-1}$	-0,247
V (LNG)	0,22	10,012	0,261	4,988	$3,99 \cdot 10^{-1}$	$7,50 \cdot 10^{-1}$	-0,246
I (DHT)	1,0	10,215	0,231	5,578	$7,34 \cdot 10^{-3}$	$3,62 \cdot 10^{-2}$	-0,208

Através desta tabela podemos observar que a molécula I, DHT, possui a maior  $\eta$  da série.  $\eta$  varia de maneira diretamente proporcional com a afinidade de ligação por RAs; sendo que uma única exceção é verificada para a molécula II, progesterona. Pode-se verificar, nesta tabela, a tendência geral crescente de  $\eta$  com a crescente afinidade de ligação por RAs. A molécula IV, que possui a menor afinidade de ligação por RAs da série, também possui a menor  $\eta$ ; a molécula I, que possui a maior afinidade de ligação por RAs da série, possui a maior  $\eta$ .

Comparando estes resultados com os obtidos no capítulo VI, para as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas, podemos constatar a coerente tendência na variação de  $\eta$  para estes grupos moleculares distintos. Explicando melhor, para o grupo das  $17\alpha$ - acetoxiprogesteronas substituídas, valores de  $\eta$  mais

elevados estão associados a menor atividade progestacional, o que está em acordo com os resultados obtidos, para este grupo molecular, que relaciona valores de  $\eta$  elevados com maior afinidade de ligação por RAs. As faixas de variação de  $\eta$ , porém não são as mesmas para estes dois grupos moleculares distintos. Isto deve-se às grandes variações estruturais entre eles.

É provável, porém que progestogênios com valores mais elevados de  $\eta$  (acima de 5,578) estejam relacionados com atividades androgênicas elevadas.

Ainda de acordo com as figuras VII.7 e VII.8, gráfico dos escores das PCs e loadings, respectivamente, os parâmetros que mais parecem contribuir para o agrupamento das moléculas II, V, VI e VII são os representados pelos números 1, 5, 27 e 28, potencial de ionização (PI), carga atômica na posição 3 do EET (CA03), índices do orbital de fronteira nas posições 4( $F^0_4$ ) e 5( $F^0_5$ ) do EET, respectivamente.

Observando a tabela VII.2, podemos ver que os valores dos PIs são bastante próximos para as moléculas II, V, VI e VII. Com exceção da molécula II, a tendência dos PIs é aumentar com o aumento da afinidade de ligação por RAs. Assim, a molécula I, DHT, que possui a maior afinidade de ligação por RAs, possui também o maior PI da série; enquanto que com a molécula IV ocorre o inverso: possui a menor afinidade de ligação por RAs e também o menor PI da série.

Este resultado está de acordo com os resultados obtidos nos capítulos V e VI. No capítulo V, chegamos à conclusão de que PIs maiores estavam associados a menores atividades contraceptivas orais (que estão associadas a menores atividades progesterônicas). No capítulo VI, chegamos também à conclusão de que PIs maiores estavam associados a menores atividades progesterônicas. Neste capítulo, associamos maiores PIs com maiores afinidades de ligação por RAs. Se determinadas moléculas possuem maiores afinidades de ligação por RAs, devem possuir menores afinidades por RPs e possuem, portanto menores atividades progesterônicas. Logo, maiores afinidades de ligação por RAs estão associadas a menores atividades progesterônicas.

O parâmetro representado pelo número 5, carga atômica na posição 3 do EET(CA03), não varia de maneira proporcional com a afinidade de ligação por RAs, como pode ser visto na tabela VII.2. Porém, está claro que valores maiores ou seja, positivos, de CA03 estão relacionados, em geral, com maiores afinidades de ligação por RAs. As moléculas III e IV, que possuem valores negativos de CA03, possuem também valores relativos menores de afinidades de ligação por RAs. A molécula II, progesterona, constitui novamente uma exceção.

A razão pela qual as moléculas III e IV possuem valores próximos de CA03 é por possuírem substituintes idênticos na posição 3 do EET. Todas as outras moléculas do grupo possuem (=O) na posição 3 do EET, com exceção das moléculas III e IV que possuem (=N-OH) nesta mesma posição.

Os parâmetros representados pelos números 27 e 28 ( $F^{\circ}_4$  e  $F^{\circ}_5$ , respectivamente) apresentam valores próximos para as moléculas II, V, VI e VII. Apesar de não apresentarem variação proporcional com a afinidade de ligação por RAs, como visto na tabela VII.2, pode ser constatado que a molécula I, DHT, possui valores de  $F^{\circ}_4$  e  $F^{\circ}_5$  bastante baixos, quando comparados com os outros valores desta série molecular. A razão pela qual tais parâmetros sejam tão diferenciados para a molécula I é a ausência de dupla ligação entre as posições 4 e 5 na molécula I e presença da mesma nas outras moléculas do grupo. É possível que maiores afinidades de ligação por RAs estejam relacionadas com menores  $F^{\circ}_4$  e  $F^{\circ}_5$ .

Observando, mais uma vez, as figuras VII.7 e VII.8, podemos dizer que os parâmetros que mais contribuem para o agrupamento das moléculas III e IV, são os representados pelos números 27, 28 e 6 ( $F^{\circ}_4$ ,  $F^{\circ}_5$  e carga atômica na posição 4 (CA04) do EET, respectivamente).

$F_4^o$  e  $F_5^o$  são bastante próximos para as moléculas III e IV, por este motivo contribuem para agrupá-las. Suas variações com a afinidade de ligação por RAs já foram discutidas anteriormente.

Os valores de CA04, para as moléculas III e IV, também são bastante próximos, como pode ser observado na tabela VII.2. Entretanto, este parâmetro não varia proporcionalmente com a afinidade de ligação por RAs. Há apenas indicações, de acordo com nossos resultados, de que CA04 mais negativas estejam relacionadas à maiores afinidades de ligação por RAs, embora esses valores não sejam precisamente determinados em nosso estudo.

Analisando a figura VII.9, dendograma do agrupamento hierárquico (Hier), podemos observar que a molécula I possui similaridade zero com as demais moléculas da série. Pelo fato das moléculas possuírem afinidades de ligação por RAs consideravelmente inferiores à molécula I, é razoável que esta última não tenha similaridade com as outras.

A similaridade entre as moléculas V, VI e VII é próxima a 1,0. Como as afinidades de ligação por RAs destas moléculas são próximas, é também razoável a grande similaridade entre as mesmas.

As moléculas III e IV possuem também similaridade próxima a 1,0. Já que nosso objetivo era agrupá-las na figura VII.7, gráfico dos escores das PCs,

pelo fato de apresentarem afinidades de ligação por RAs relativamente próximas, é razoável que sejam altamente similares.

A molécula II apresenta similaridade próxima a 1,0 com as moléculas V, VI e VII e pouco inferior a 0,2 com as moléculas III e IV. Este resultado não reflete a afinidade de ligação similar por RAs que a molécula II possui com relação às moléculas III e IV; tampouco a afinidade de ligação distante por RAs com relação às moléculas V, VI e VII. Mesmo utilizando outros parâmetros calculados na tentativa de melhorar esta separação, não foi possível aumentar a similaridade da molécula II com relação às moléculas III e IV.

A similaridade entre o grupo formado pelas moléculas V, VI e VII e as moléculas III e IV é de aproximadamente 0,2. Este resultado é compatível com a distanciada afinidade de ligação por RAs destes grupos.

Deste modo, o diagrama do agrupamento hierárquico apresenta coerência com os resultados obtidos através do método de PCA. Apenas a molécula II não foi classificada corretamente de acordo com sua afinidade de ligação por RAs.

Resumidamente, podemos dizer que os parâmetros físico-químicos importantes, segundo nossos estudos, para classificar as moléculas deste capítulo, com respeito às afinidades de ligação por RAs são: dureza

molecular( $\eta$ ), potencial de ionização(PI), cargas atômicas nas posições 3(CA03) e 4(CA04) do EET, densidades do orbital de fronteira nas posições 4( $F^{\circ}_4$ ) e 5( $F^{\circ}_5$ ) do EET.

As tendências de  $\eta$  e PI são opostas nos estudos de afinidade de ligação por RAs e atividade progestacional, demonstrando que, de maneira geral, valores relativos maiores de  $\eta$  e PI estão relacionados a menores atividades progestacionais e a maiores afinidades de ligação por RAs.

### **VII.2.a-) Interações fármaco-receptor**

As cargas atômicas nas posições 3 e 4 do EET foram importantes para classificar as moléculas estudadas, de acordo com suas afinidades de ligação por RAs, como discutido anteriormente. As cargas atômicas na posição 4 do EET são todas negativas, devendo ocorrer cargas positivas no RA, interagindo nesta posição.

As cargas atômicas na posição 3 do EET são, em sua maioria positivas, ocorrendo também algumas cargas negativas. Perante esta situação, presumimos que os sítios ativos, com os quais estas moléculas interagem nesta posição, presentes nos RAs, não sejam sempre os mesmos. É possível que os RAs possam acomodar substituintes com características diversas na posição 3 do EET.

As interações entre as moléculas estudadas, neste capítulo, e o receptor de androgênio podem ser esquematizadas, simplificadamente, como na figura VII.10, a seguir:

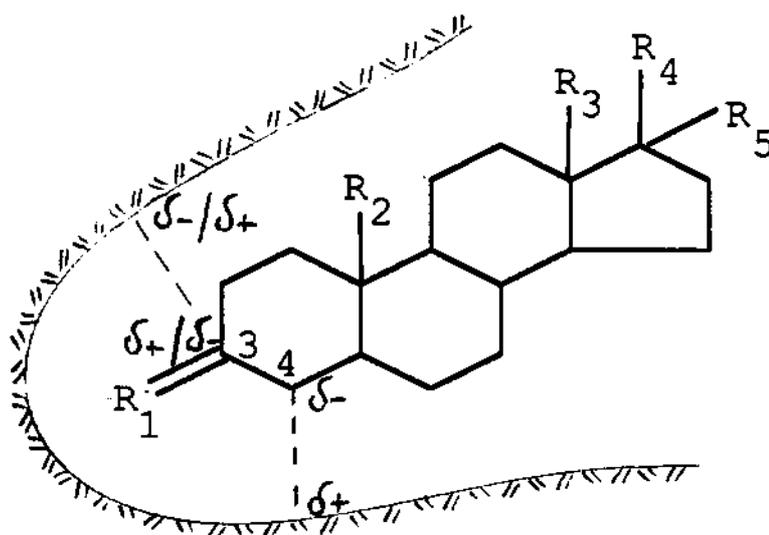


Fig.VII.10 - Interações propostas entre progesterógenos e receptores de androgênio.

As densidades do orbital de fronteira nas posições 4( $F_4^o$ ) e 5( $F_5^o$ ) do EET mais baixas estão relacionadas às maiores afinidades de ligação por RAs. Já que, para as mesmas moléculas estudadas,  $F_4^o$  e  $F_5^o$  maiores mostraram-se

relacionadas às maiores afinidades de ligação por RPs, o que indica que moléculas com valores mais elevados destes parâmetros ligam-se preferencialmente aos RPs, nada mais razoável imaginar que as moléculas, com valores relativos mais baixos de  $F_4^0$  e  $F_5^0$ , ligam-se preferencialmente aos RAs.

**CAPÍTULO VIII - Afinidade de Ligação Relativa por SHBG (Sex  
Hormone Binding Globulin) Humano in vitro**

**VIII.1 - Afinidade de ligação por SHBG humano in vitro de  
determinado grupo de progestogênios**

Como já citado no capítulo II, item II.1, além dos progestogênios ligarem-se à receptores de androgênios, produzindo uma resposta androgênica direta, um progestogênio pode também causar efeitos colaterais androgênicos indiretamente pela ligação ao SHBG (Sex Hormone Binding Globulin).

Estudos evidenciam que um progestogênio possa exercer efeitos androgênicos deslocando testosterona do SHBG, aumentando os níveis de testosterona ativa livre circulante no sangue. A ligação de um determinado progestogênio ao SHBG é uma importante medida de sua androgenicidade (126).

SHBG é a maior proteína transportadora de testosterona (e estradiol) na mulher. Normalmente, na mulher adulta acima de 95% da testosterona circulante está ligada ao SHBG.

A concentração de SHBG no plasma é inversamente proporcional à ação androgênica da testosterona nos tecidos- alvo. Portanto, a diminuição das

concentrações no plasma de SHBG ou a presença dos mesmos ligados aos progestogênios parece ser um fator significativo no grau de hirsutismo na mulher. A inter-relação de SHBG e ação androgênica é clinicamente mais relevante no contexto da síndrome do ovário policístico, polycystic ovary syndrome (PCOS). PCOS é a causa mais comum do hiperandrogenismo na mulher e está frequentemente associado com anovulação e obesidade. Níveis no plasma sanguíneo de SHBG são significativamente mais baixos em mulheres com PCOS. Isto implica que, nos casos de PCOS, tecidos-alvo androgênicos estão expostos a uma concentração local mais alta de testosterona e que o grau de hirsutismo é maior (127). Baixas concentrações de SHBG no plasma são frequentemente associadas a condições patológicas atribuídas a excessiva ação androgênica, como hirsutismo e acne (128) ou a excessiva ação estrogênica, como câncer endometrial (129).

Androgênios ligados às proteínas estão presentes nos fluidos corpóreos da maioria das espécies. A estrutura dimérica destas proteínas, seus ligantes preferenciais e suas funções distinguem-nas dos receptores de androgênio. Sex hormone binding globulin (SHBG) está entre as primeiras proteínas ligadas à androgênios a serem descobertas, e são produzidas no fígado e secretadas no plasma sanguíneo. Estas proteínas, além de outras funções, regulam a concentração de esteróides livres no sangue (130).

Para o grupo molecular, estudado neste capítulo, valores de afinidades de ligação relativas ao SHBG estão listados no capítulo II, item II.3, tabela II.12. A afinidade de ligação da testosterona por SHBG, foi igualada a um (1,0), tornando este valor, o de referência para os demais progestogênios.

As afinidades de ligação relativas ao SHBG dos progestogênios I, II, III e IV (progesterona, norgestimato, 17-acetil norgestimato e 3-ceto norgestimato, respectivamente) são inferiores à da testosterona de uma ordem de grandeza de 200 vezes.

As afinidades de ligação relativas ao SHBG dos progestogênios V e VI (3-ceto desogestrel e levonorgestrel, respectivamente) são inferiores à da testosterona de uma ordem de grandeza de 1,96 e 1,15 vezes, respectivamente.

A molécula VIII, gestodene, possui afinidade de ligação relativa ao SHBG de uma ordem de 2,02 vezes superior a da testosterona.

Comparando os valores relativos de afinidades de ligação relativas ao SHBG, achamos conveniente separar este grupo molecular da seguinte maneira: agrupar as moléculas I, II, III e IV por possuírem os mesmos valores de afinidade de ligação relativa ao SHBG que, por sua vez, são distantes dos valores do restante do grupo; agrupar as moléculas V e VI por possuírem também valores próximos entre si de afinidade de ligação relativa ao SHBG e distantes das demais moléculas; isolar a molécula VIII do restante do grupo,

devido a mesma possuir a maior afinidade de ligação relativa ao SHBG e por desejarmos saber quais os parâmetros físico-químicos que a torna com elevada afinidade de ligação relativa ao SHBG, pelo menos quando comparada com a afinidade de ligação relativa ao SHBG das moléculas I, II, III e IV.

A molécula VII, testosterona (T), possui valor 1,0 de afinidade de ligação relativa ao SHBG, valor intermediário entre o da molécula V (cuja afinidade de ligação relativa ao SHBG é de 1,96 vezes menor que a da T) e o da molécula VIII (cuja afinidade de ligação relativa ao SHBG é de 2,02 vezes maior que a da T). Portanto, a molécula VII deve ocupar uma região intermediária, no gráfico dos escores das PCs, entre essas duas moléculas, ou melhor dizendo entre as moléculas V e VI (pois a molécula VI deve estar agrupada à V) e a molécula VIII.

Nosso objetivo é encontrar os parâmetros físico-químicos que expliquem a maior (ou menor) afinidade de ligação relativa ao SHBG das moléculas estudadas, ou seja, selecionar parâmetros físico-químicos (se houver), entre os 38 calculados, que apresentem alguma tendência (em aumentar ou diminuir, por exemplo) com a variação da afinidade de ligação relativa ao SHBG das moléculas estudadas. Para isso, realizamos cálculos de reconhecimento de padrões, como PCA e Hier do programa Pirouette (42). Os resultados estão apresentados a seguir, onde a figura VIII.1 representa o gráfico dos escores das

duas componentes principais (PCs), a figura VIII.2 representa o gráfico dos loadings e a figura VIII.3, o dendograma do agrupamento hierárquico (Hier).

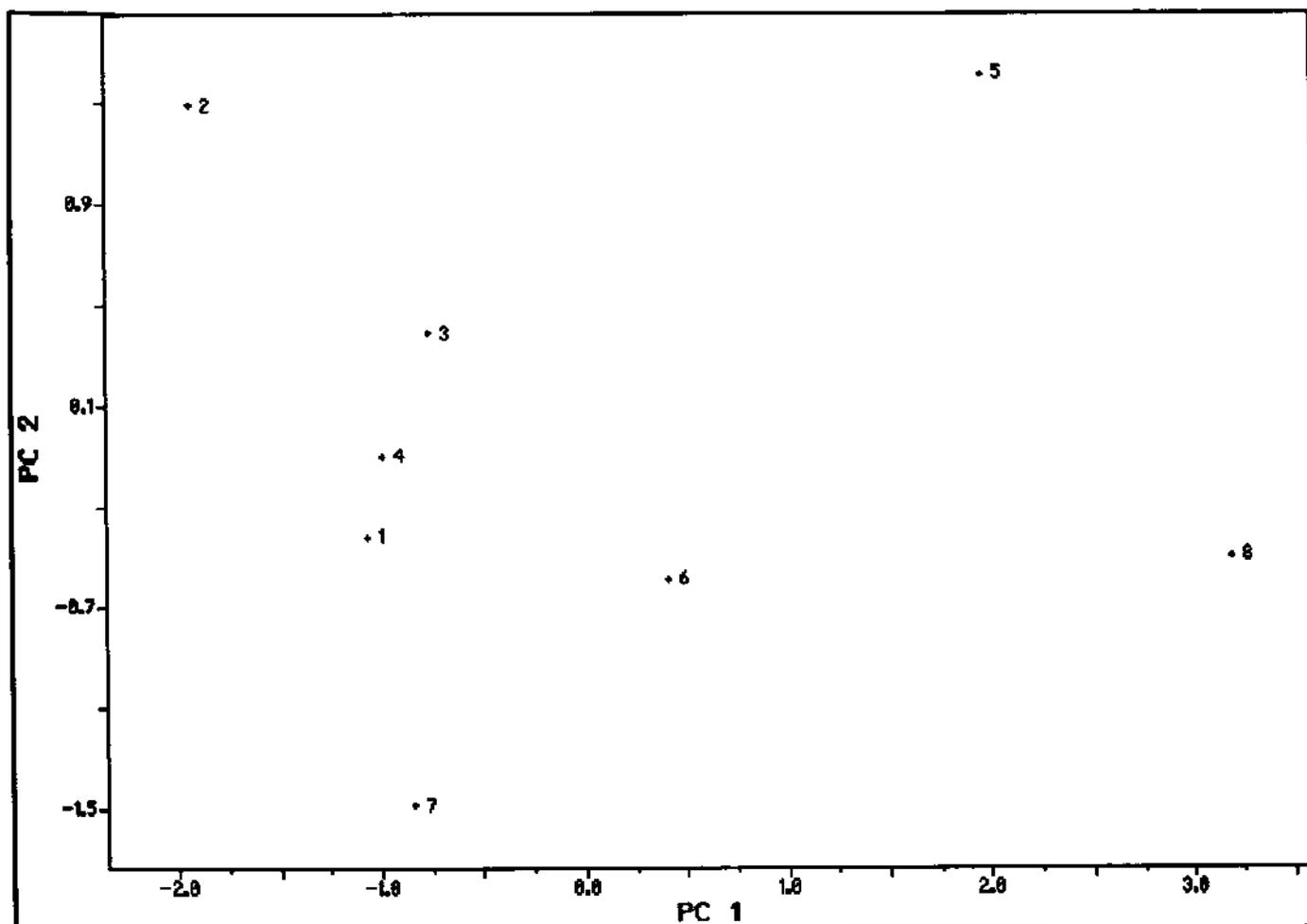
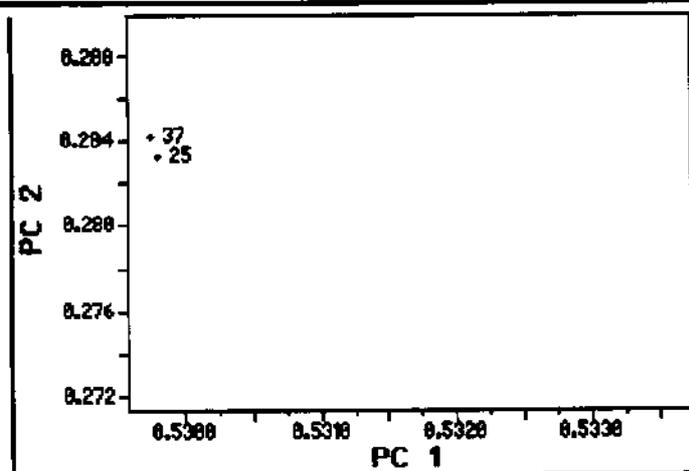
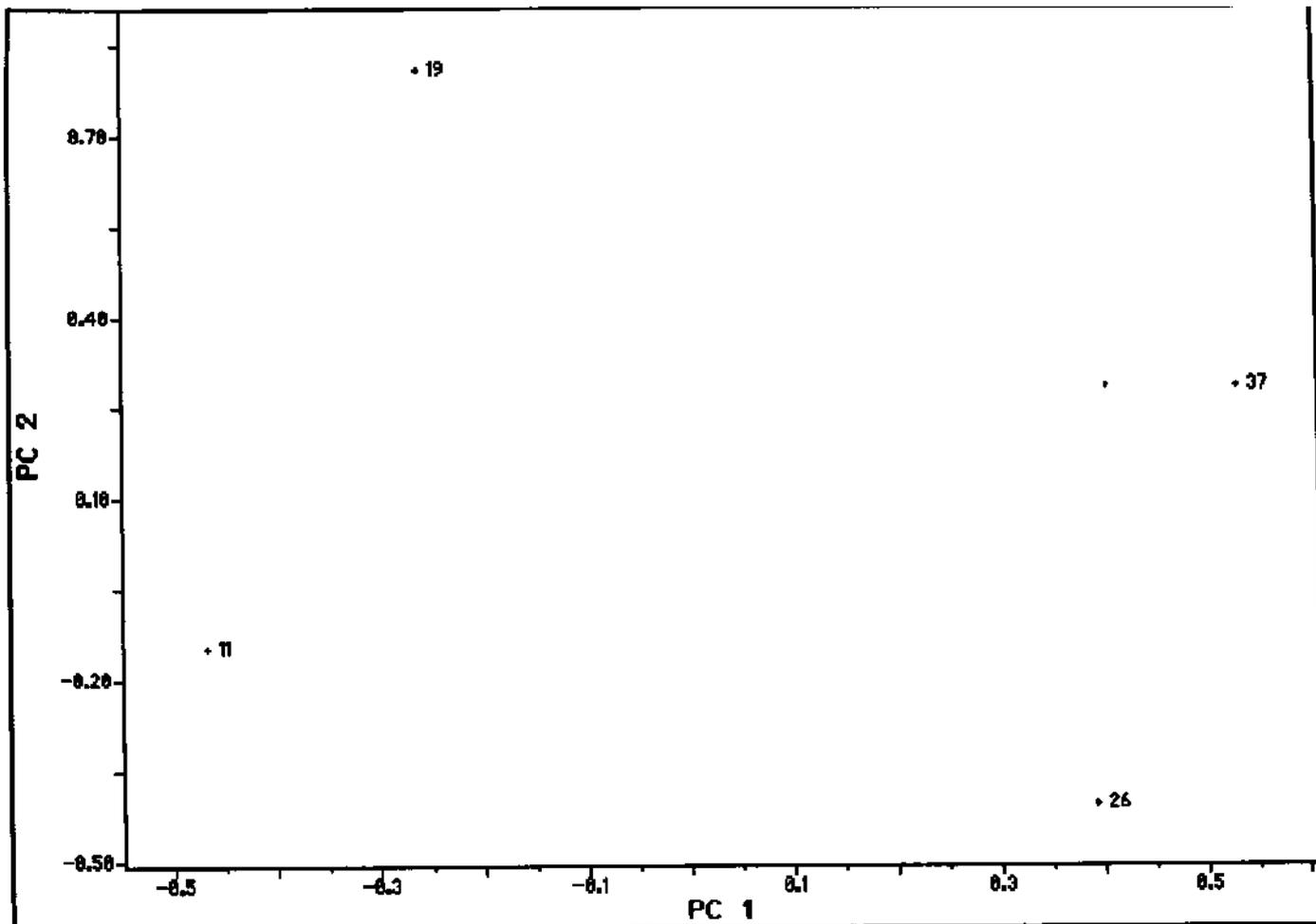


Figura VIII.1 - Gráfico dos escores das duas componentes principais (PCs), onde cinco parâmetros físico-químicos foram utilizados; 1,2,3,...8 são os progestogênios (I),(II),(III)...(VIII), respectivamente.



Detalhe da fig.VIII.2, mostrando os números 25 e 37 coincidentes

Figura VIII.2 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos, onde 11 representa a carga atômica na posição 13 do esqueleto esteroidal(EET); 19 representa a área molecular de van der Waals; 25 e 26 representam a densidade do elétron de fronteira nas posições 13 e 17, respectivamente do EET; e 37 representa a densidade do radical de fronteira na posição 13 do EET.

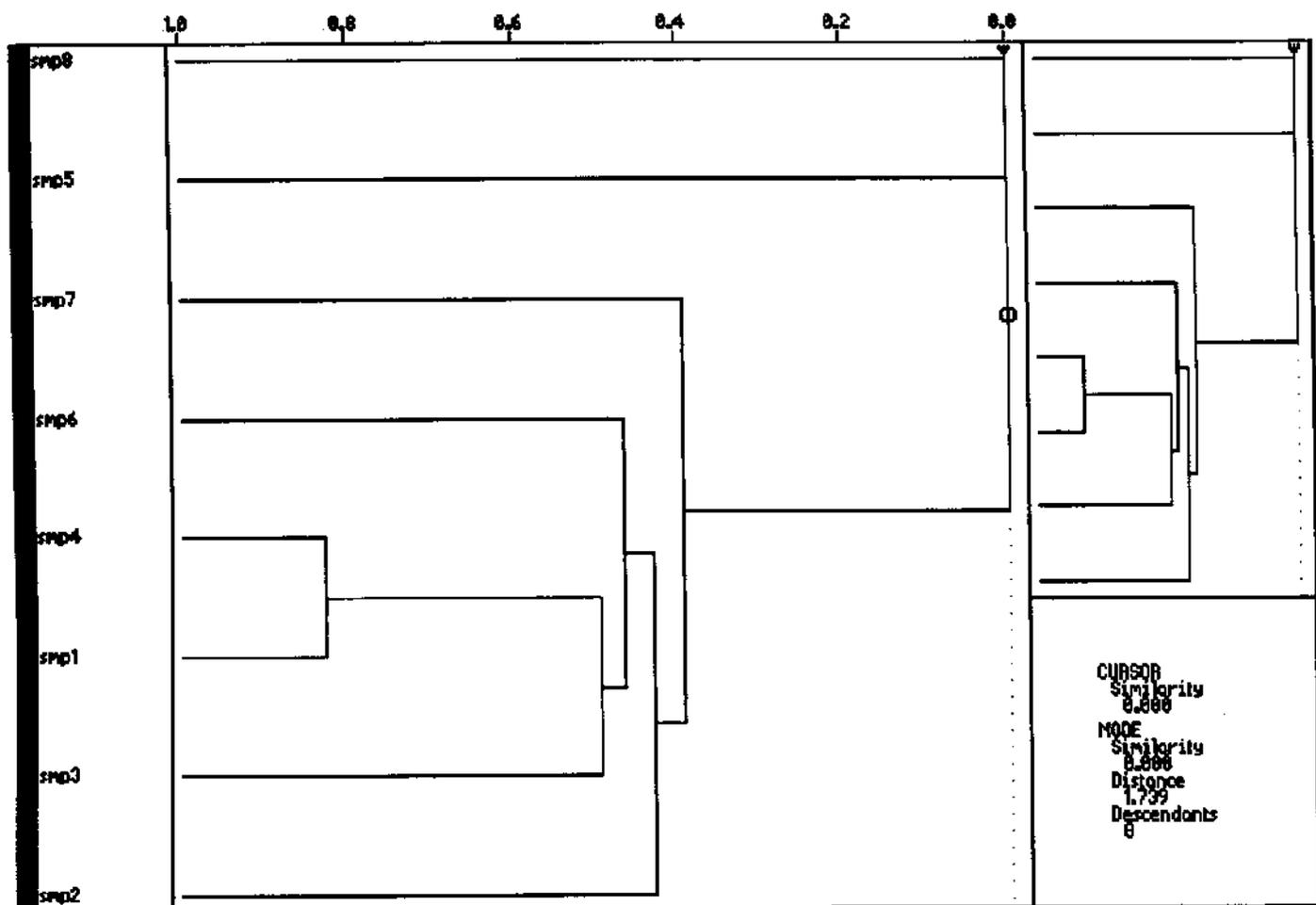


Figura VIII.3 - Dendograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, ... VIII, obtido com cinco parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp8 representam os progestogênios I, II, ... VIII, respectivamente .

Como pode ser observado, através do gráfico dos escores das componentes principais (PCs), figura VIII.1, ocorre um discreto agrupamento das moléculas I, II, III e IV, na região à esquerda e superior deste gráfico. As moléculas V e VI ocupam uma região mais ou menos central do mesmo, embora distantes entre si. A molécula VIII encontra-se separada do restante do grupo, em uma região à direita deste gráfico, o que retrata sua afinidade relativa superior com relação ao mesmo. A molécula VII não ocupa uma região intermediária entre as moléculas V e VI e a molécula VIII, mas permanece intermediária entre as moléculas V e VI e as moléculas I, II, III e IV. Já que estas moléculas possuem todas afinidades de ligação relativas ao SHBG inferiores à da molécula VII, esta posição intermediária, ocupada por ela, não reproduz sua afinidade relativa.

Deste modo, conseguimos, em parte, obter a separação molecular, de acordo com as afinidades de ligação relativas ao SHBG.

De acordo com o gráfico dos loadings, figura VIII.2, os parâmetros que mais contribuem para o “agrupamento” das moléculas I, II, III e IV são a carga atômica na posição 13 (CA13) do EET e a área molecular (AM) de van der Waals, representados pelos números 11 e 19, respectivamente, neste gráfico. Os parâmetros responsáveis pela separação da molécula VIII das demais deste grupo, são as densidades do elétron de fronteira nas posições 13 ( $F_{13}^e$ ) e 17

( $F^e_{17}$ ) e densidade do radical de fronteira na posição 13 ( $F^r_{13}$ ) do EET, representados pelos números 25, 26 e 37, respectivamente, no gráfico dos loadings, figura VIII.2. Os números 25 e 37 são coincidentes no gráfico dos loadings, como mostra o detalhe da figura VIII.2, gráfico dos loadings.

A disposição apresentada pelas moléculas V, VI e VII, na região intermediária no gráfico dos escores das PCs, entre as moléculas I, II, III e IV e molécula VIII, é uma consequência da contribuição de todos os parâmetros citados acima, parâmetros que “agrupam” as moléculas I, II, III e IV e parâmetros que separam a molécula VIII do grupo.

Elaboramos a tabela VIII.1, onde se encontram os parâmetros selecionados neste estudo, pelos métodos de PCA e Hier, dispostos de acordo com a ordem crescente de afinidade de ligação relativa ao SHBG das moléculas estudadas.

Tabela VIII.1 - Ordem crescente de afinidade de ligação relativa ao SHBG e parâmetros físico-químicos selecionados pelos métodos de PCA e Hier.

Molécula	Afinidade de ligação relativa ao SHBG	CA13	AM	$F^e_{13}$	$F^e_{17}$	$F^r_{13}$
I (P)	< 0,005	-0,039	373,1	$4,35 \cdot 10^{-3}$	$5,11 \cdot 10^{-3}$	$2,09 \cdot 10^{-3}$
II (NGM)	< 0,005	-0,041	434,4	$3,67 \cdot 10^{-4}$	$3,91 \cdot 10^{-4}$	$1,99 \cdot 10^{-4}$
III (ANGM)	< 0,005	-0,060	385,4	$6,67 \cdot 10^{-4}$	$6,19 \cdot 10^{-4}$	$3,49 \cdot 10^{-4}$
IV (CNGM)	< 0,005	-0,044	379,6	$4,43 \cdot 10^{-3}$	$3,80 \cdot 10^{-3}$	$2,23 \cdot 10^{-3}$
V (CDSG)	0,51	-0,062	370,4	$6,19 \cdot 10^{-2}$	$7,06 \cdot 10^{-4}$	$3,10 \cdot 10^{-2}$
VI (LNG)	0,87	-0,062	356,2	$9,70 \cdot 10^{-3}$	$7,78 \cdot 10^{-3}$	$4,87 \cdot 10^{-3}$
VII (T)	1,00	-0,042	314,8	$2,52 \cdot 10^{-3}$	$1,26 \cdot 10^{-3}$	$1,27 \cdot 10^{-3}$
VIII (GSD)	2,02	-0,066	342,8	$5,52 \cdot 10^{-2}$	$1,68 \cdot 10^{-2}$	$2,76 \cdot 10^{-2}$

De acordo com a tabela VIII.1, podemos concluir que os parâmetros CA13 e AM agrupam as moléculas I, II, III e IV pelo fato de seus valores serem, em geral, próximos para estas moléculas e mais distantes para as demais.

No caso das CA13, a tendência geral é tornarem-se mais negativas com o aumento da afinidade de ligação relativa ao SHBG. As CA13 não apresentam, contudo variação proporcional à afinidade de ligação relativa ao SHBG, apenas uma tendência geral é observada, de modo que a molécula I, P, que possui a mais baixa afinidade de ligação relativa ao SHBG, apresenta a CA13 menos negativa (de -0,039) do grupo molecular; já a molécula VIII, GSD, que possui a maior afinidade de ligação relativa ao SHBG, possui também a CA13 mais negativa (de -0,066) do grupo.

Para efeito de comparação, no caso da atividade contraceptiva oral, capítulo V, chegamos à conclusão que CAs13 mais negativas estão relacionadas com maiores atividades contraceptivas orais. De onde conclui-se que ao aumentar a atividade contraceptiva oral, aumentando a carga negativa na posição 13 do EET, estamos potencialmente aumentando o efeito androgênico do progestogênio através do aumento da afinidade de ligação relativa ao SHBG do mesmo. No capítulo VII, chegamos também à conclusão que afinidades de

ligação por Receptores de Progesterona (RPs) maiores estão relacionadas também à cargas mais negativas na posição 13 do EET.

A tendência geral, das Áreas Moleculares (AM) de van der Waals, é diminuir com o aumento da afinidade de ligação relativa ao SHBG. As moléculas I, II, III e IV, que possuem as menores afinidades de ligação relativa ao SHBG, possuem as maiores AMs do grupo. As moléculas V, VI e VII possuem AMs decrescentes com o aumento da afinidade de ligação relativa ao SHBG. A molécula VIII, apesar de possuir a maior afinidade de ligação relativa ao SHBG do grupo, possui a sétima menor AM do mesmo. Era de se esperar, que se a tendência de variação das AMs fosse mantida, que a molécula VIII possuísse a menor AM do grupo.

Os parâmetros como densidade do elétron de fronteira nas posições 13 ( $F^e_{13}$ ), 17 ( $F^e_{17}$ ) do EET e densidade do radical de fronteira na posição 13 ( $F^r_{13}$ ) do EET separam a molécula VIII do grupo por serem superiores, geralmente de uma ordem de grandeza de no mínimo 10 vezes, no caso da molécula VIII. Embora não haja relação proporcional entre afinidade de ligação relativa ao SHBG e os parâmetros citados, está claro que valores maiores de afinidade de ligação relativa ao SHBG estão relacionados com valores mais elevados de  $F^e_{13}$ ,  $F^e_{17}$  e  $F^r_{13}$ , para o grupo molecular estudado.

No capítulo VII, chegamos à conclusão de que maiores  $F_{13}^r$  estão relacionadas à afinidades de ligação por RPs mais elevadas. Acrescenta-se à esta conclusão que a maiores  $F_{13}^r$  também estão relacionadas as mais elevadas afinidades de ligação relativas ao SHBG, de acordo com nossos estudos.

Bergink et al.(131) analisou aspectos estruturais que determinam a ligação de progestogênios ao SHBG. As conclusões de seus estudos foram as seguintes: o grupo 18-metil fortalece e o grupo 11-metileno enfraquece a ligação ao SHBG. A dupla ligação na posição C-15 fortalece a ligação somente quando combinada com um grupo 18-metil. Desse modo, a ligação de levonorgestrel (18-metil derivado da noretisterona) e gestodene ( $\Delta$ -15, 18-metil derivado da noretisterona) ao SHBG é muito mais forte que 3-ceto desogestrel e noretisterona.

O grupo 18-metil exerce influência na posição 13 do EET, pois está indiretamente ligado com esta posição. Parâmetros relacionados à posição 13, como CA13,  $F_{13}^e$  e  $F_{13}^r$ , foram importantes, em nosso estudo, para classificar as moléculas quanto a afinidade relativa de ligação ao SHBG.

Em nosso caso, embora não haja variação proporcional das CA13 com afinidades de ligação relativas ao SHBG, a tendência geral é tornarem-se mais negativas com o aumento da afinidade de ligação relativa ao SHBG; CA13 menos negativa está relacionada à mais baixa afinidade de ligação ao SHBG e

CA13 mais negativa está relacionada à maior afinidade de ligação ao SHBG. Estes resultados estão de acordo com as conclusões de Bergink et al. que estabelece que o grupo 18 metil fortalece a de ligação ao SHBG, pois a presença do grupo 18 metil proporciona cargas mais negativas na posição 13 do EET.

A presença do grupo 18 metil deve, certamente, favorecer a ligação ao SHBG, mas outros aspectos também devem ser importantes para o estabelecimento de tais ligações, já que a testosterona, desprovida do grupo metil, apresenta alta afinidade de ligação ao SHBG. A testosterona constitui uma exceção, em nossos resultados, que apesar de possuir CA13 não tão negativa quanto as moléculas de maior afinidade de ligação ao SHBG, possui alta afinidade de ligação ao mesmo.

Observando a figura VIII.3, dendograma do agrupamento hierárquico (Hier), podemos verificar que a similaridade entre as moléculas I, II, III e IV é pouco superior a 0,4, porém a similaridade entre as moléculas I e IV é superior a 0,8 e estas últimas têm similaridade de aproximadamente 0,5 com relação à molécula III.

A molécula VIII tem similaridade zero com relação às demais moléculas do grupo.

A molécula V também tem similaridade zero com relação ao grupo e as moléculas VI e VII possuem similaridade de aproximadamente 0,4 entre si.

Este dendograma, como os resultados da PCA, reproduz em parte os resultados por nós esperados. As moléculas V e VI deveriam ter boa similaridade entre si, já que seus valores de afinidade de ligação relativa ao SHBG são próximos; as moléculas I, II, III e IV deveriam também ser mais similares entre si, pois seus valores de afinidade de ligação relativa ao SHBG são coincidentes.

Em estudos desta natureza, um número maior de moléculas sempre é requerido para que se possa tirar conclusões mais confiáveis do ponto de vista estatístico.

Outros parâmetros devem também ser importantes para explicar a afinidade de ligação relativa ao SHBG, já que os anteriormente mencionados conseguem reproduzir em parte os resultados desejados.

#### **VIII.1.a-) Interação entre fármaco - receptor**

Para o grupo molecular estudado, no item VIII.1, cargas atômicas na posição 13 (CA13) do EET mostraram-se, de maneira geral, estar relacionadas à afinidade de ligação relativa ao SHBG, conforme já discutido. Todas as CA13 são negativas. Presume-se, portanto, que cargas atômicas positivas

devam estar presentes no SHBG, interagindo com a posição 13 do esteróide, como mostra, simplificada, a figura VIII.4, a seguir.

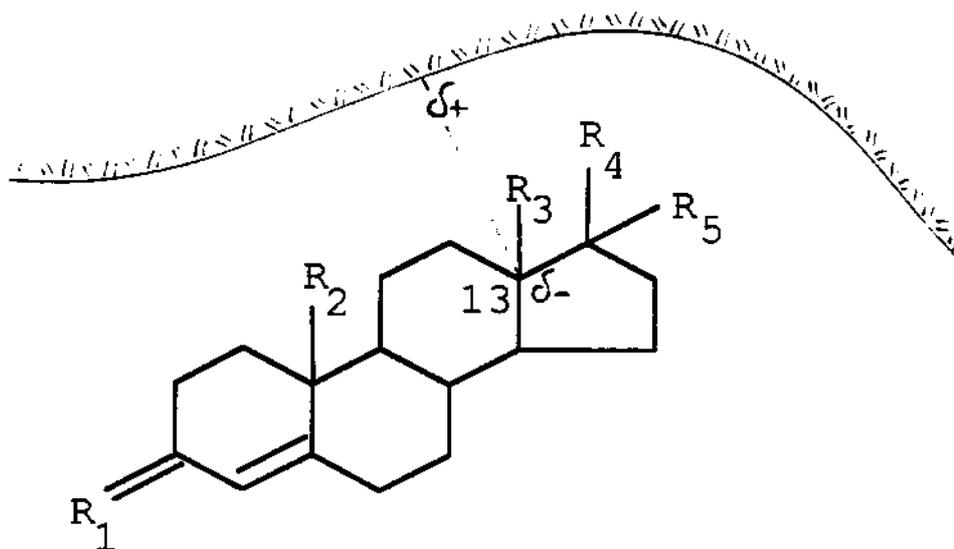


Fig. VIII.4 - Modelo de interação do esteróide com SHBG.

Os parâmetros como densidades do elétron de fronteira nas posições 13 ( $F^e_{13}$ ) e 17 ( $F^e_{17}$ ) do EET estão relacionados à afinidade de ligação ao SHBG da seguinte forma: moléculas com maiores afinidades de ligação tendem a possuir

valores mais elevados de  $F_{13}^e$  e  $F_{17}^e$ . De acordo com os postulados fundamentais da teoria dos orbitais de fronteira propostos por Fukui et al., podemos interpretar estes resultados da seguinte maneira: moléculas com maiores afinidades de ligação ao SHBG tendem a interagir com reagentes, neste caso, algum sítio ativo presente no SHBG, eletrofilicos nas posições 13 e 17 do EET.

A tendência geral das densidades do radical de fronteira na posição 13 ( $F_{13}^r$ ) do EET é possuírem valores superiores para moléculas com maiores afinidades de ligação ao SHBG. Portanto, de acordo com os postulados propostos por Fukui et al., moléculas com maiores afinidades de ligação ao SHBG tenderão a interagir com reagentes radicalares na posição 13 do EET. Como reagentes eletrofilicos também possuem tendência a interagir na posição 13 do EET, a interação, nesta posição, vai ocorrer provavelmente com o reagente que o esteróide primeiro acessar, já que os dois tipos de interações, nesta posição, são favoráveis.

Os modelos propostos para tais interações estão descritos no capítulo V, figuras V.24 e V.25.

## VIII.2 - Afinidade de ligação por SHBG de um outro grupo de progestogênios

Valores de afinidade de ligação por SHBG são disponíveis, na literatura (12), para outro grupo de progestogênios, como mostra a tabela II.13, item II.3, capítulo II.

Como pode ser observado, na tabela II.13, a molécula I,  $5\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT), foi tomada como referência e diz-se que possui uma afinidade de ligação por SHBG de 100%. Segundo Dunn et al. (132), a estrutura molecular que melhor se liga ao SHBG é a  $5\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT), que possui com o mesmo interação de alta afinidade e as afinidades de ligação de outros esteróides ao SHBG são usualmente comparadas ao DHT. A planaridade da molécula esteroideal, e particularmente o ângulo entre o anel A e o plano formado pelos anéis B, C e D tem um acentuado impacto na afinidade de vários esteróides ao SHBG (133).

As moléculas II, III, IV, V e VI ( gestodene, levonorgestrel, desogestrel, noretisterona e 17-acetil norgestimato, respectivamente) apresentam uma afinidade de ligação relativa por SHBG de 17%, 13%, 5%, 2,5% e 0%, respectivamente, como mostrado na figura VIII.5.

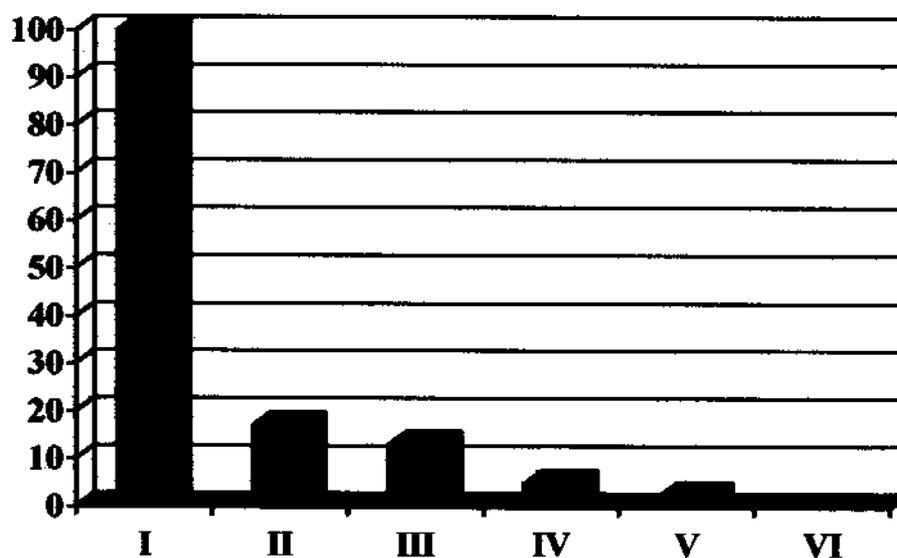


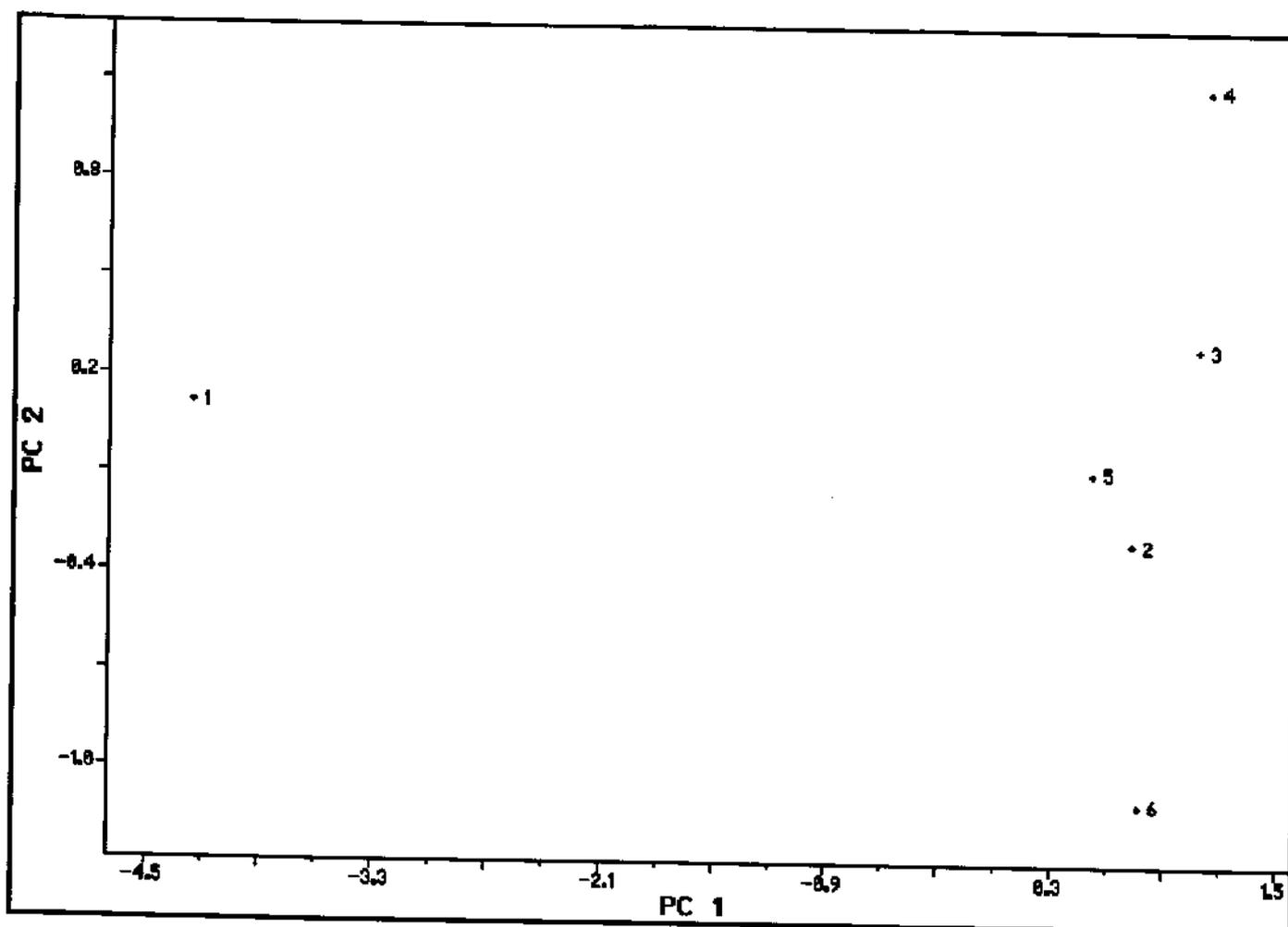
Figura VIII.5 – Afinidade de ligação relativa por SHBG.

Pretendemos separar a molécula I, no gráfico dos escores das componentes principais (PCs), das demais moléculas deste grupo, por esta apresentar, de longe, a maior afinidade de ligação por SHBG do grupo. As moléculas II, III, IV, V e VI apresentam afinidades de ligação por SHBG bastante inferiores à da molécula I, sendo que a molécula VI, 17-acetil norgestimato, apresenta afinidade igual a zero. Por esta razão, desejamos agrupar as moléculas II, III, IV, V e VI no gráfico dos escores das PCs

Pretendemos, mais uma vez, selecionar os parâmetros físico-químicos (se houver) responsáveis pela maior (ou menor) afinidade de ligação por SHBG

das moléculas em estudo. Utilizaremos os métodos de reconhecimento de padrões, como PCA e Hier, para tal finalidade.

A figura VIII.6, a seguir, representa o gráfico dos escores das PCs; a figura VIII.7, o gráfico dos loadings e a figura VIII.8, o dendograma do agrupamento hierárquico (Hier).



onde cinco parâmetros físico-químicos foram utilizados; 1,2,3,...6 são os progestogênios (I),(II),(III)...(VI), respectivamente.

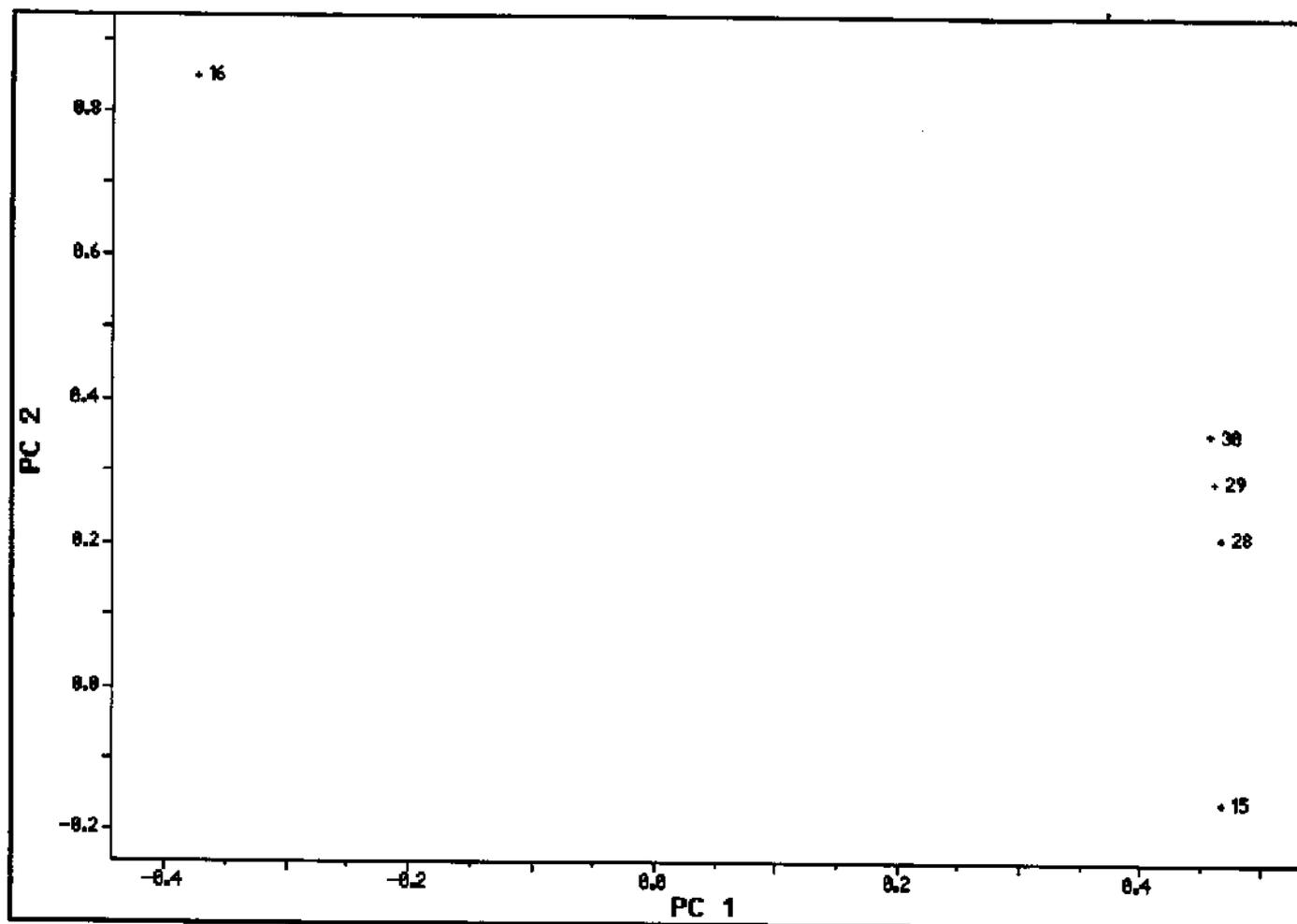


Figura VIII.7 - Gráfico dos loadings, utilizando cinco parâmetros físico-químicos, onde 15 representa carga atômica na posição 17 (CA17) do esqueleto esteroidal (EET); 16 representa a dureza molecular ( $\eta$ ); 28, 29 e 30 representam as densidades do orbital de fronteira nas posições 5 ( $F^{\circ}_5$ ), 7 ( $F^{\circ}_7$ ) e 9 ( $F^{\circ}_9$ ), respectivamente, do EET.

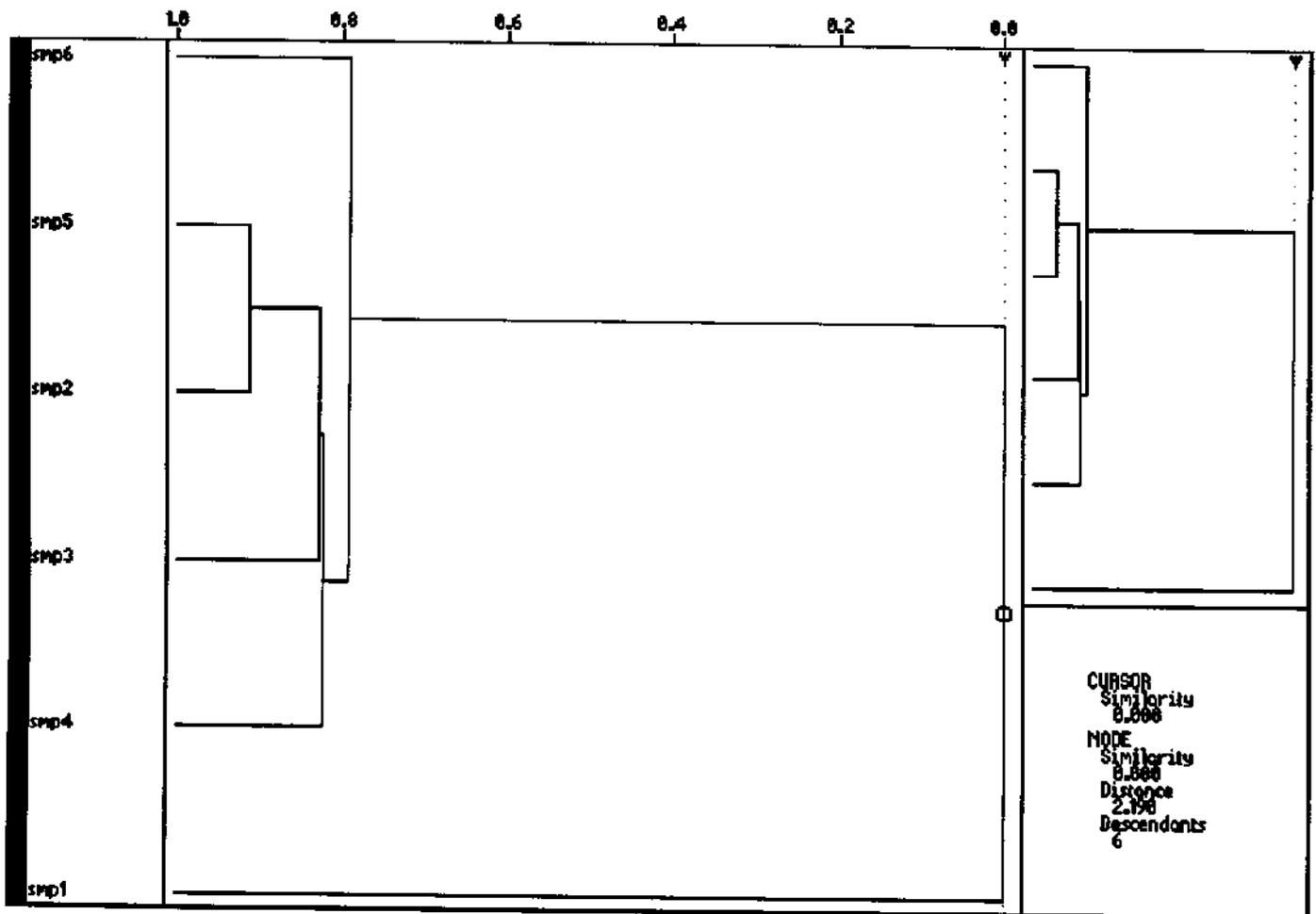


Figura VIII.8 - Dendrograma representando o agrupamento hierárquico (Hier), para os progestogênios I, II, ... VI, obtido com cinco parâmetros físico-químicos, onde smp1, smp2, ... smp6 representam os progestogênios I, II, ... VI, respectivamente .

Através da observação da figura VIII.6, gráfico dos escores das PCs, podemos verificar a separação da molécula I das demais do grupo, conforme pretendemos no início deste estudo.

Ao observarmos a figura VIII.7, gráfico dos loadings, simultaneamente com a figura VIII.6, é possível concluir que o parâmetro que mais contribui para a separação da molécula I do restante do grupo é a dureza molecular ( $\eta$ ), representado pelo número 16 na figura VIII.7. Os parâmetros que mais contribuem para o agrupamento das moléculas II, III, IV, V e VI são: a carga atômica na posição 17 (CA17) do EET, as densidades do orbital de fronteira nas posições 5 ( $F^{\circ}_5$ ), 7 ( $F^{\circ}_7$ ) e 9 ( $F^{\circ}_9$ ) do EET, representados pelos números 15, 28, 29 e 30, respectivamente, na figura VIII.7.

Elaboramos a tabela VIII.2, a seguir, onde se encontram os parâmetros selecionados neste estudo, pelos métodos de PCA e Hier, dispostos de acordo com a ordem decrescente de afinidade de ligação por SHBG das moléculas estudadas.

Tabela VIII.2 - Ordem decrescente de afinidade de ligação por SHBG e parâmetros físico-químicos selecionados pelos métodos de PCA e Hier.

Molécula	Afinidade de ligação por SHBG (%)	$\eta$	CA17	$F^{\circ}_5$	$F^{\circ}_7$	$F^{\circ}_9$
I (DHT)	100	5,578	$3,10 \cdot 10^{-2}$	$3,62 \cdot 10^{-2}$	$1,34 \cdot 10^{-3}$	$4,08 \cdot 10^{-3}$
II (GSN)	17	4,935	$2,16 \cdot 10^{-1}$	$7,47 \cdot 10^{-1}$	$1,14 \cdot 10^{-2}$	$1,32 \cdot 10^{-2}$
III (LNG)	13	4,988	$1,94 \cdot 10^{-1}$	$7,50 \cdot 10^{-1}$	$1,43 \cdot 10^{-2}$	$1,62 \cdot 10^{-2}$
IV (DSG)	5	5,210	$1,94 \cdot 10^{-1}$	$8,58 \cdot 10^{-1}$	$1,57 \cdot 10^{-2}$	$1,65 \cdot 10^{-2}$
V (NET)	2,5	4,985	$1,90 \cdot 10^{-1}$	$7,48 \cdot 10^{-1}$	$1,14 \cdot 10^{-2}$	$1,35 \cdot 10^{-2}$
VI (ANGM)	0	4,664	$1,98 \cdot 10^{-1}$	$6,40 \cdot 10^{-1}$	$1,20 \cdot 10^{-2}$	$1,26 \cdot 10^{-2}$

De acordo com a tabela VIII.2, podemos verificar que, de maneira geral, moléculas que possuem menores afinidades de ligação por SHBG possuem valores menores de dureza molecular ( $\eta$ ). A molécula I (DHT), cuja afinidade de ligação por SHBG é a maior do grupo, possui a maior  $\eta$  com relação ao mesmo. Durezas Moleculares menores estão relacionadas à menores afinidades de ligação por SHBG, para este grupo molecular estudado.

As cargas atômicas na posição 17 (CA17) do EET são bastante próximas para as moléculas II, III, IV, V e VI, por isso contribuem para que se agrupem. A molécula I (DHT), que possui a maior afinidade de ligação por SHBG, possui a menor CA17 do grupo, de uma ordem de grandeza 10 vezes inferior às demais. Portanto, cargas atômicas na posição 17 do EET maiores estão relacionadas à menores afinidades de ligação por SHBG, de acordo com nosso estudo. Fazendo um breve parênteses, vale comentar que, de acordo com os

trabalhos de Hammond et al. (134), um grupo  $17\beta$ -OH é absolutamente requerido para que se obtenha uma forte ligação ao SHBG. Além disso, uma cetona em C3 é também importante para uma ligação ótima ao SHBG. Mas um grupo OH nesta posição é tolerado somente com uma diminuição de 3 vezes na afinidade de ligação. Em geral, para se obter uma ligação ótima do esteróide ao SHBG parece ser necessário um esteróide com C19 planar com um grupo  $17\beta$ -OH e um grupo funcional eletronegativo em C3. A molécula I, DHT, deve enquadrar-se nestes três requisitos.

Com exceção da molécula VI, ANGM, todas as outras moléculas apresentam um grupo  $17\beta$ -OH e, com exceção das moléculas IV e VI, DSG e ANGM, respectivamente, todas as outras moléculas possuem uma cetona em C3. Nem por isso todas estas moléculas possuem altas afinidades de ligação ao SHBG. Portanto, outras condições devem associar-se a estas para se obter uma forte ligação ao SHBG. As condições citadas, como presença de um grupo  $17\beta$ -OH e cetona em C3, são necessárias ao que tudo indica, mas não suficientes para se estabelecer forte ligação ao SHBG.

As densidades do orbital de fronteira na posição 5 ( $F^{\circ}_5$ ) do EET são próximas para as moléculas II, III, IV, V e VI. O mesmo pode-se dizer com relação às densidades do orbital de fronteira nas posições 7 ( $F^{\circ}_7$ ) e 9 ( $F^{\circ}_9$ ) do EET. Por esta razão, estes parâmetros agrupam estas moléculas na região à

direita do gráfico dos escores das PCs, figura VIII.6. Moléculas, cujas afinidades de ligação por SHBG são menores, possuem valores relativos maiores destes parâmetros. A molécula I possui  $F^0_5$ ,  $F^0_7$  e  $F^0_9$  de uma ordem de grandeza 10 vezes inferior com relação aos valores do restante do grupo. Conclui-se, portanto que valores maiores de densidades do orbital de fronteira nas posições 5, 7 e 9 do EET estão relacionados à menores afinidades de ligação por SHBG deste grupo molecular estudado.

Observando a figura VIII.8, dendograma do agrupamento hierárquico, podemos constatar que a molécula I possui similaridade zero com as demais do grupo. As moléculas II, III, IV e V possuem similaridade pouco superior à 0,8 entre si e a molécula VI possui similaridade de aproximadamente 0,8 com relação à estas últimas. Desta forma, os resultados do agrupamento hierárquico são bastante satisfatórios no que diz respeito aos objetivos iniciais deste estudo.

### **VIII.2.a-) Interação fármaco-receptor**

Neste estudo, chegou-se à conclusão de que valores maiores de dureza molecular ( $\eta$ ) parecem relacionar-se à moléculas que possuem maiores afinidades de ligação por SHBG.

Como citado no capítulo III, a dureza molecular pode ser escrita como  $\eta \equiv \frac{1}{2} (\epsilon_{\text{LUMO}} - \epsilon_{\text{HOMO}})$ , ou seja,  $\eta$  representa a metade da separação entre os dois orbitais de fronteira.

De acordo com nossos resultados, decorre que a afinidade de ligação por SHBG é favorecida quando a separação entre LUMO e HOMO, das moléculas estudadas, é de maior proporção. Diz-se que uma molécula é dura quando possui grande separação entre os orbitais de fronteira e a distribuição eletrônica resiste ao rearranjo de uma perturbação. Portanto, moléculas mais duras, parece estar relacionadas à maiores afinidades de ligação ao SHBG.

Em decorrência dos trabalhos de Pearson (78), dizemos que moléculas duras ligam-se fortemente à outras moléculas duras, devido à grande diferença entre os orbitais envolvidos. Por esta razão, presume-se que os sítios ativos presentes no SHBG devam ser também duros.

Para efeito de comparação, no capítulo VII, chegou-se à conclusão de que quanto maior  $\eta$ , maior a afinidade de ligação por RAs. No capítulo VI, concluímos que valores de  $\eta$  mais elevados estão associados à menor atividade progestacional.

Resumidamente, nossos estudos indicam que:

- Valores mais elevados de  $\eta$  relacionam-se à menor atividade progestacional.

- Valores mais elevados de  $\eta$  relacionam-se à maior afinidade de ligação por RAs e por SHBG.

- É provável que moléculas com valores de  $\eta$  acima de 5,578 estejam relacionadas com atividades androgênicas elevadas (devido à grande afinidade de ligação por RAs e por SHBG).

Cargas atômicas na posição 17 (CA17) do EET são importantes também para a afinidade de ligação ao SHBG. Para as moléculas estudadas, CA17 são todas positivas. Em contrapartida, cargas atômicas negativas, presentes nos sítios receptores do SHBG, devem interagir nesta posição do EET. Esta interação entre a molécula e o sítio receptor do SHBG pode ser esquematizada, simplificadamente, como na figura VIII.9, a seguir:

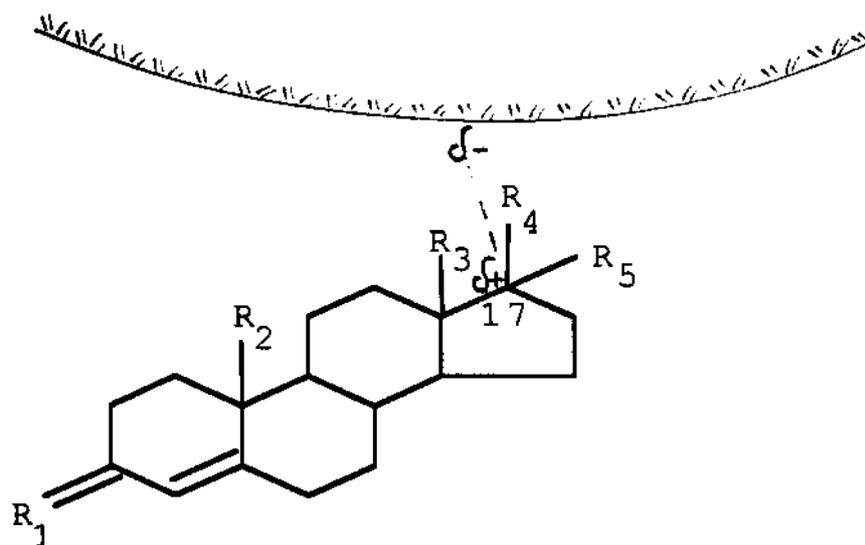


Fig. VIII.9 - Modelo da interação entre as moléculas estudadas e o sítio receptor do SHBG.

Outra conclusão, pertinente a este capítulo, é que valores menores de densidade do orbital de fronteira nas posições 5 ( $F^{\circ}_5$ ), 7 ( $F^{\circ}_7$ ) e 9 ( $F^{\circ}_9$ ) do EET, estão relacionados à moléculas com maior afinidade de ligação por SHBG. No capítulo VI, concluímos que densidades do orbital de fronteira na posição 5 ( $F^{\circ}_5$ ) do EET mais baixas estão relacionadas às maiores afinidades de ligação por RAs e que ( $F^{\circ}_5$ ) mais elevadas estão relacionadas à maiores afinidades de ligação por RPs. Isto indica que moléculas com valores mais elevados de ( $F^{\circ}_5$ ) ligam-se preferencialmente aos RPs e moléculas com valores relativos mais baixos de ( $F^{\circ}_5$ ) ligam-se preferencialmente aos RAs. Com os resultados obtidos neste capítulo, soma-se à última conclusão que aos valores relativos mais baixos de ( $F^{\circ}_5$ ) estão associadas moléculas com maiores afinidades de ligação por SHBG.

É interessante notar as tendências opostas dos parâmetros físico-químicos que se correlacionam com RPs e RAs. Estas tendências refletem as diferentes naturezas destes receptores. As tendências ao correlacionar-se com RPs ora favorecem, ora dificultam as ligações com SHBG.

## **CAPÍTULO IX – Considerações Finais**

### **IX.1 – Sumário dos Resultados**

O capítulo I relata a importância de se realizar o controle do crescimento populacional através do planejamento familiar. A pílula anticoncepcional teve e terá importante participação no controle populacional do mundo. Além do mais, os progestogênios utilizados nas mesmas possuem muitas outras utilidades e aplicações farmacológicas, além da inibição da ovulação. Desse modo, as razões que motivaram este trabalho amplamente justifica os estudos teóricos sobre essa classe de compostos.

Realizou-se cálculos semi-empíricos de orbitais moleculares em 34 esteróides, utilizando-se o programa MOPAC, versão 6.0. O método semi-empírico AM1 foi empregado.

Parâmetros físico-químicos foram calculados e submetidos à análise estatística, através dos métodos de reconhecimento de padrões como análise de componentes principais (PCA) e agrupamento hierárquico (Hier). A metodologia da rede neural (para as  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas substituídas) também foi empregada. Nosso objetivo é encontrar possíveis relações entre estes e as atividades: contraceptiva oral, androgênica, progestacional e os

efeitos farmacológicos como: afinidade de ligação por RPs, afinidade de ligação por RAs e afinidade de ligação por SHBG. Os resultados destes estudos encontram-se discutidos nos capítulos V, VI, VII e VIII.

Um resumo destes resultados encontram-se a seguir:

### **Atividade Contraceptiva Oral**

Cálculos AM1 foram efetuados para 6 progestogênios utilizados atualmente em formulações de contraceptivos orais, para os quais valores de atividade biológica estão disponíveis na referência 16. Os parâmetros físico-químicos relacionados à atividade contraceptiva oral, selecionados pelos métodos de PCA e Hier, capazes de separar molécula menos ativa das mais ativas, são: cargas atômicas nas posições 10, 13 e 17 do esqueleto esteroidal (EET), potencial de ionização, eletronegatividade de Mulliken ( $\chi$ ) e afinidade eletrônica.

Nossos resultados indicam que a atividade contraceptiva oral seja favorecida quando os progestogênios possuírem cargas atômicas na posição 17 do EET positivas na faixa entre 0,190 a 0,224. Carga atômica negativa, nesta posição, está relacionada com menor atividade contraceptiva oral. Cargas atômicas na posição 10 do EET na faixa de  $-0,06$  a  $-0,08$  também

parecem ser favoráveis à atividade contraceptiva oral; carga menos negativa nesta posição de  $-0,02$  relaciona-se a progestogênio menos ativo. As cargas atômicas na posição 13 do EET na faixa de  $-0,061$  a  $-0,072$  estão relacionadas às maiores atividades contraceptivas orais; carga menos negativa de  $-0,039$  relaciona-se ao progestogênio menos ativo.

Potenciais de Ionização (PIs) na faixa de  $9,050$  a  $10,001$  eV relacionam-se à maiores atividades contraceptivas orais; PI superior de  $10,055$  eV está relacionado à menor atividade contraceptiva oral.

Eletronegatividade de Mulliken entre  $4,011$  e  $5,025$  eV estão relacionados às maiores atividades contraceptivas orais;  $\chi$  de  $5,054$  eV relaciona-se à menor atividade contraceptiva oral.

Valores de afinidades eletrônicas de  $-1,199$  a  $0,048$  eV são favoráveis à atividade contraceptiva oral; valor superior a este intervalo de  $0,052$  eV parece não favorecer a mesma.

Todos estes parâmetros, em última análise, influenciam o modo de interação entre o progestogênio e o RP, facilitando ou não esta interação. Pois para que o progestogênio exerça sua atividade é necessário que se complexa com o RP, promovendo mudança conformacional no mesmo e tornando-o acessível ao DNA para a transcrição de gene. Portanto, os parâmetros selecionados que contribuem para as maiores atividades contraceptivas orais,

devem ser também aqueles que promovem a complexação do progestogênio com o RP com alta afinidade, garantindo assim a mudança conformacional necessária para seu acesso ao DNA.

### **Efeito Androgênico**

Os efeitos androgênicos, para o mesmo grupo de 6 progestogênios, foram tabelados na referência 16.

Os parâmetros físico-químicos relacionados aos efeitos androgênicos, selecionados pelos métodos de PCA e Hier, são: densidade do radical de fronteira nas posições 7, 9 e 10 do EET; densidade do elétron de fronteira nas posições 7, 9 e 10 do EET e densidade do orbital de fronteira na posição 9 do EET. O progestogênio de maior caráter androgênico está relacionado aos índices de fronteira mais elevados e os progestogênios de menor caráter androgênico aos menores índices de fronteira, como relatados no capítulo V.

### **Atividade Progestacional**

Cálculos AM1 foram efetuados em 23  $17\alpha$ -acetoxiprogesteronas, para as quais dados de atividade progestacional oral são disponíveis na referência 35. Foram selecionados 11 parâmetros, pelos métodos de PCA e Hier, dos 34

inicialmente calculados: Potencial de Ionização, Dureza Molecular ( $\eta$ ), densidade do elétron de fronteira nas posições 3 e 10 do EET, densidade do orbital de fronteira nas posições 3 e 10 do EET e densidade do radical de fronteira nas posições 3, 10 e 17 do EET e carga atômica na posição 17 do EET. Existem faixas nítidas de variação destes parâmetros às quais associam-se os progestogênios mais ativos e faixas às quais associam-se progestogênios menos ativos, conforme tabela a seguir:

Intervalo de variação dos parâmetros, selecionados por PCA e Hier, para progestogênios mais e menos ativos

<b>Parâmetros selecionados</b>	<b>intervalo de variação para moléculas mais ativas</b>	<b>Intervalo de variação para moléculas menos ativas</b>
PI (eV)	9,275 - 9,480	10,001 - 10,567
$\eta$ (eV)	4,317 - 4,392	4,828 - 5,004
$F_3^{(e)}$	10x menores	
$F_{10}^{(e)}$	10x menores	
$F_3^{(o)}$	$2,07 \cdot 10^{-1}$ - $3,04 \cdot 10^{-1}$	$3,17 \cdot 10^{-1}$ - $4,24 \cdot 10^{-1}$
$F_{10}^{(o)}$	10x menores	
$F_3^{(r)}$	$1,04 \cdot 10^{-1}$ - $1,52 \cdot 10^{-1}$	$1,59 \cdot 10^{-1}$ - $2,14 \cdot 10^{-1}$
$F_{10}^{(r)}$	10x menores	
$F_{17}^{(r)}$	10x menores	
CA17	$4,83 \cdot 10^{-2}$ - $5,06 \cdot 10^{-2}$	$5,06 \cdot 10^{-2}$ - $1,90 \cdot 10^{-1}$
CA06	$-9,56 \cdot 10^{-2}$ - $6,30 \cdot 10^{-2}$	Abaixo ou acima do limite, em geral

Cálculos empregando rede neural foram efetuados, utilizando-se estes 11 parâmetros, ocorrendo 95% de acerto na classificação molecular e 95% de

acerto na predição em categorias pelo método “leave one out”. O método de PCA classificou com 78% de acerto a classificação deste mesmo grupo molecular. O fato da rede neural classificar, com alta porcentagem de acerto, as categorias deste grupo molecular pode ser atribuído ao modo de operação não-linear da rede que reflete o caráter não-linear da relação entre os parâmetros físico-químicos e a atividade progesteronal.

### **Afinidade de ligação por Receptores de Progesterona (RPs)**

Valores de afinidade de ligação por receptores de progesterona encontram-se na referência 135 para as sete moléculas estudadas. Cálculos AM1 foram realizados e os parâmetros físico-químicos, que mais contribuem para a separação deste grupo molecular, foram selecionados pelos métodos de PCA e Hier. Os parâmetros são: carga atômica na posição 13 do EET, densidade do radical de fronteira na posição 13 do EET, densidade do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET e carga atômica na posição 16 do EET.

Cargas atômicas mais negativas na posição 13 do EET, na faixa de  $-0,061$  a  $-0,072$ , parece relacionar-se às maiores afinidades de ligação por RPs. As tendências da densidade do elétron de fronteira e radical de fronteira na posição 13 do EET não é bem definida para este grupo molecular. Porém, o

que nitidamente pode ser observado é que as 2 moléculas que possuem as maiores afinidades de ligação por RPs, possuem os maiores valores de  $F_{13}^c$  e  $F_{13}^f$  do grupo, de uma ordem de grandeza de 10 vezes.

Do mesmo modo, valores de  $F_4^o$  e  $F_5^o$  não variam proporcionalmente com a afinidade de ligação por RPs. Existe uma tendência geral destes parâmetros terem seus valores relativos maiores com o aumento da afinidade de ligação por RPs. O que concretamente pode ser observado é que a molécula que possui a menor afinidade de ligação por RP, possui  $F_4^o$  de uma ordem de 100 vezes menor e  $F_5^o$  de uma ordem de 10 vezes menor que os demais parâmetros da série correspondentes às moléculas de maior afinidade de ligação por RPs.

A tendência das cargas atômicas na posição 16 do EET é tornarem-se menos negativas com o aumento da afinidade de ligação por RPs. Provavelmente cargas atômicas na posição 16 do EET na faixa de  $-0,185$  a  $-0,148$  sejam favoráveis à afinidade de ligação por RPs.

### **Afinidade de ligação por Receptores de Androgênio (RAs)**

Para o mesmo grupo molecular estudado anteriormente, dispomos de valores de afinidade de ligação por RAs (135).

Os parâmetros selecionados, pelos métodos de PCA e Hier, relacionados à afinidade de ligação por RAs, são: carga atômica na posição 3 do EET, dureza molecular, densidade do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET e carga atômica na posição 4 do EET.

Valores relativamente mais altos de dureza molecular ( $\eta$ ) estão associados com maiores afinidades de ligação por RAs. Se a tendência de  $\eta$ , obtida através de nossos estudos, for correta valores de  $\eta$  igual ou superior a 5,578 devem relacionar-se à elevadas afinidades de ligação por RAs.

A tendência dos PIs é serem de maior magnitude no caso de moléculas com maiores afinidades de ligação por RAs.

Densidade do orbital de fronteira nas posições 4 e 5 do EET também não possuem valores proporcionais com a afinidade de ligação por RAs. Contudo, ao menor valor de  $F^{\circ}_3$  (de uma ordem de 100 vezes com relação aos outros parâmetros do grupo) e  $F^{\circ}_4$  (de uma ordem de 10 vezes) está relacionada a molécula de maior afinidade de ligação por RAs. No estudo anterior tendências opostas foram verificadas para afinidade de ligação por RPs.

Carga atômica na posição 3 do EET não varia de maneira proporcional com a afinidade de ligação por RAs. O que é conclusivo, com respeito a este

parâmetro é que carga negativa nesta posição está relacionada com menores afinidades de ligação por RAs.

Carga atômica na posição 4 do EET é outro parâmetro não proporcional à afinidade de ligação por RAs. É provável que valores mais negativos de cargas atômicas na posição 4 do EET estejam relacionados à maiores afinidades de ligação por RAs. Um número maior de moléculas poderia confirmar ou não esta tendência. A ausência de número maior de moléculas, disponíveis na literatura, com valores de afinidades de ligação por RAs e RPs torna mais difícil uma conclusão mais precisa sobre estes estudos.

### **Afinidade de ligação por SHBG humano in vitro**

Afinidades de ligação por SHBG humano in vitro encontram-se tabeladas para os 8 compostos estudados (36). Cálculos AM1 foram realizados para os mesmos. Os parâmetros selecionados por PCA e Hier são: carga atômica na posição 13 do EET, área molecular de van der Waals, densidade do elétron de fronteira nas posições 13 e 17 do EET e densidade do radical de fronteira na posição 13 do EET. Todos esses parâmetros não possuem variação proporcional com a afinidade de ligação por SHBG, embora

consigam separar este grupo molecular de maneira próxima a reproduzir suas afinidades relativas ao SHBG.

A tendência geral das cargas atômicas na posição 13 (CA13) do EET é tornarem-se mais negativas com o aumento da afinidade de ligação relativa ao SHBG. As CA13 não apresentam como já dito variação proporcional à afinidade de ligação por SHBG, apenas uma tendência geral é observada, de modo que a molécula que possui a mais baixa afinidade de ligação ao SHBG, apresenta a CA13 menos negativa do grupo molecular (-0,039); já a molécula que possui a maior afinidade de ligação ao SHBG, possui também a CA13 mais negativa (-0,066) do grupo.

A tendência geral das área moleculares (AMs) de van der Waals é diminuir com o aumento da afinidade de ligação relativa ao SHBG. Apesar das AMs não variarem de maneira proporcional à afinidade de ligação relativa ao SHBG, as 4 moléculas que possuem as menores afinidades de ligação ao SHBG, possuem as maiores AMs do grupo. As demais moléculas possuem AMs praticamente decrescente com o aumento da afinidade de ligação ao SHBG.

Parâmetros como densidade do elétron de fronteira nas posições 13 e 17 do EET e densidade do radical de fronteira na posição 13 do EET também não variam proporcionalmente com a afinidade de ligação relativa ao SHBG.

Porém, valores mais elevados destes parâmetros parece relacionar-se às maiores afinidades de ligação por SHBG.

Também neste caso, um maior número de moléculas, provavelmente permitiria conclusões mais definidas sobre as tendências destes parâmetros.

### **Afinidade de ligação por SHBG de outro grupo de progestogênios**

Um outro grupo de progestogênios foi estudado quanto a afinidade de ligação por SHBG (11). Os parâmetros selecionados, pelos métodos de PCA e Hier, capazes de separar este grupo molecular são: dureza molecular, carga atômica na posição 17 do EET, densidades do orbital de fronteira nas posições 5, 7 e 9 do EET.

A dureza molecular é nitidamente superior para a molécula que apresenta a maior afinidade de ligação por SHBG do grupo. Valores mais elevados de  $\eta$  relacionam-se à maiores afinidade de ligação por SHBG. É provável que moléculas com  $\eta$  igual ou superior a 5,578 estejam relacionadas com atividades androgênicas elevadas, devido à grande afinidade de ligação por RAs e por SHBG.

A menor carga atômica na posição 17, de uma ordem de 10 vezes inferior às demais, relaciona-se à molécula de maior afinidade de ligação por SHBG.

As densidades do orbital de fronteira nas posições 5, 7 e 9 do EET também são de uma ordem de grandeza de 10 vezes inferiores para a molécula de maior afinidade de ligação por SHBG.

## **IX.2 – Conclusões**

1-) A utilização de parâmetros calculados, através de química quântica e outros métodos computacionais, permitiu a realização dos estudos entre estrutura e atividades biológicas/efeitos farmacológicos propostos neste projeto, sem ajuda de parâmetros experimentais ou clássicos, tradicionalmente usados em QSAR/SAR.

2-) As metodologias empregadas, tanto PCA como Rede Neural, foram capazes de classificar os compostos e estudar aspectos da relação entre estrutura-atividade biológica. O método da rede neural mostrou-se capaz de classificar, com maior porcentagem de acerto, o grupo das 17 $\alpha$ -

acetoxiprogesteronas substituídas, com relação ao método de análise de componentes principais.

Vantagens e desvantagens dos métodos de PCA (do programa Pirouette) e Rede Neural (do programa PSDD):

	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>PCA (Pirouette)</b>	1- Seleciona parâmetros importantes rapidamente. 2- Classificação visual imediata na tela do computador.	1- Maior porcentagem de erro na classificação preditiva e não-preditiva. 2- Previsão leave one out não automática.
<b>Rede Neural (PSDD)</b>	1- Uma vez escolhidos os parâmetros, fácil previsão (leave one out, por exemplo).	1- Seleção de parâmetros por tentativa e erro. Não há método sistemático de seleção de parâmetros.

3-) A seleção de parâmetros por PCA, para uso em rede neural, mostrou ser um bom critério de escolha de parâmetros, já que os resultados na classificação molecular, utilizando parâmetros assim obtidos, tiveram boas porcentagens de acerto. Porcentagens essas superiores às obtidas por PCA.

4-) Um método de classificação tem utilidade se for capaz de *prever* as categorias de compostos. Neste sentido, a utilização de *todos os parâmetros*

*selecionados por PCA* proporcionou melhores resultados na classificação preditiva empregando rede neural.

Baseando-se nos parâmetros selecionados por PCA, obtivemos as seguintes faixas mais relevantes de variação dos mesmos com as atividades biológicas/efeitos farmacológicos propostos neste projeto:

5-) Valores de Potenciais de Ionização (PIs) entre 9,275 a 9,480 eV favorecem a atividade progestacional. PIs entre 10,001 a 10,567eV relacionam-se às mais baixas atividades progestacionais. A atividade contraceptiva oral é favorecida por PIs entre 9,050 a 10,012 eV e desfavorecida quando o PI chega ao valor de 10,055eV. Ao atingir o valor de 10,215 eV, o esteróide adquire elevada afinidade de ligação por receptores de androgênio.

Há gratificante coerência nos resultados acima obtidos: PIs menores favorecem a atividade progestacional e a atividade contraceptiva oral; PIs maiores favorecem as afinidadesde ligação por receptores de androgênio.

6-) Dureza Molecular ( $\eta$ ) na faixa de 4,317 a 4,392 eV relacionam-se à maiores atividades progestacionais; na faixa de 4,828 a 5,004 eV relacionam-se à mais baixas atividades progestacionais. Ao atingir o valor de 5,578 eV

relaciona-se à altas afinidades de ligação por receptores de androgênio e SHBG.

Novamente, os resultados obtidos são consistentes e indicam que valores de  $\eta$  menores estão associados à maiores atividades progesteronais. À medida que  $\eta$  cresce vai relacionando-se à menores atividades progesteronais até chegar a um valor que vai favorecer a alta afinidade de ligação por receptores de androgênio.

7-) Cargas atômicas na posição 13 (CA13) do EET entre  $-0,061$  a  $-0,072$  relacionam-se com potentes contraceptivos orais; na faixa de  $-0,062$  a  $-0,066$  relacionam-se à altas afinidades de ligação por receptores de progesterona. Valores menos negativos de CA13, de  $-0,039$  por exemplo, relaciona-se a menor atividade contraceptiva oral e de  $-0,041$  à baixa afinidade de ligação por receptores de progesterona.

Logo, existe uma faixa ótima de CA13 que favorece a afinidade de ligação por receptores de progesterona e a atividade contraceptiva oral.

Valores de CA13 da ordem de  $-0,066$  relacionam-se também a alta afinidade de ligação por SHBG.

8-) Densidade do elétron de fronteira na posição 10 ( $F_{10}^e$ ) do EET na faixa de  $3,67.10^{-3}$  a  $6,65.10^{-3}$  relaciona-se à maiores atividades progesterônicas;  $F_{10}^e$  na faixa de  $4,08.10^{-2}$  a  $7,06.10^{-2}$  relaciona-se à menores atividades progesterônicas.

Por outro lado,  $F_{10}^e$  na faixa de  $5,62.10^{-3}$  a  $6,43.10^{-3}$  relaciona-se a menores efeitos androgênicos; à medida que  $F_{10}^e$  aumenta, vai aumentando também seu efeito androgênico, quando  $F_{10}^e$  atinge o valor de  $6,68.10^{-2}$  já relaciona-se com grande efeito androgênico.

Portanto,  $F_{10}^e$  na faixa de  $3,67.10^{-3}$  a  $6,65.10^{-3}$  relaciona-se à maiores atividades progesterônicas e a menores efeitos androgênicos, tornando essa faixa altamente desejável no desenvolvimento de contraceptivos orais por motivos óbvios.  $F_{10}^e$  na faixa de  $4,08.10^{-2}$  a  $7,06.10^{-2}$  relaciona-se à menores atividades progesterônicas e à maiores efeitos androgênicos, tornando-a indesejável, obviamente, no caso de se requerer efeito progesterônico .

9-) Densidade do radical de fronteira na posição 10 ( $F_{10}^r$ ) do EET entre  $1,98.10^{-3}$  a  $4,12.10^{-3}$  favorece a atividade progesterônica; na faixa entre  $2,11.10^{-2}$  a  $3,93.10^{-2}$  relaciona-se a mais baixas atividades progesterônicas.

$F_{10}^r$  na faixa entre  $3,42.10^{-3}$  a  $3,27.10^{-2}$  relaciona-se a menores efeitos androgênicos; ao aumentar, aumenta seu efeito androgênico e no valor de  $3,42.10^{-2}$  relaciona-se à elevados efeitos androgênicos.

A partir destes resultados, conclui-se que a faixa ótima de  $F_{10}^r$  quando atividade progestacional é a requerida está entre  $1,98.10^{-3}$  a  $4,12.10^{-3}$ , pois é favorável à atividade progestacional e ainda não atingiu o valor que eleva o efeito androgênico.

10-) Densidade do orbital de fronteira na posição 9 ( $F_9^o$ ) do EET na faixa de  $9,39.10^{-3}$  a  $1,65.10^{-2}$  está relacionada, em geral, à menores efeitos androgênicos. A tendência é o efeito androgênico aumentar com o aumento de  $F_9^o$ . Menores afinidades de ligação por SHBG estão relacionados a  $F_9^o$ , na faixa entre  $1,26.10^{-2}$  a  $1,65.10^{-2}$ ; maiores afinidades de ligação por SHBG acontecem com  $F_9^o$ , menores, da ordem de  $10^{-3}$ , por exemplo.

Portanto, se o objetivo é diminuir o efeito androgênico do esteróide, a faixa na qual  $F_9^o$  deve pertencer é entre  $1,26.10^{-2}$  a  $1,65.10^{-2}$ , pois se  $F_9^o$  exceder o limite superior desta faixa, o efeito androgênico é aumentado e se exceder o limite inferior aumenta a afinidade de ligação por SHBG, incrementando o poder androgênico.

11-) Densidade do elétron de fronteira na posição 13 ( $F_{13}^e$ ) do EET entre  $9,70.10^{-3}$  a  $6,19.10^{-2}$  favorecem a afinidade de ligação por receptores de progesterona; a tendência é a afinidade de ligação por receptores de progesterona diminuir com a diminuição de  $F_{13}^e$ , por exemplo ao  $F_{13}^e$  atingir o valor de  $8,08.10^{-3}$  já relaciona-se à pequena afinidade ligação por receptores de progesterona.

Porém, se  $F_{13}^e$  adquirir o valor de  $5,52.10^{-2}$  relaciona-se com altas afinidades de ligação por SHBG; valores de uma ordem de grandeza 10 vezes menores relacionam-se com menores afinidades de ligação por SHBG.

Portanto, conclui-se que  $F_{13}^e$  pode assumir o valor inferior da faixa que vai de  $9,70.10^{-3}$  a  $6,19.10^{-2}$ , mas não pode assumir seu valor superior, pois estaria relacionado com alta afinidade de ligação por SHBG, apesar de estar também relacionado a alta afinidade de ligação por receptores de progesterona se possuísse o referido valor.

12-) Densidade do orbital de fronteira na posição 4 ( $F_4^o$ ) do EET entre  $3,65.10^{-1}$  a  $4,00.10^{-1}$  relaciona-se à altas afinidades de ligação por receptores de progesterona; valores mais baixos de  $F_4^o$ , como por exemplo  $7,34.10^{-3}$ , relacionam-se à mais baixas afinidades de ligação por receptores de progesterona.

A situação se inverte no caso da afinidade de ligação por receptores de androgênio, na qual a faixa entre  $3,65 \cdot 10^{-1}$  a  $4,00 \cdot 10^{-1}$  relaciona-se à baixas afinidades de ligação por receptores de androgênio e o valor de  $7,34 \cdot 10^{-3}$ , relaciona-se à alta afinidade de ligação por receptores de androgênio.

Fica, através deste exemplo, claramente ilustradas as naturezas opostas dos receptores de progesterona e androgênio, pois os parâmetros significativos para suas afinidades de ligação possuem tendências opostas.

13-) Densidade do orbital de fronteira na posição 5 ( $F^{\circ}_5$ ) do EET na faixa de  $6,40 \cdot 10^{-1}$  a  $7,55 \cdot 10^{-1}$  favorece a afinidade de ligação por receptores de progesterona e desfavorece a afinidade de ligação por receptores de androgênio. Valores inferiores de  $F^{\circ}_5$ , como  $3,62 \cdot 10^{-2}$ , são desfavoráveis à afinidade de ligação por receptores de progesterona e favoráveis à afinidade de ligação por receptores de androgênio.

Mais uma vez ficam evidenciadas as naturezas opostas dos receptores de progesterona e androgênio.

## APÊNDICE

### A.1 - PARÂMETROS CALCULADOS USADOS NESTE ESTUDO

A.1.1-) Para o grupo molecular I, os parâmetros calculados estão listados na tabela A.1.1 abaixo.

Tabela A.1.1-) Potencial de Ionização (PI), afinidade eletrônica(AE), Carga Atômica (CA<sub>i</sub>) líquida sobre os átomos de carbono na posição i do esqueleto esteroideal (EET), dureza molecular ( $\eta$ ), eletronegatividade de Mulliken ( $\chi$ ), coeficiente de partição molecular octanol- água (LP), Densidade eletrônica de fronteira ( $F^e_k$ ) dos átomos de carbono na posição k do EET, Densidade do orbital de fronteira ( $F^o_k$ ) dos átomos de carbono na posição k do EET, Densidade do radical de fronteira ( $F^r_k$ ) dos átomos de carbono na posição k do EET, para os 6 progestogênios.\*NC = não calculado

M	P	NET	NGM	LNG	DSG	GSD
PI	10,055	10,001	9,050	10,012	9,220	9,917
AE	0,052	0,031	-0,254	0,037	-1,199	0,048
CA01	-0,149	-0,149	-0,153	-0,150	-0,158	-0,150
CA02	-0,211	-0,212	-0,116	-0,211	-0,155	-0,211
CA03	0,261	0,263	-0,038	0,261	-0,126	0,262
CA04	-0,247	-0,250	-0,175	-0,246	-0,173	-0,247
CA06	-0,137	-0,137	-0,129	-0,137	-0,122	-0,137
CA07	-0,151	-0,151	-0,152	-0,151	-0,150	-0,151
CA10	-0,0189	-0,0787	-0,0704	-0,0774	-0,0577	-0,0772
CA11	-0,153	-0,151	-0,152	-0,151	-0,092	-0,153
CA12	-0,146	-0,144	-0,144	-0,145	-0,120	-0,144
CA13	-0,039	-0,072	-0,041	-0,062	-0,061	-0,066
CA14	-0,101	-0,101	-0,109	-0,105	-0,108	-0,087
CA15	-0,152	-0,153	-0,151	-0,154	-0,154	-0,151
CA16	-0,154	-0,147	-0,185	-0,148	-0,148	-0,151
CA17	-0,154	0,190	0,224	0,194	0,194	0,216
$\eta$	5,002	4,985	4,652	4,988	5,210	4,935
$\chi$	5,054	5,016	4,398	5,025	4,011	4,983

continuação da tabela anterior

M	P	NET	NGM	LNG	DSG	GSD
LP	3,630	3,658	3,302	4,185	6,014	3,693
F <sub>3</sub> <sup>e</sup>	NC*	NC*	0,213	NC*	7,06.10 <sup>-2</sup>	1,30.10 <sup>-4</sup>
F <sub>4</sub> <sup>e</sup>	0,834	0,834	0,451	0,827	0,747	0,030
F <sub>5</sub> <sup>e</sup>	0,561	0,553	0,472	0,547	0,666	0,019
F <sub>7</sub> <sup>e</sup>	4,18.10 <sup>-2</sup>	3,37.10 <sup>-2</sup>	1,26.10 <sup>-2</sup>	4,26.10 <sup>-2</sup>	2,48.10 <sup>-2</sup>	4,19.10 <sup>-3</sup>
F <sub>9</sub> <sup>e</sup>	3,08.10 <sup>-2</sup>	4,24.10 <sup>-2</sup>	1,45.10 <sup>-2</sup>	5,10.10 <sup>-2</sup>	2,63.10 <sup>-2</sup>	4,53.10 <sup>-3</sup>
F <sub>10</sub> <sup>e</sup>	4,51.10 <sup>-2</sup>	6,43.10 <sup>-2</sup>	2,69.10 <sup>-2</sup>	6,68.10 <sup>-2</sup>	5,25.10 <sup>-2</sup>	5,62.10 <sup>-3</sup>
F <sub>13</sub> <sup>e</sup>	4,35.10 <sup>-3</sup>	5,26.10 <sup>-3</sup>	3,67.10 <sup>-4</sup>	9,70.10 <sup>-3</sup>	9,85.10 <sup>-4</sup>	5,52.10 <sup>-2</sup>
F <sub>17</sub> <sup>e</sup>	5,11.10 <sup>-3</sup>	4,37.10 <sup>-3</sup>	3,91.10 <sup>-4</sup>	7,78.10 <sup>-3</sup>	1,00.10 <sup>-3</sup>	1,68.10 <sup>-2</sup>
F <sub>3</sub> <sup>o</sup>	NC	NC	0,3493	NC	5,03.10 <sup>-3</sup>	4,08.10 <sup>-1</sup>
F <sub>4</sub> <sup>o</sup>	0,3904	0,3973	0,3647	0,3988	0,8800	0,4004
F <sub>5</sub> <sup>o</sup>	0,7505	0,7480	0,6430	0,7503	0,8582	0,7466
F <sub>7</sub> <sup>o</sup>	1,40.10 <sup>-2</sup>	1,14.10 <sup>-2</sup>	7,70.10 <sup>-3</sup>	1,43.10 <sup>-2</sup>	1,57.10 <sup>-2</sup>	1,14.10 <sup>-2</sup>
F <sub>9</sub> <sup>o</sup>	1,05.10 <sup>-2</sup>	1,35.10 <sup>-2</sup>	9,39.10 <sup>-3</sup>	1,62.10 <sup>-2</sup>	1,65.10 <sup>-2</sup>	1,32.10 <sup>-2</sup>
F <sub>10</sub> <sup>o</sup>	1,35.10 <sup>-3</sup>	1,15.10 <sup>-3</sup>	1,17.10 <sup>-3</sup>	1,30.10 <sup>-3</sup>	6,87.10 <sup>-3</sup>	1,22.10 <sup>-3</sup>
F <sub>13</sub> <sup>o</sup>	3,66.10 <sup>-5</sup>	2,84.10 <sup>-5</sup>	3,04.10 <sup>-5</sup>	3,26.10 <sup>-5</sup>	2,31.10 <sup>-4</sup>	2,70.10 <sup>-5</sup>
F <sub>17</sub> <sup>o</sup>	6,39.10 <sup>-5</sup>	7,77.10 <sup>-5</sup>	7,26.10 <sup>-5</sup>	9,01.10 <sup>-5</sup>	3,69.10 <sup>-4</sup>	7,45.10 <sup>-5</sup>
F <sub>3</sub> <sup>r</sup>	NC	NC	0,2809	NC	3,53.10 <sup>-2</sup>	2,04.10 <sup>-1</sup>
F <sub>4</sub> <sup>r</sup>	0,6122	0,6202	0,4079	0,6129	0,8135	0,2154
F <sub>5</sub> <sup>r</sup>	0,6548	0,6505	0,5575	0,6487	0,7621	0,3826
F <sub>7</sub> <sup>r</sup>	2,65.10 <sup>-2</sup>	2,26.10 <sup>-2</sup>	1,02.10 <sup>-2</sup>	2,85.10 <sup>-2</sup>	2,03.10 <sup>-2</sup>	7,80.10 <sup>-3</sup>
F <sub>9</sub> <sup>r</sup>	1,98.10 <sup>-2</sup>	1,67.10 <sup>-2</sup>	1,19.10 <sup>-2</sup>	3,36.10 <sup>-2</sup>	2,14.10 <sup>-2</sup>	8,87.10 <sup>-3</sup>

continuação da tabela anterior

M	P	NET	NGM	LNG	DSG	GSD
F <sub>10</sub> <sup>r</sup>	2,32.10 <sup>-2</sup>	3,27.10 <sup>-2</sup>	1,40.10 <sup>-2</sup>	3,41.10 <sup>-2</sup>	2,97.10 <sup>-2</sup>	3,42.10 <sup>-3</sup>
F <sub>13</sub> <sup>r</sup>	2,09.10 <sup>-3</sup>	2,64.10 <sup>-3</sup>	1,99.10 <sup>-4</sup>	4,87.10 <sup>-3</sup>	6,08.10 <sup>-4</sup>	2,76.10 <sup>-2</sup>
F <sub>17</sub> <sup>r</sup>	2,53.10 <sup>-3</sup>	2,22.10 <sup>-3</sup>	2,32.10 <sup>-4</sup>	3,94.10 <sup>-3</sup>	6,85.10 <sup>-4</sup>	8,44.10 <sup>-3</sup>

A.1.2-) Para o grupo molecular II, temos as seguintes tabelas de parâmetros :

Tabela A.1.2.a-)Potencial de Ionização (PI), afinidade eletrônica(AE), eletronegatividade de Mulliken ( $\chi$ ), dureza molecular ( $\eta$ ), volume molecular de van der Waals ( VM ), área molecular de van der Waals ( AM ), coeficiente de partição molecular octanol- água ( LP ) para os 23 progestogênios.

No	<sup>(a)</sup> PI	<sup>(a)</sup> AE	$\chi$	$\eta$	VM	AM	LP
I	10,001	0,031	5,016	4,985	616,5	1134,2	3,658
II	10,051	0,071	5,061	4,990	698,8	1280,6	3,616
III	10,038	0,030	5,019	5,004	617,8	1081,2	4,254
IV	9,441	0,680	5,061	4,381	663,9	1264,2	2,527
V	10,567	0,693	5,630	4,937	718,1	1292,5	2,075
VI	10,370	0,455	5,413	4,958	693,3	1297,4	3,385
VII	10,229	0,364	5,297	4,934	716,2	1286,2	2,945
VIII	9,453	0,639	5,046	4,407	657,3	1231,1	2,087
IX	10,290	0,299	5,295	4,996	723,5	1316,5	3,535
X	10,025	0,048	5,037	4,989	721,1	1379,1	4,027
XI	10,245	0,349	5,297	4,948	734,9	1355,1	3,385
XII	10,267	0,591	5,429	4,838	710,6	1249,1	3,033
XIII	10,252	0,585	5,419	4,834	631,4	1196,3	2,066
XIV	9,562	0,866	5,214	4,348	663,9	1257,3	2,166
XV	10,053	0,398	5,226	4,828	676,2	1257,8	3,445
XVI	10,253	0,597	5,425	4,828	707,3	1267,9	2,803
XVII	9,356	0,615	4,986	4,371	685,2	1294,6	3,248
XVIII	9,275	0,492	4,884	4,392	719,0	1342,6	3,730
XIX	9,479	0,736	5,108	4,372	722,3	1285,2	2,648
XX	9,480	0,847	5,164	4,317	683,1	1298,7	2,606

continuação da tabela anterior

No	<sup>(a)</sup> PI	<sup>(a)</sup> AE	$\chi^{(a)}$	$\eta^{(a)}$	VM	AM	LP
XXI	9,463	0,726	5,095	4,369	694,0	1278,0	3,088
XXII	9,540	0,711	5,126	4,415	695,7	1337,1	2,667
XXIII	9,457	0,680	5,069	4,389	698,3	1338,8	3,057

( a ) unidade de ev

Tabela A.1.2.b-) Carga atômica líquida sobre os átomos de carbono do esqueleto esteroidal dos 23 progestogênios.

No	CA03	CA05	CA06	CA10	CA11	CA13	CA15	CA16	CA17
I	0,2675	-0,0226	-0,1370	-0,0068	-0,1625	-0,0734	-0,1543	-0,1474	0,1903
II	0,2619	-0,0167	-0,1372	-0,0183	-0,1540	-0,0332	-0,1537	-0,1720	0,0516
III	0,2614	-0,0180	-0,1373	-0,0184	-0,1523	-0,0725	-0,1538	-0,1461	0,1901
IV	0,2848	-0,0078	-0,1507	-0,0051	-0,1528	-0,0267	-0,1550	-0,1736	0,0578
V	0,2592	-0,0504	-0,0425	-0,0120	-0,1537	-0,0307	-0,1537	-0,1730	0,0520
VI	0,2588	-0,0379	-0,0250	-0,0139	-0,1541	-0,0314	-0,1538	-0,1731	0,0514
VII	0,2524	-0,0687	0,0945	-0,0108	-0,1322	-0,0209	-0,1582	-0,1892	0,0749
VIII	0,2826	-0,0082	-0,1518	-0,0069	-0,1519	-0,0240	-0,1540	-0,1727	0,0608
IX	0,2618	-0,0318	-0,1250	-0,0137	-0,1534	-0,0306	-0,1534	-0,1720	0,0506
X	0,2626	-0,0100	-0,0805	-0,0194	-0,1549	-0,0329	-0,1519	-0,1731	0,0527
XI	0,2549	-0,0402	-0,0240	-0,0159	-0,1462	-0,0273	-0,1544	-0,1743	0,0520
XII	0,2832	-0,0454	-0,1249	0,0008	-0,1540	-0,0314	-0,1526	-0,1738	0,0513
XIII	0,2839	-0,0798	0,0899	0,0013	-0,1535	-0,0322	-0,1538	-0,1730	0,0512
XIV	0,2838	-0,0348	0,0662	0,0010	-0,1524	-0,0315	-0,1532	-0,1732	0,0508
XV	0,2838	-0,0245	-0,0805	-0,0049	-0,1527	-0,0320	-0,1518	-0,1732	0,0496
XVI	0,2828	-0,0551	-0,0291	0,0005	-0,1528	-0,0319	-0,1532	-0,1737	0,0518
XVII	0,2848	0,0016	-0,0945	-0,0062	-0,1536	-0,0325	-0,1519	-0,1738	0,0506
XVIII	0,2590	0,0135	-0,0956	-0,0203	-0,1536	-0,0322	-0,1526	-0,1731	0,0499
XIX	0,2583	-0,0248	0,0630	-0,0138	-0,1509	-0,0318	-0,1536	-0,1734	0,0503
XX	0,2803	-0,0103	-0,0771	0,0006	-0,1548	-0,0302	-0,1529	-0,1715	0,0483
XXI	0,2591	0,0001	-0,0792	-0,0167	-0,1531	-0,0309	-0,1535	-0,1739	0,0497
XXII	0,2829	-0,0078	-0,1506	-0,0049	-0,1538	-0,0378	-0,1550	-0,1741	0,0605
XXIII	0,2862	-0,0133	-0,1464	-0,0017	-0,1542	-0,0373	-0,1512	-0,1750	0,0589

Tabela A.1.2.c-) Densidade eletrônica de fronteira sobre os átomos de carbono do esqueleto esteroidal dos 23 progestogênios.

No	F <sub>3</sub> <sup>e</sup>	F <sub>10</sub> <sup>e</sup>	F <sub>13</sub> <sup>e</sup>	F <sub>15</sub> <sup>e</sup>	F <sub>16</sub> <sup>e</sup>	F <sub>17</sub> <sup>e</sup>
I	1,20.10 <sup>-3</sup>	6,43.10 <sup>-2</sup>	5,23.10 <sup>-3</sup>	6,66.10 <sup>-4</sup>	9,78.10 <sup>-4</sup>	4,44.10 <sup>-3</sup>
II	3,40.10 <sup>-3</sup>	4,14.10 <sup>-2</sup>	2,52.10 <sup>-3</sup>	7,42.10 <sup>-5</sup>	3,96.10 <sup>-4</sup>	3,32.10 <sup>-3</sup>
III	1,61.10 <sup>-3</sup>	4,73.10 <sup>-2</sup>	7,13.10 <sup>-3</sup>	5,45.10 <sup>-4</sup>	1,20.10 <sup>-3</sup>	5,84.10 <sup>-3</sup>
IV	3,82.10 <sup>-4</sup>	5,54.10 <sup>-3</sup>	1,23.10 <sup>-3</sup>	6,62.10 <sup>-4</sup>	2,98.10 <sup>-4</sup>	8,98.10 <sup>-4</sup>
V	1,00.10 <sup>-4</sup>	8,63.10 <sup>-3</sup>	5,50.10 <sup>-2</sup>	1,58.10 <sup>-2</sup>	5,44.10 <sup>-2</sup>	2,90.10 <sup>-1</sup>
VI	1,22.10 <sup>-2</sup>	5,52.10 <sup>-2</sup>	1,32.10 <sup>-2</sup>	9,33.10 <sup>-4</sup>	5,09.10 <sup>-3</sup>	3,61.10 <sup>-2</sup>
VII	8,48.10 <sup>-3</sup>	7,06.10 <sup>-2</sup>	8,59.10 <sup>-3</sup>	6,45.10 <sup>-4</sup>	2,28.10 <sup>-3</sup>	1,32.10 <sup>-2</sup>
VIII	5,97.10 <sup>-4</sup>	8,61.10 <sup>-3</sup>	1,37.10 <sup>-3</sup>	9,96.10 <sup>-4</sup>	2,20.10 <sup>-4</sup>	5,71.10 <sup>-4</sup>
IX	1,22.10 <sup>-3</sup>	4,73.10 <sup>-2</sup>	1,28.10 <sup>-2</sup>	1,03.10 <sup>-3</sup>	3,10.10 <sup>-3</sup>	2,70.10 <sup>-2</sup>
X	4,31.10 <sup>-3</sup>	4,08.10 <sup>-2</sup>	4,62.10 <sup>-3</sup>	3,52.10 <sup>-5</sup>	5,97.10 <sup>-4</sup>	4,72.10 <sup>-3</sup>
XI	8,48.10 <sup>-3</sup>	4,98.10 <sup>-2</sup>	7,10.10 <sup>-3</sup>	1,12.10 <sup>-4</sup>	8,03.10 <sup>-4</sup>	7,43.10 <sup>-3</sup>
XII	8,92.10 <sup>-3</sup>	6,24.10 <sup>-2</sup>	1,21.10 <sup>-2</sup>	6,18.10 <sup>-4</sup>	2,74.10 <sup>-3</sup>	1,90.10 <sup>-2</sup>
XIII	6,61.10 <sup>-3</sup>	6,60.10 <sup>-2</sup>	1,32.10 <sup>-2</sup>	7,35.10 <sup>-4</sup>	2,92.10 <sup>-3</sup>	2,10.10 <sup>-2</sup>
XIV	2,91.10 <sup>-4</sup>	5,58.10 <sup>-3</sup>	1,77.10 <sup>-3</sup>	1,07.10 <sup>-3</sup>	4,24.10 <sup>-4</sup>	1,47.10 <sup>-3</sup>
XV	3,16.10 <sup>-3</sup>	6,13.10 <sup>-2</sup>	7,65.10 <sup>-3</sup>	1,04.10 <sup>-3</sup>	1,63.10 <sup>-3</sup>	1,00.10 <sup>-2</sup>
XVI	7,54.10 <sup>-3</sup>	6,33.10 <sup>-2</sup>	1,20.10 <sup>-2</sup>	5,64.10 <sup>-4</sup>	2,59.10 <sup>-3</sup>	1,81.10 <sup>-2</sup>
XVII	3,66.10 <sup>-4</sup>	6,65.10 <sup>-3</sup>	1,45.10 <sup>-3</sup>	8,69.10 <sup>-4</sup>	3,61.10 <sup>-4</sup>	1,14.10 <sup>-3</sup>
XVIII	2,71.10 <sup>-4</sup>	4,52.10 <sup>-3</sup>	1,53.10 <sup>-3</sup>	7,66.10 <sup>-4</sup>	3,23.10 <sup>-4</sup>	1,13.10 <sup>-3</sup>
XIX	1,38.10 <sup>-4</sup>	4,87.10 <sup>-3</sup>	2,18.10 <sup>-3</sup>	8,85.10 <sup>-4</sup>	4,05.10 <sup>-4</sup>	1,66.10 <sup>-3</sup>
XX	4,22.10 <sup>-4</sup>	4,63.10 <sup>-3</sup>	1,59.10 <sup>-3</sup>	1,47.10 <sup>-3</sup>	1,46.10 <sup>-4</sup>	3,75.10 <sup>-4</sup>
XXI	1,20.10 <sup>-4</sup>	3,67.10 <sup>-3</sup>	1,83.10 <sup>-3</sup>	7,29.10 <sup>-4</sup>	3,41.10 <sup>-4</sup>	1,30.10 <sup>-3</sup>
XXII	3,32.10 <sup>-4</sup>	8,24.10 <sup>-3</sup>	1,12.10 <sup>-3</sup>	1,04.10 <sup>-3</sup>	2,12.10 <sup>-4</sup>	5,34.10 <sup>-4</sup>
XXIII	1,09.10 <sup>-3</sup>	6,19.10 <sup>-3</sup>	1,67.10 <sup>-3</sup>	1,07.10 <sup>-3</sup>	2,04.10 <sup>-4</sup>	3,66.10 <sup>-4</sup>

Tabela A.1.2.d-) Densidade do orbital de fronteira dos átomos de carbono do esqueleto esteroidal dos 23 progestogênios.

No	F <sub>3</sub> <sup>o</sup>	F <sub>10</sub> <sup>o</sup>	F <sub>13</sub> <sup>o</sup>	F <sub>15</sub> <sup>o</sup>	F <sub>16</sub> <sup>o</sup>	F <sub>17</sub> <sup>o</sup>
I	4,09.10 <sup>-1</sup>	1,15.10 <sup>-3</sup>	2,73.10 <sup>-5</sup>	3,32.10 <sup>-5</sup>	1,21.10 <sup>-5</sup>	7,78.10 <sup>-5</sup>
II	4,16.10 <sup>-1</sup>	1,32.10 <sup>-3</sup>	3,61.10 <sup>-5</sup>	1,95.10 <sup>-5</sup>	6,74.10 <sup>-6</sup>	6,07.10 <sup>-5</sup>
III	4,16.10 <sup>-1</sup>	1,37.10 <sup>-3</sup>	3,06.10 <sup>-5</sup>	2,70.10 <sup>-5</sup>	9,45.10 <sup>-6</sup>	6,82.10 <sup>-5</sup>
IV	2,75.10 <sup>-1</sup>	5,59.10 <sup>-4</sup>	4,47.10 <sup>-4</sup>	4,26.10 <sup>-5</sup>	3,03.10 <sup>-5</sup>	8,41.10 <sup>-5</sup>
V	3,17.10 <sup>-1</sup>	1,05.10 <sup>-3</sup>	1,90.10 <sup>-4</sup>	8,80.10 <sup>-6</sup>	1,28.10 <sup>-5</sup>	1,03.10 <sup>-4</sup>
VI	3,23.10 <sup>-1</sup>	7,24.10 <sup>-4</sup>	1,45.10 <sup>-5</sup>	1,24.10 <sup>-5</sup>	2,80.10 <sup>-6</sup>	3,58.10 <sup>-5</sup>
VII	3,64.10 <sup>-1</sup>	7,97.10 <sup>-3</sup>	3,66.10 <sup>-5</sup>	1,85.10 <sup>-5</sup>	7,28.10 <sup>-6</sup>	1,83.10 <sup>-5</sup>
VIII	2,79.10 <sup>-1</sup>	1,61.10 <sup>-3</sup>	2,24.10 <sup>-4</sup>	4,47.10 <sup>-5</sup>	1,48.10 <sup>-5</sup>	1,80.10 <sup>-5</sup>
IX	3,73.10 <sup>-1</sup>	2,47.10 <sup>-3</sup>	1,55.10 <sup>-4</sup>	2,08.10 <sup>-5</sup>	1,59.10 <sup>-5</sup>	1,34.10 <sup>-4</sup>
X	4,24.10 <sup>-1</sup>	1,43.10 <sup>-3</sup>	4,53.10 <sup>-5</sup>	1,95.10 <sup>-5</sup>	5,71.10 <sup>-6</sup>	6,48.10 <sup>-5</sup>
XI	3,63.10 <sup>-1</sup>	1,26.10 <sup>-3</sup>	1,16.10 <sup>-4</sup>	1,02.10 <sup>-5</sup>	1,17.10 <sup>-5</sup>	7,00.10 <sup>-5</sup>
XII	3,81.10 <sup>-1</sup>	1,94.10 <sup>-3</sup>	8,55.10 <sup>-5</sup>	1,74.10 <sup>-4</sup>	4,30.10 <sup>-5</sup>	1,01.10 <sup>-4</sup>
XIII	3,88.10 <sup>-1</sup>	2,16.10 <sup>-3</sup>	6,05.10 <sup>-5</sup>	1,92.10 <sup>-4</sup>	4,23.10 <sup>-5</sup>	8,67.10 <sup>-5</sup>
XIV	2,84.10 <sup>-1</sup>	1,13.10 <sup>-3</sup>	3,25.10 <sup>-4</sup>	7,52.10 <sup>-5</sup>	8,56.10 <sup>-6</sup>	2,59.10 <sup>-5</sup>
XV	3,97.10 <sup>-1</sup>	2,15.10 <sup>-3</sup>	6,54.10 <sup>-5</sup>	2,10.10 <sup>-4</sup>	4,62.10 <sup>-5</sup>	8,94.10 <sup>-5</sup>
XVI	3,84.10 <sup>-1</sup>	1,93.10 <sup>-3</sup>	7,18.10 <sup>-5</sup>	1,74.10 <sup>-4</sup>	4,25.10 <sup>-5</sup>	9,26.10 <sup>-5</sup>
XVII	3,04.10 <sup>-1</sup>	1,59.10 <sup>-3</sup>	2,82.10 <sup>-4</sup>	7,53.10 <sup>-5</sup>	7,39.10 <sup>-6</sup>	2,25.10 <sup>-5</sup>
XVIII	2,36.10 <sup>-1</sup>	3,02.10 <sup>-4</sup>	4,56.10 <sup>-4</sup>	1,77.10 <sup>-5</sup>	6,68.10 <sup>-5</sup>	1,12.10 <sup>-4</sup>
XIX	2,22.10 <sup>-1</sup>	3,59.10 <sup>-4</sup>	4,86.10 <sup>-4</sup>	1,74.10 <sup>-5</sup>	6,25.10 <sup>-5</sup>	1,09.10 <sup>-4</sup>
XX	2,49.10 <sup>-1</sup>	6,80.10 <sup>-4</sup>	2,65.10 <sup>-5</sup>	1,55.10 <sup>-5</sup>	1,04.10 <sup>-5</sup>	2,18.10 <sup>-6</sup>
XXI	2,07.10 <sup>-1</sup>	1,01.10 <sup>-4</sup>	5,05.10 <sup>-4</sup>	1,78.10 <sup>-5</sup>	8,26.10 <sup>-5</sup>	1,30.10 <sup>-4</sup>
XXII	2,90.10 <sup>-1</sup>	9,75.10 <sup>-4</sup>	2,15.10 <sup>-4</sup>	5,50.10 <sup>-5</sup>	9,34.10 <sup>-6</sup>	1,46.10 <sup>-5</sup>
XXIII	2,73.10 <sup>-1</sup>	5,31.10 <sup>-4</sup>	8,61.10 <sup>-5</sup>	1,02.10 <sup>-5</sup>	1,44.10 <sup>-5</sup>	1,72.10 <sup>-6</sup>

Tabela A.1.2.e-) Densidade do radical de fronteira dos átomos de carbono do esqueleto esteroidal dos 23 progestogênios.

No	F <sub>3</sub> <sup>r</sup>	F <sub>10</sub> <sup>r</sup>	F <sub>13</sub> <sup>r</sup>	F <sub>15</sub> <sup>r</sup>	F <sub>16</sub> <sup>r</sup>	F <sub>17</sub> <sup>r</sup>
I	2,05.10 <sup>-1</sup>	3,27.10 <sup>-2</sup>	2,53.10 <sup>-3</sup>	3,24.10 <sup>-4</sup>	4,89.10 <sup>-4</sup>	2,22.10 <sup>-3</sup>
II	2,10.10 <sup>-1</sup>	2,14.10 <sup>-2</sup>	1,28.10 <sup>-3</sup>	4,69.10 <sup>-5</sup>	2,01.10 <sup>-4</sup>	1,69.10 <sup>-3</sup>
III	2,09.10 <sup>-1</sup>	2,43.10 <sup>-2</sup>	3,58.10 <sup>-3</sup>	2,86.10 <sup>-4</sup>	6,05.10 <sup>-4</sup>	2,95.10 <sup>-3</sup>
IV	1,38.10 <sup>-1</sup>	3,05.10 <sup>-3</sup>	8,39.10 <sup>-4</sup>	3,52.10 <sup>-4</sup>	1,64.10 <sup>-4</sup>	4,91.10 <sup>-4</sup>
V	1,59.10 <sup>-1</sup>	4,84.10 <sup>-3</sup>	2,76.10 <sup>-2</sup>	7,90.10 <sup>-3</sup>	2,72.10 <sup>-2</sup>	1,45.10 <sup>-1</sup>
VI	1,68.10 <sup>-1</sup>	2,80.10 <sup>-2</sup>	6,61.10 <sup>-3</sup>	4,73.10 <sup>-4</sup>	2,55.10 <sup>-3</sup>	1,81.10 <sup>-2</sup>
VII	1,86.10 <sup>-1</sup>	3,93.10 <sup>-2</sup>	4,31.10 <sup>-3</sup>	3,32.10 <sup>-4</sup>	1,14.10 <sup>-3</sup>	6,61.10 <sup>-3</sup>
VIII	1,40.10 <sup>-1</sup>	5,11.10 <sup>-3</sup>	7,97.10 <sup>-4</sup>	5,20.10 <sup>-4</sup>	1,17.10 <sup>-4</sup>	2,95.10 <sup>-4</sup>
IX	1,87.10 <sup>-1</sup>	2,49.10 <sup>-2</sup>	6,48.10 <sup>-3</sup>	5,25.10 <sup>-4</sup>	1,56.10 <sup>-3</sup>	1,36.10 <sup>-2</sup>
X	2,14.10 <sup>-1</sup>	2,11.10 <sup>-2</sup>	2,33.10 <sup>-3</sup>	2,74.10 <sup>-5</sup>	3,02.10 <sup>-4</sup>	2,39.10 <sup>-3</sup>
XI	1,86.10 <sup>-1</sup>	2,55.10 <sup>-2</sup>	3,61.10 <sup>-3</sup>	6,11.10 <sup>-5</sup>	4,07.10 <sup>-4</sup>	3,75.10 <sup>-3</sup>
XII	1,95.10 <sup>-1</sup>	3,22.10 <sup>-2</sup>	6,09.10 <sup>-3</sup>	3,96.10 <sup>-4</sup>	1,39.10 <sup>-3</sup>	9,55.10 <sup>-3</sup>
XIII	1,97.10 <sup>-1</sup>	3,41.10 <sup>-2</sup>	6,63.10 <sup>-3</sup>	4,64.10 <sup>-4</sup>	1,48.10 <sup>-3</sup>	1,05.10 <sup>-2</sup>
XIV	1,42.10 <sup>-1</sup>	3,36.10 <sup>-3</sup>	1,05.10 <sup>-3</sup>	5,73.10 <sup>-4</sup>	2,16.10 <sup>-4</sup>	7,48.10 <sup>-4</sup>
XV	2,00.10 <sup>-1</sup>	3,17.10 <sup>-2</sup>	3,86.10 <sup>-3</sup>	6,25.10 <sup>-4</sup>	8,38.10 <sup>-4</sup>	5,54.10 <sup>-3</sup>
XVI	1,96.10 <sup>-1</sup>	3,26.10 <sup>-2</sup>	6,04.10 <sup>-3</sup>	3,69.10 <sup>-4</sup>	1,32.10 <sup>-3</sup>	9,10.10 <sup>-3</sup>
XVII	1,52.10 <sup>-1</sup>	4,12.10 <sup>-3</sup>	8,66.10 <sup>-4</sup>	4,72.10 <sup>-4</sup>	1,84.10 <sup>-4</sup>	5,81.10 <sup>-4</sup>
XVIII	1,18.10 <sup>-1</sup>	2,41.10 <sup>-3</sup>	9,93.10 <sup>-4</sup>	3,92.10 <sup>-4</sup>	1,95.10 <sup>-4</sup>	6,21.10 <sup>-4</sup>
XIX	1,11.10 <sup>-1</sup>	2,61.10 <sup>-3</sup>	1,33.10 <sup>-3</sup>	4,51.10 <sup>-4</sup>	2,34.10 <sup>-4</sup>	8,85.10 <sup>-4</sup>
XX	1,25.10 <sup>-1</sup>	2,66.10 <sup>-3</sup>	8,08.10 <sup>-4</sup>	7,43.10 <sup>-4</sup>	7,82.10 <sup>-5</sup>	1,89.10 <sup>-4</sup>
XXI	1,04.10 <sup>-1</sup>	1,89.10 <sup>-3</sup>	1,17.10 <sup>-3</sup>	3,73.10 <sup>-4</sup>	2,12.10 <sup>-4</sup>	7,15.10 <sup>-4</sup>
XXII	1,45.10 <sup>-1</sup>	4,61.10 <sup>-3</sup>	6,68.10 <sup>-4</sup>	5,48.10 <sup>-4</sup>	1,11.10 <sup>-4</sup>	2,74.10 <sup>-4</sup>
XXIII	1,37.10 <sup>-1</sup>	3,36.10 <sup>-3</sup>	8,78.10 <sup>-4</sup>	5,40.10 <sup>-4</sup>	1,09.10 <sup>-4</sup>	1,84.10 <sup>-4</sup>

A.1.3-) Para os grupos moleculares III, IV e V, os parâmetros físico-químicos ainda não listados nas tabelas anteriores são mostrados nas tabelas a seguir:

Tabela A.1.3.a-) Potencial de Ionização (PI), afinidade eletrônica(AE), eletronegatividade de Mulliken ( $\chi$ ), dureza molecular ( $\eta$ ), volume molecular de van der Waals (VM), área molecular de van der Waals (AM), coeficiente de partição molecular octanol- água (LP).

M	PI	AE	$\chi$	$\eta$	VM	AM	LP
ANGM	9,097	-0,231	4,433	4,664	309,6	385,4	5,976
CNGM	9,958	0,017	4,988	4,971	340,4	379,6	5,045
CDSG	9,906	0,057	4,982	4,924	309,0	370,4	4,325
DHT	10,215	-0,941	4,637	5,578	297,8	314,2	3,251
T	9,761	-0,297	4,732	5,029	288,1	314,8	3,050

Tabela A.1.3.b-) Carga atômica líquida sobre os átomos de carbono do esqueleto esteroidal.

M	ANGM	CNGM	CDSG	DHT	T
CA01	-0,153	-0,150	-0,156	-0,148	-0,153
CA02	-0,116	-0,211	-0,210	-0,211	-0,203
CA03	-0,039	0,262	0,260	0,231	0,251
CA04	-0,170	-0,251	-0,248	-0,208	-0,226
CA06	-0,129	-0,137	-0,138	-0,152	-0,141
CA07	-0,150	-0,153	-0,151	-0,115	-0,150
CA11	-0,154	-0,152	-0,094	-0,115	-0,157
CA12	-0,143	-0,145	-0,121	-0,143	-0,146
CA13	-0,060	-0,044	-0,062	-0,041	-0,042
CA14	-0,108	-0,108	-0,108	-0,109	-0,112
CA15	-0,154	-0,149	-0,152	-0,147	-0,138
CA16	-0,185	-0,185	-0,148	-0,196	-0,198
CA17	0,198	0,225	0,196	0,031	0,017

Tabela A.1.3.c-) Densidade eletrônica de fronteira dos átomos de carbono do esqueleto esteroidal.

M	ANGM	CNGM	CDSG	DHT	T
F <sub>4</sub> <sup>e</sup>	0,447	0,838	0,0143	0,241	0,662
F <sub>5</sub> <sup>e</sup>	0,474	0,545	9,93.10 <sup>-3</sup>	8,15.10 <sup>-2</sup>	0,450
F <sub>7</sub> <sup>e</sup>	1,91.10 <sup>-2</sup>	2,55.10 <sup>-2</sup>	1,23.10 <sup>-2</sup>	3,19.10 <sup>-2</sup>	1,43.10 <sup>-2</sup>
F <sub>9</sub> <sup>e</sup>	1,86.10 <sup>-2</sup>	3,65.10 <sup>-2</sup>	6,69.10 <sup>-2</sup>	3,00.10 <sup>-2</sup>	2,32.10 <sup>-2</sup>
F <sub>13</sub> <sup>e</sup>	6,67.10 <sup>-4</sup>	4,43.10 <sup>-3</sup>	6,19.10 <sup>-2</sup>	8,08.10 <sup>-3</sup>	2,52.10 <sup>-3</sup>
F <sub>17</sub> <sup>e</sup>	6,19.10 <sup>-4</sup>	3,80.10 <sup>-3</sup>	7,06.10 <sup>-4</sup>	6,53.10 <sup>-4</sup>	1,26.10 <sup>-3</sup>

Tabela A.1.3.d-) Densidade do orbital de fronteira dos átomos de carbono do esqueleto esteroidal.

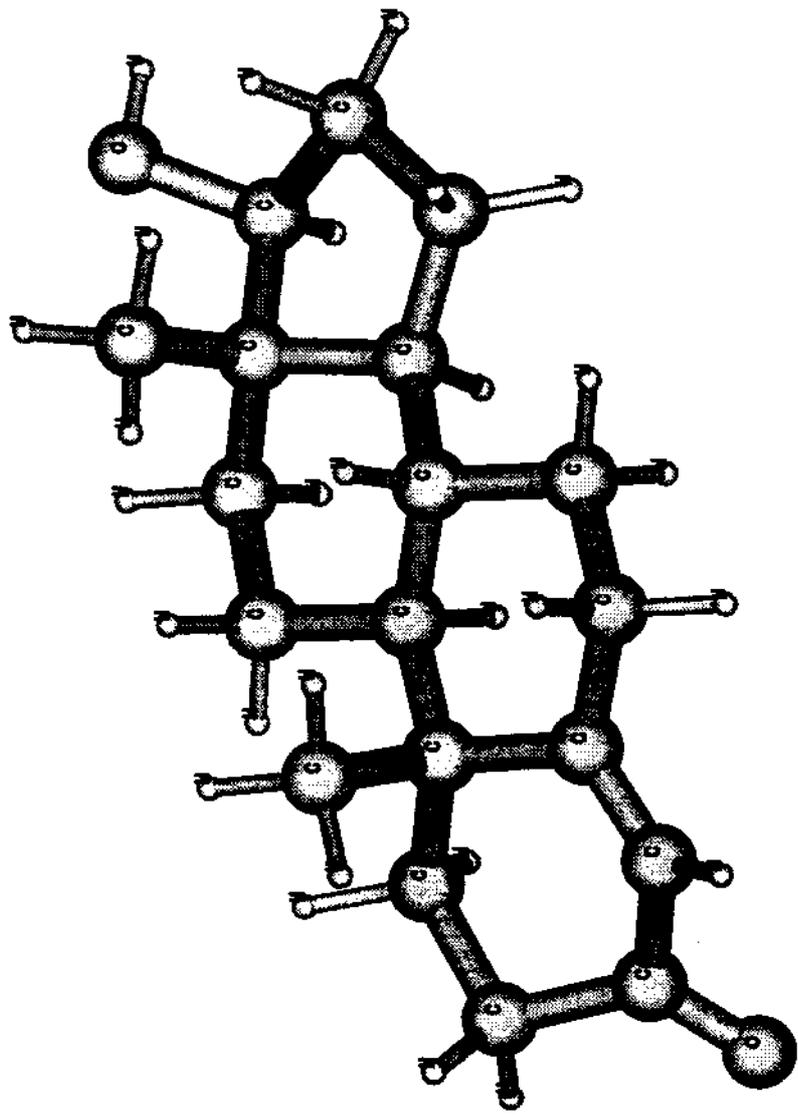
M	ANGM	CNGM	CDSG	DHT	T
F <sub>4</sub> <sup>o</sup>	3,71.10 <sup>-1</sup>	3,92.10 <sup>-1</sup>	3,96.10 <sup>-1</sup>	7,34.10 <sup>-3</sup>	5,11.10 <sup>-1</sup>
F <sub>5</sub> <sup>o</sup>	6,40.10 <sup>-1</sup>	7,55.10 <sup>-1</sup>	7,55.10 <sup>-1</sup>	3,62.10 <sup>-2</sup>	7,48.10 <sup>-1</sup>
F <sub>7</sub> <sup>o</sup>	1,20.10 <sup>-2</sup>	9,28.10 <sup>-3</sup>	1,28.10 <sup>-2</sup>	1,34.10 <sup>-3</sup>	9,67.10 <sup>-3</sup>
F <sub>9</sub> <sup>o</sup>	1,26.10 <sup>-2</sup>	1,07.10 <sup>-2</sup>	9,59.10 <sup>-3</sup>	4,08.10 <sup>-3</sup>	2,36.10 <sup>-3</sup>
F <sub>13</sub> <sup>o</sup>	3,12.10 <sup>-5</sup>	2,79.10 <sup>-5</sup>	2,85.10 <sup>-5</sup>	8,12.10 <sup>-6</sup>	2,68.10 <sup>-5</sup>
F <sub>17</sub> <sup>o</sup>	8,14.10 <sup>-5</sup>	7,06.10 <sup>-5</sup>	6,58.10 <sup>-5</sup>	8,33.10 <sup>-6</sup>	3,83.10 <sup>-5</sup>

Tabela A.1.3.e-) Densidade do radical de fronteira dos átomos de carbono do esqueleto esteroidal.

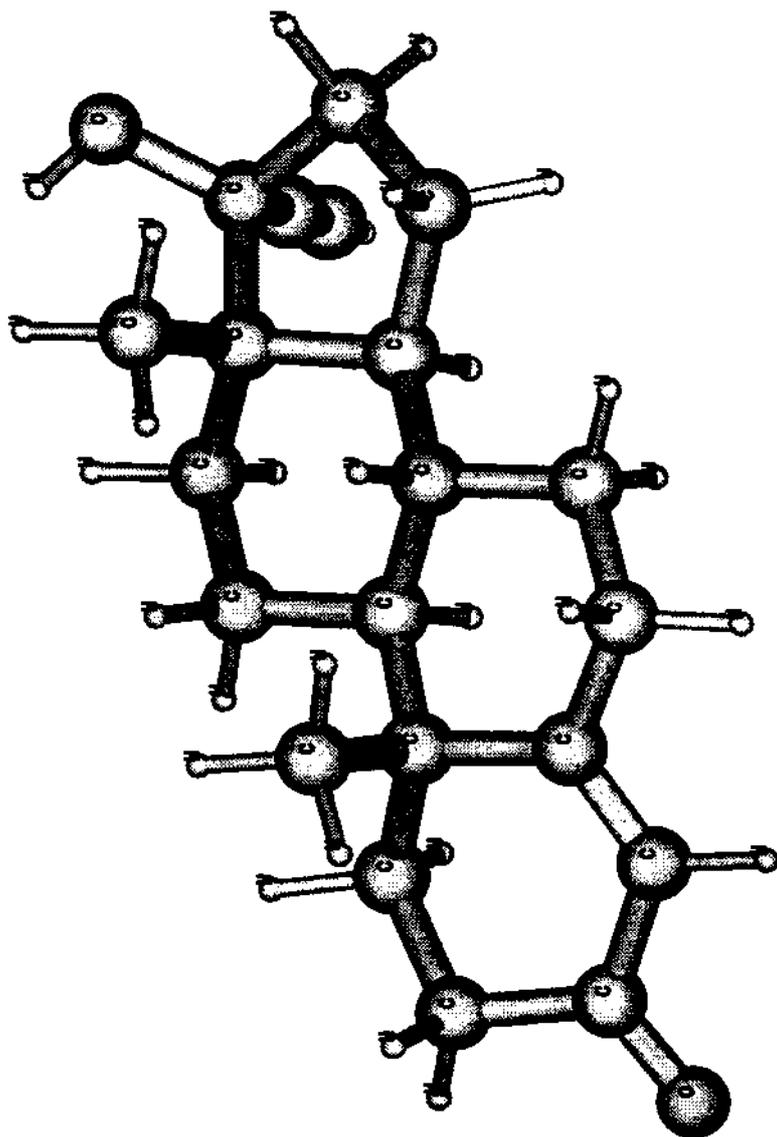
<b>M</b>	<b>ANGM</b>	<b>CNGM</b>	<b>CDSG</b>	<b>DHT</b>	<b>T</b>
<b>F<sub>4</sub><sup>r</sup></b>	4,09.10 <sup>-1</sup>	6,15.10 <sup>-1</sup>	2,05.10 <sup>-1</sup>	1,24.10 <sup>-1</sup>	5,87.10 <sup>-1</sup>
<b>F<sub>5</sub><sup>r</sup></b>	5,57.10 <sup>-1</sup>	6,50.10 <sup>-1</sup>	3,82.10 <sup>-1</sup>	5,89.10 <sup>-2</sup>	5,99.10 <sup>-1</sup>
<b>F<sub>7</sub><sup>r</sup></b>	1,56.10 <sup>-2</sup>	1,74.10 <sup>-2</sup>	1,26.10 <sup>-2</sup>	1,66.10 <sup>-2</sup>	1,20.10 <sup>-2</sup>
<b>F<sub>9</sub><sup>r</sup></b>	1,56.10 <sup>-2</sup>	2,36.10 <sup>-2</sup>	3,82.10 <sup>-2</sup>	1,70.10 <sup>-2</sup>	1,28.10 <sup>-2</sup>
<b>F<sub>13</sub><sup>r</sup></b>	3,49.10 <sup>-4</sup>	2,23.10 <sup>-3</sup>	3,10.10 <sup>-2</sup>	4,04.10 <sup>-3</sup>	1,27.10 <sup>-3</sup>
<b>F<sub>17</sub><sup>r</sup></b>	3,50.10 <sup>-4</sup>	1,94.10 <sup>-3</sup>	3,86.10 <sup>-4</sup>	3,31.10 <sup>-4</sup>	6,49.10 <sup>-4</sup>

## **A.2 - Estruturas Moleculares obtidas com o programa Molden**

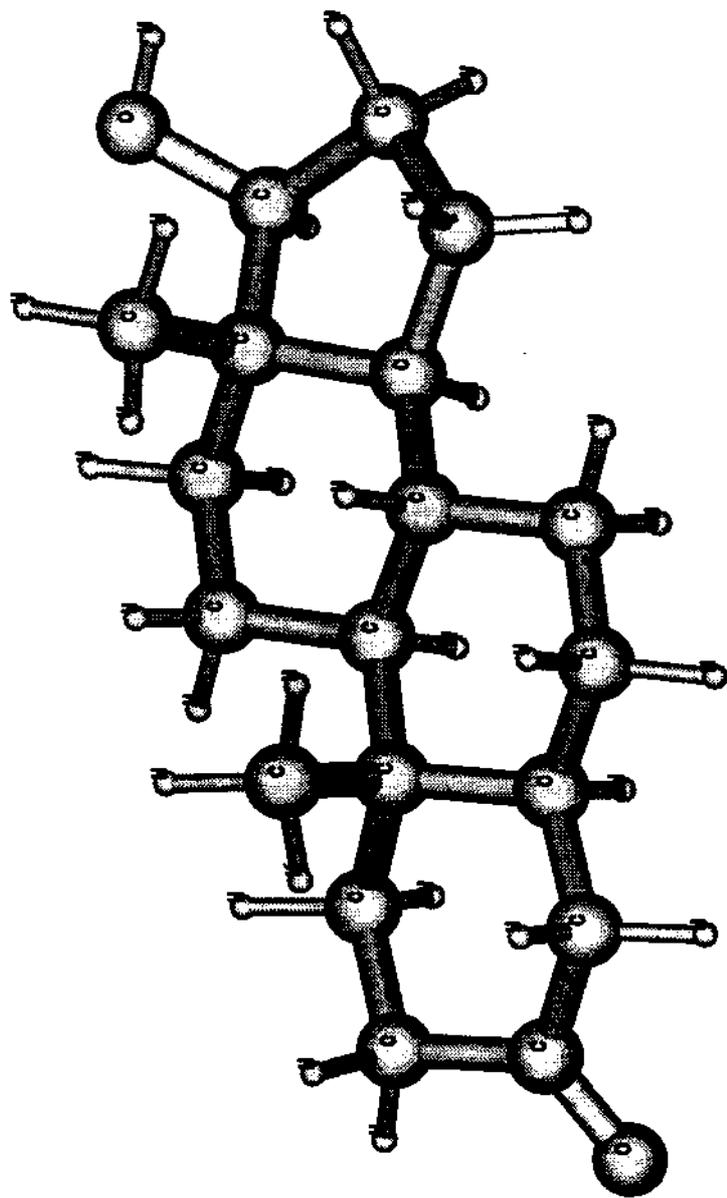
•



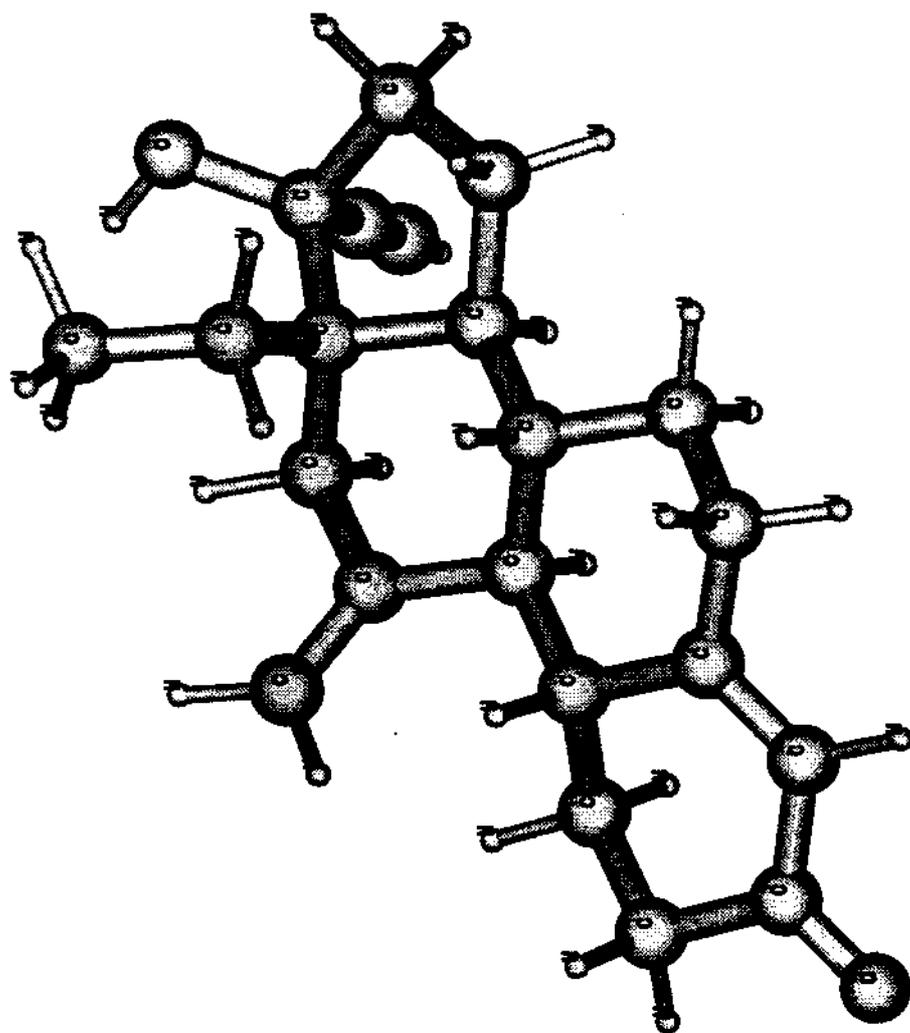
Testosterona

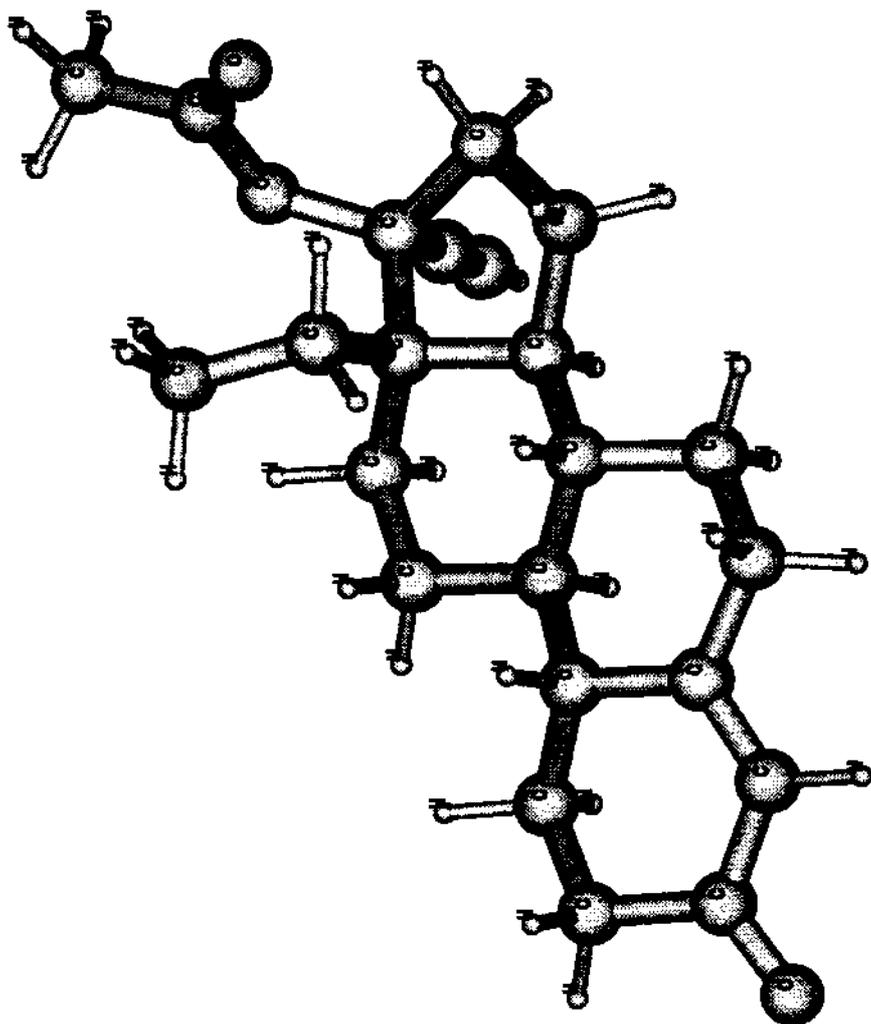


17α-etiniltestosterona

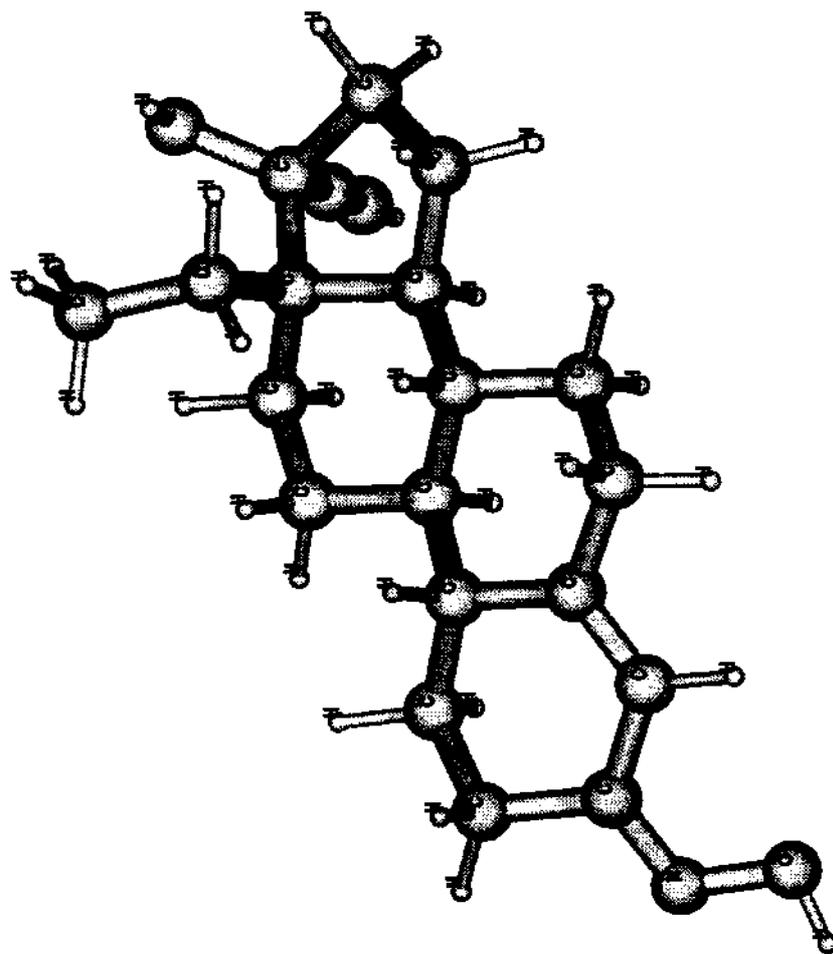


Dihidrotestosterona

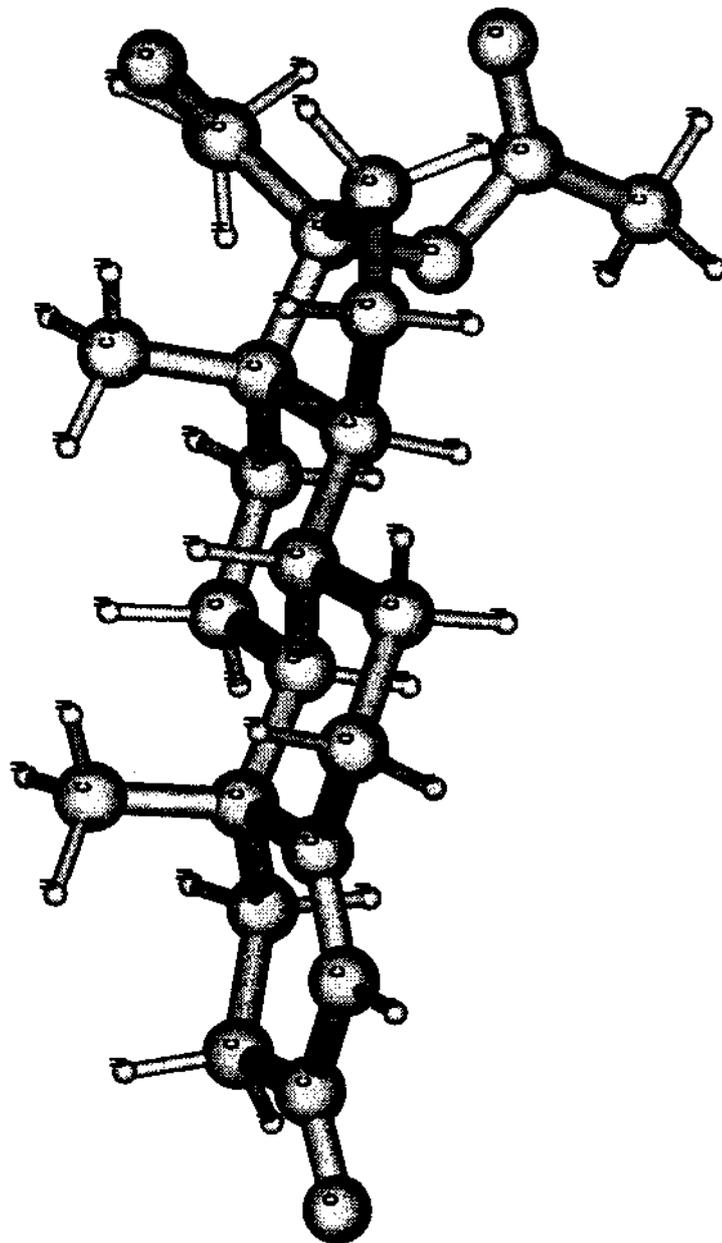




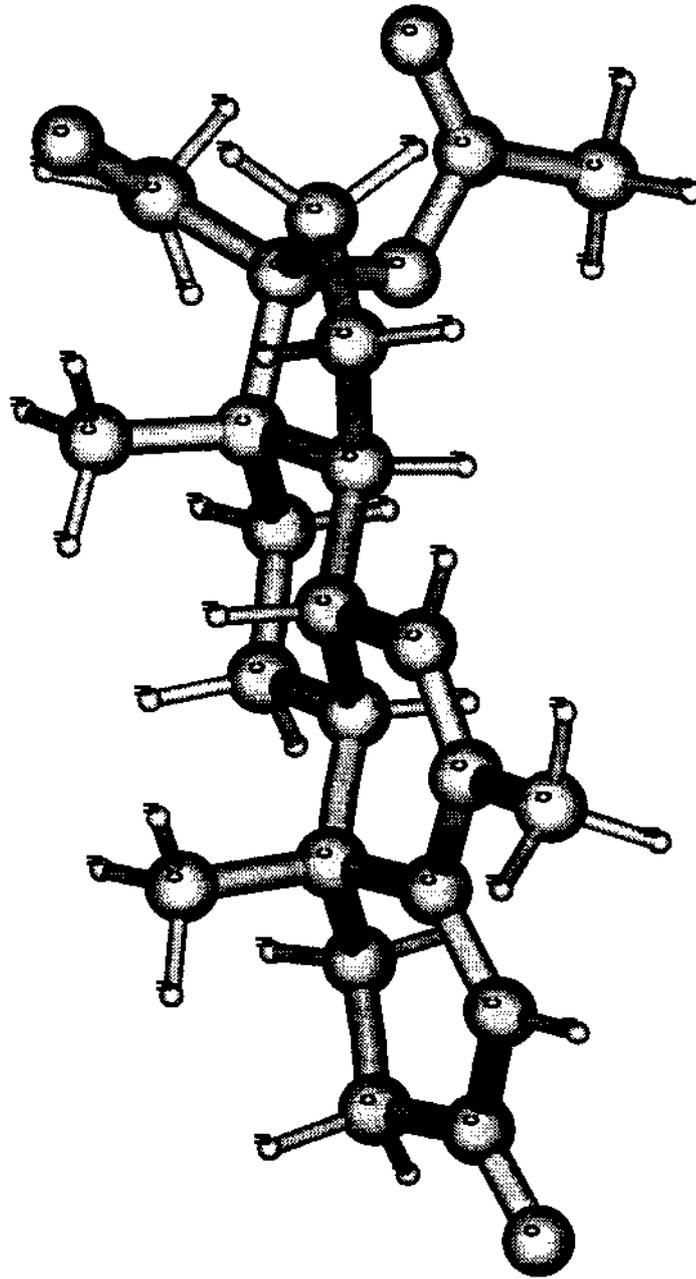
3ceto-norgestimatato



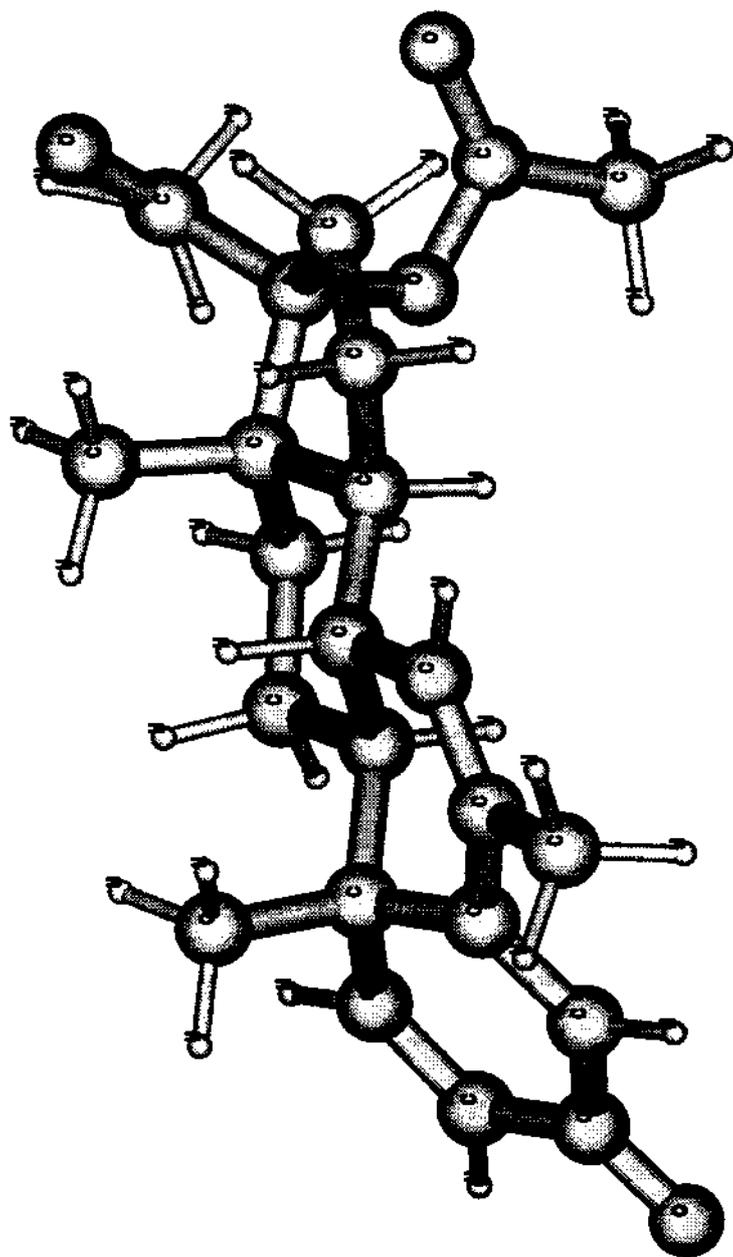
17acetyl-norgestimatol



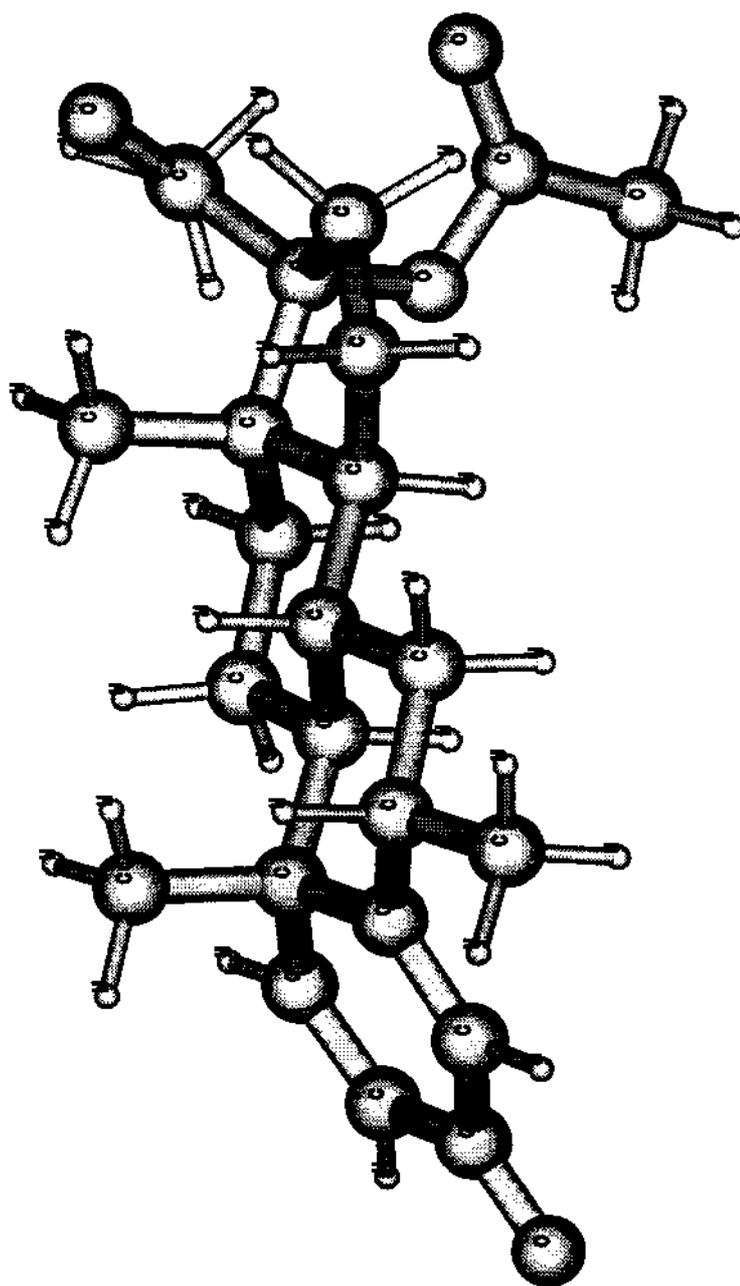
17α-acetoxiprogesterona



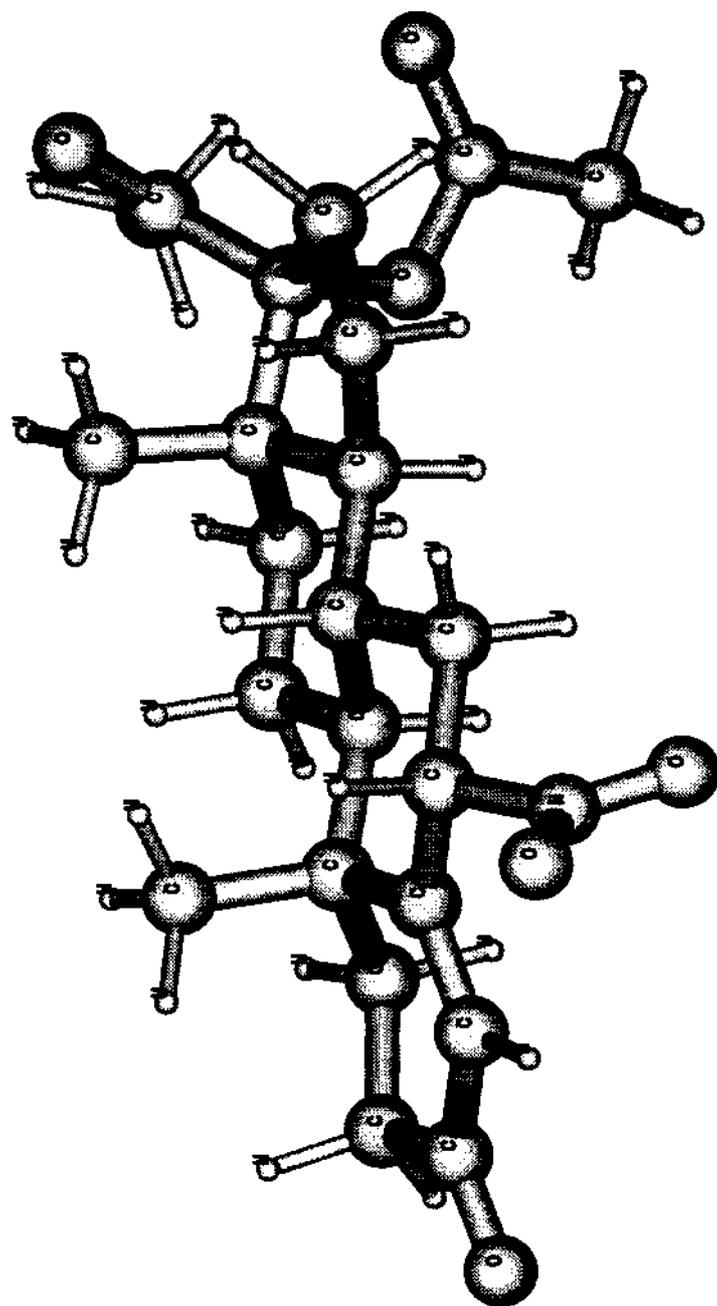
6-metil,  $\Delta^6$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



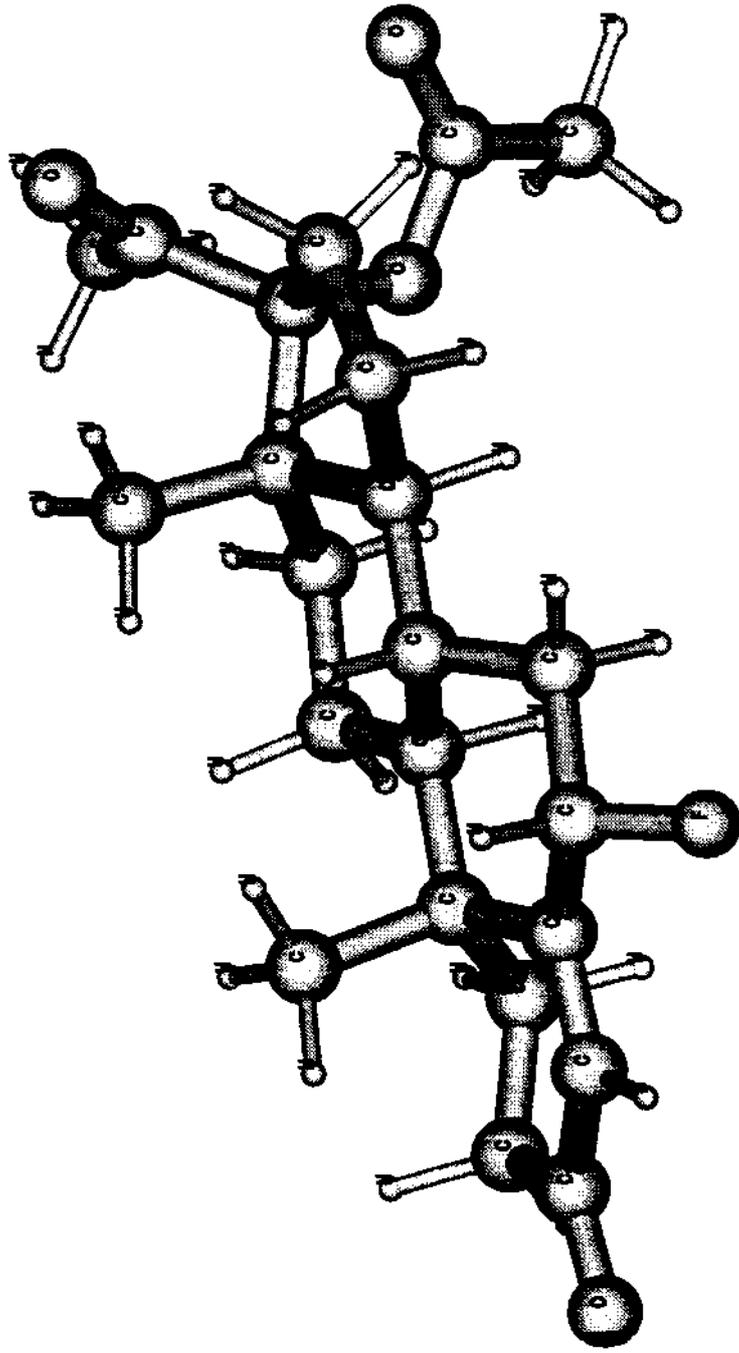
6-metil,  $\Delta^{1,6}$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



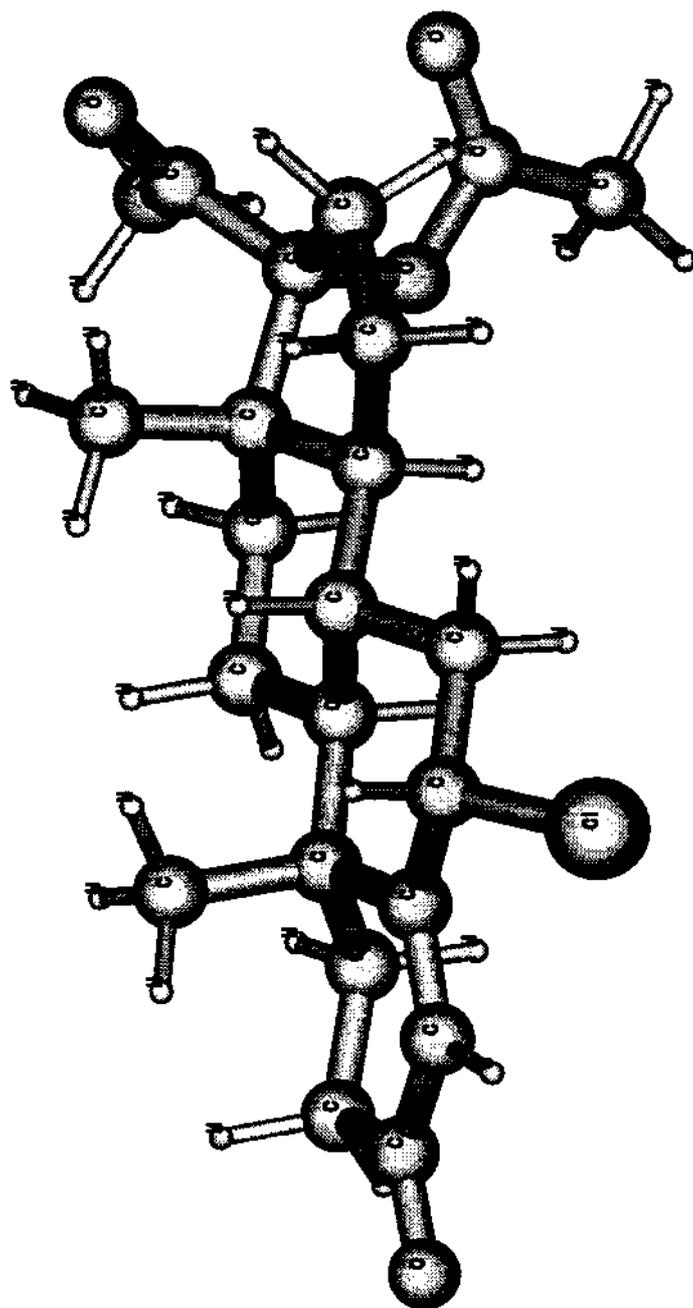
6 $\alpha$ -metil,  $\Delta^1$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



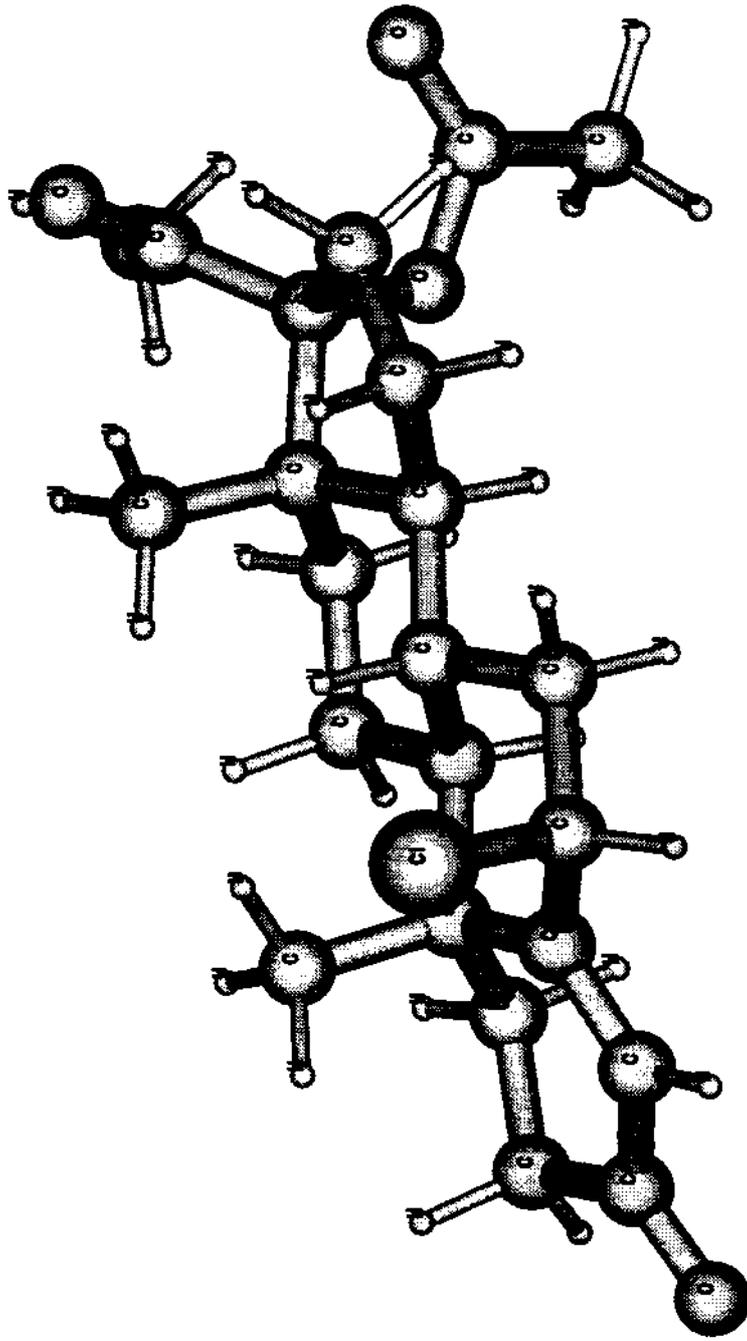
6α-nitro, 17α-acetoxiprogesterona



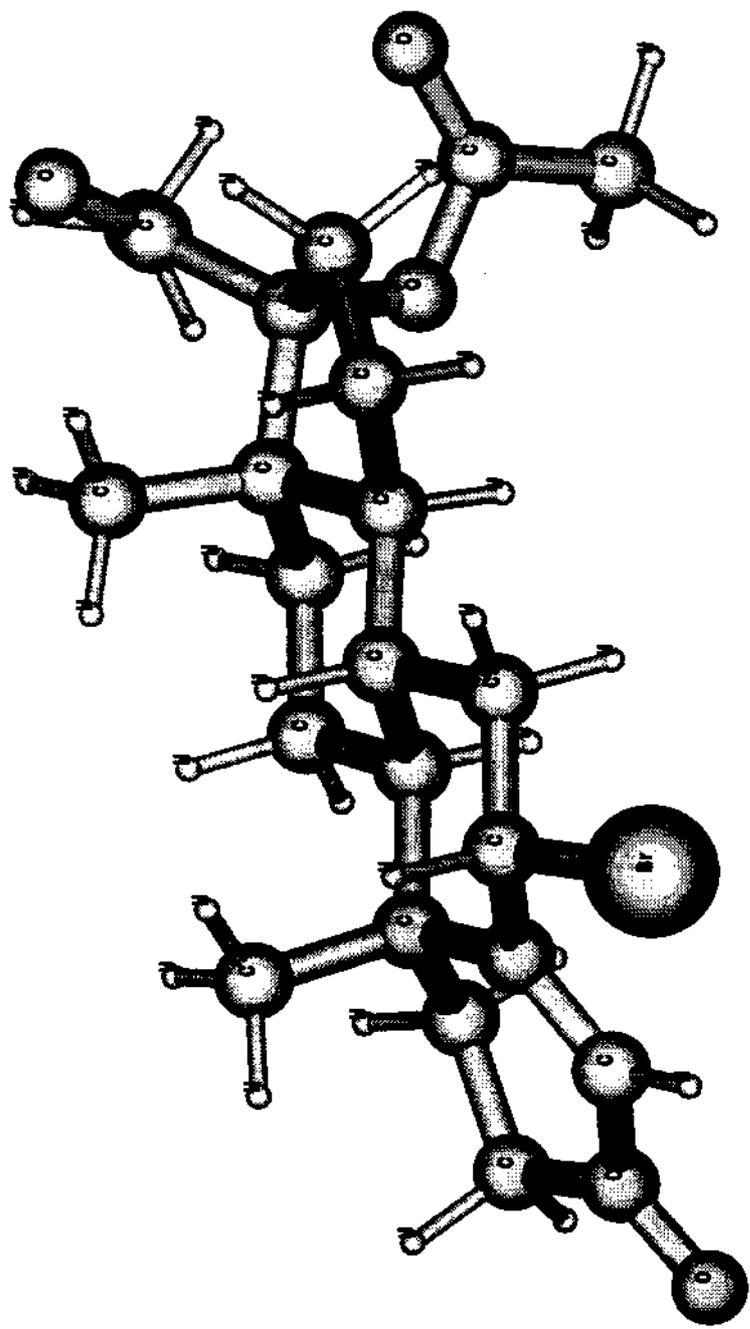
6α-fluor, 17α-acetoxiprogesterona



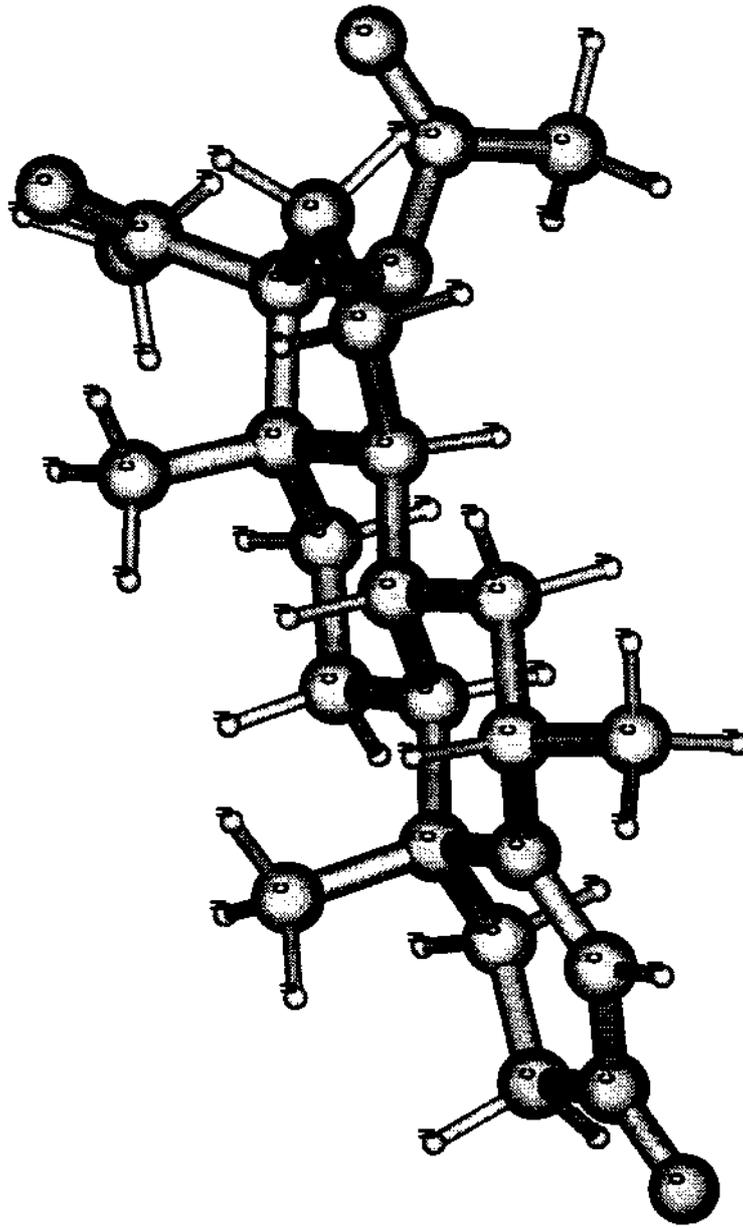
6 $\alpha$ -cloro, 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



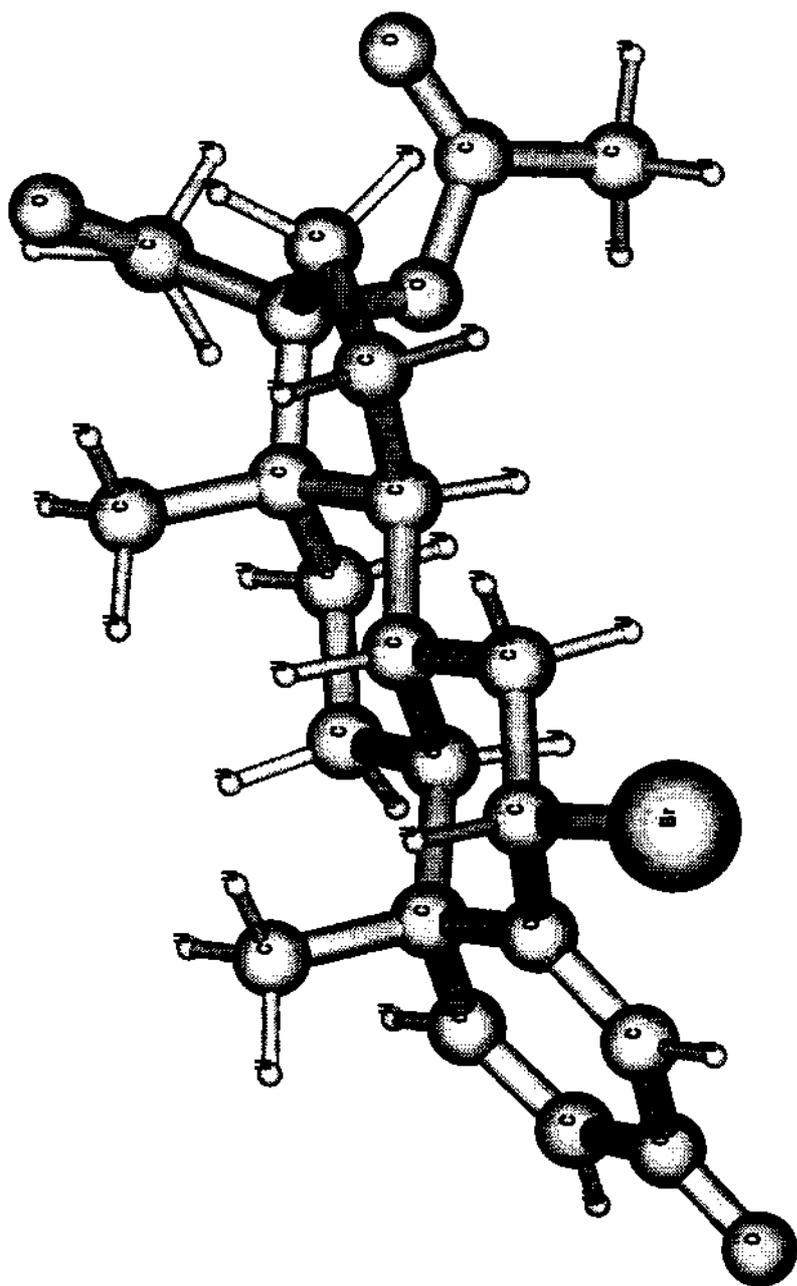
6 $\beta$ -cloro, 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



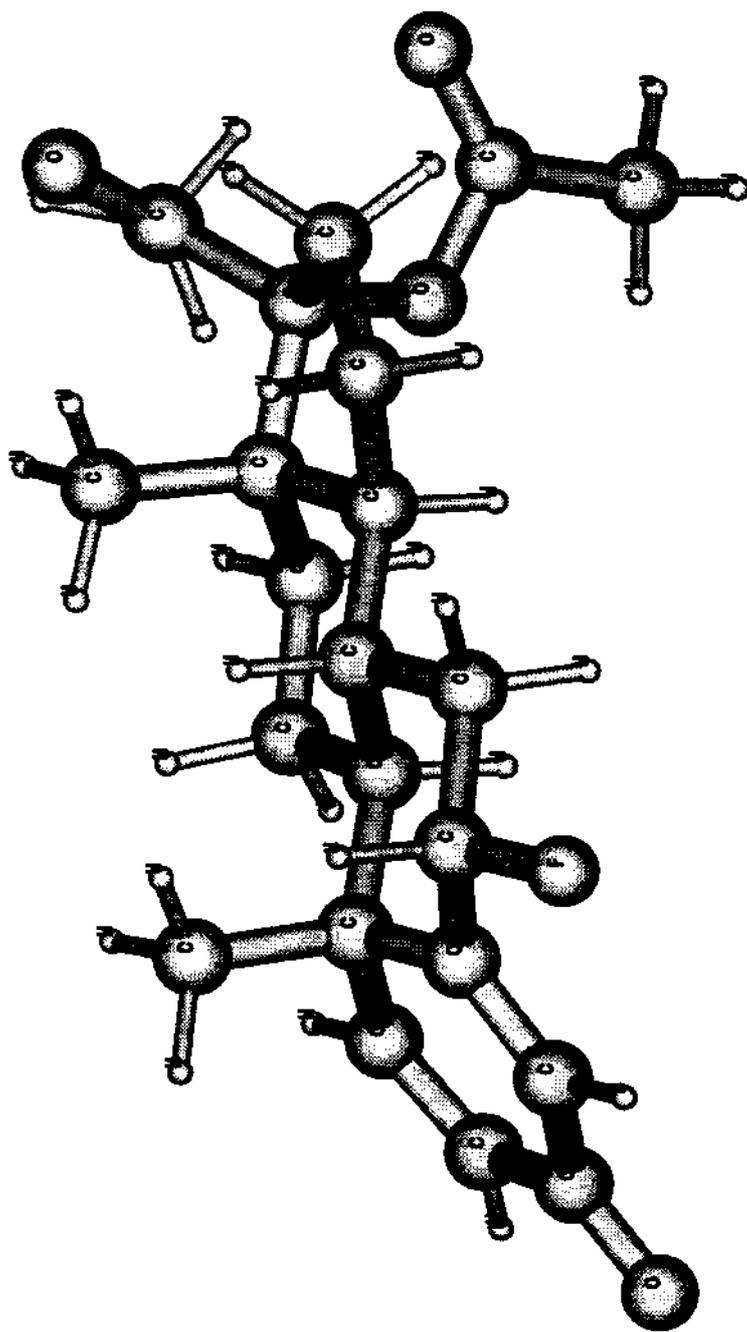
6 $\alpha$ -bromo, 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



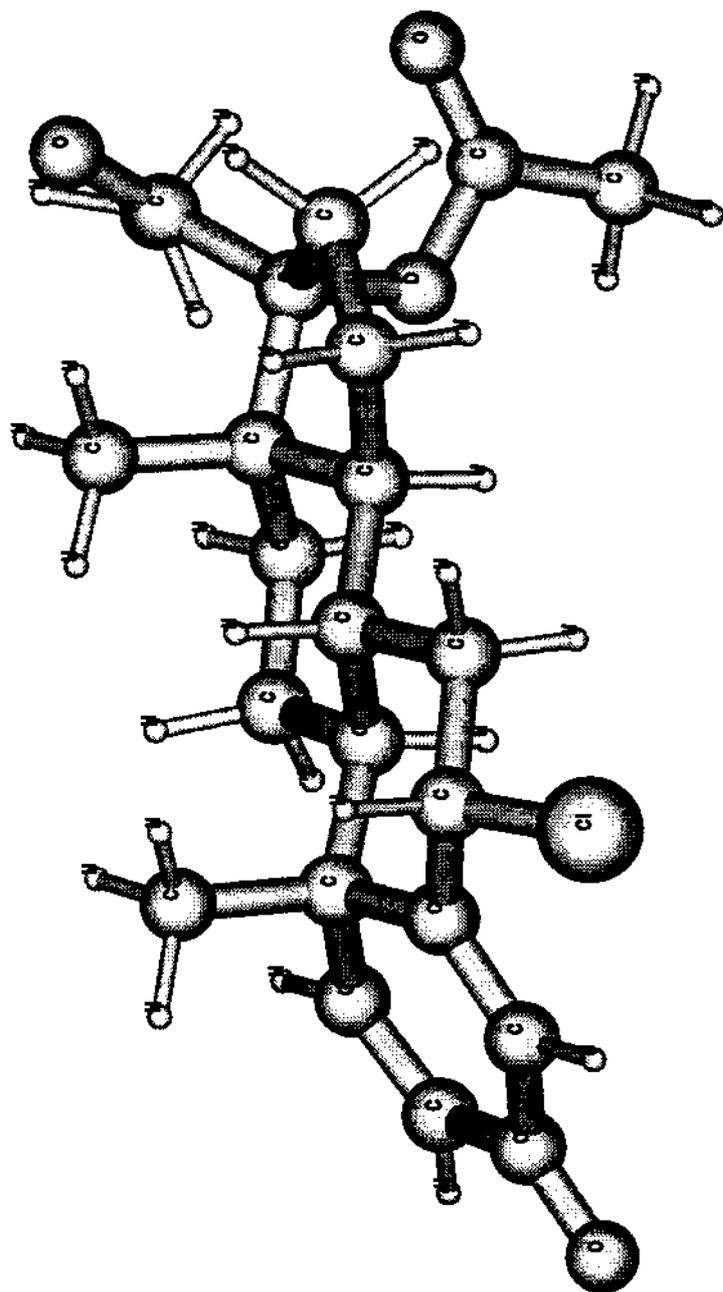
6α-metil, 17α-acetoxiprogesterona



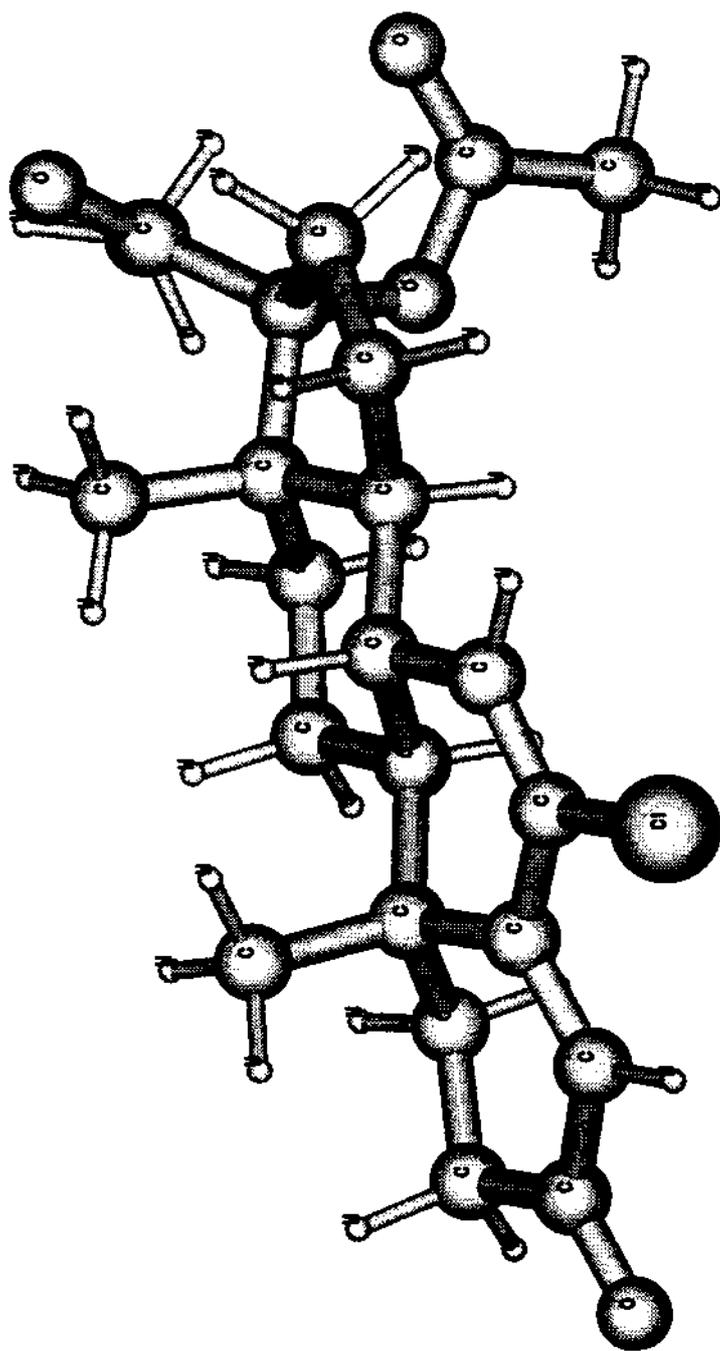
6 $\alpha$ -bromo,  $\Delta^1$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



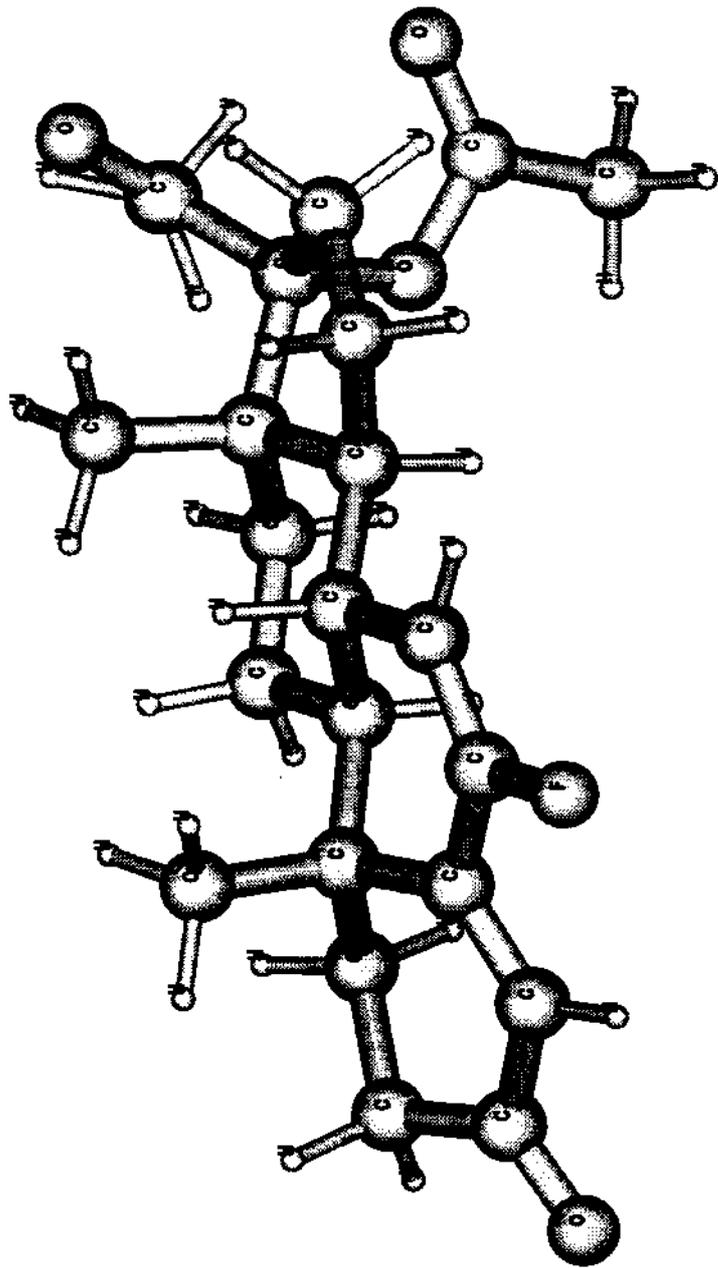
6α-flúor, Δ<sup>1</sup>, 17α-acetoxiprogesterona



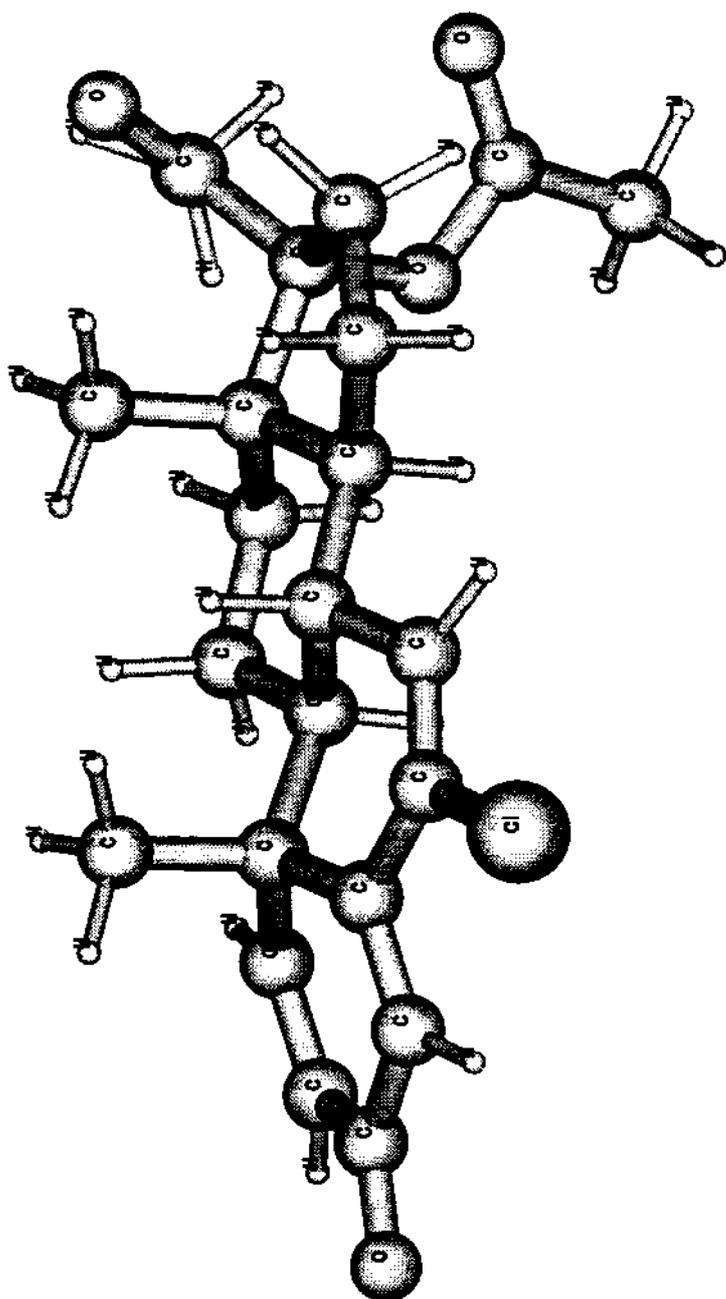
6α-cloro, Δ¹, 17α-acetoxiprogesterona



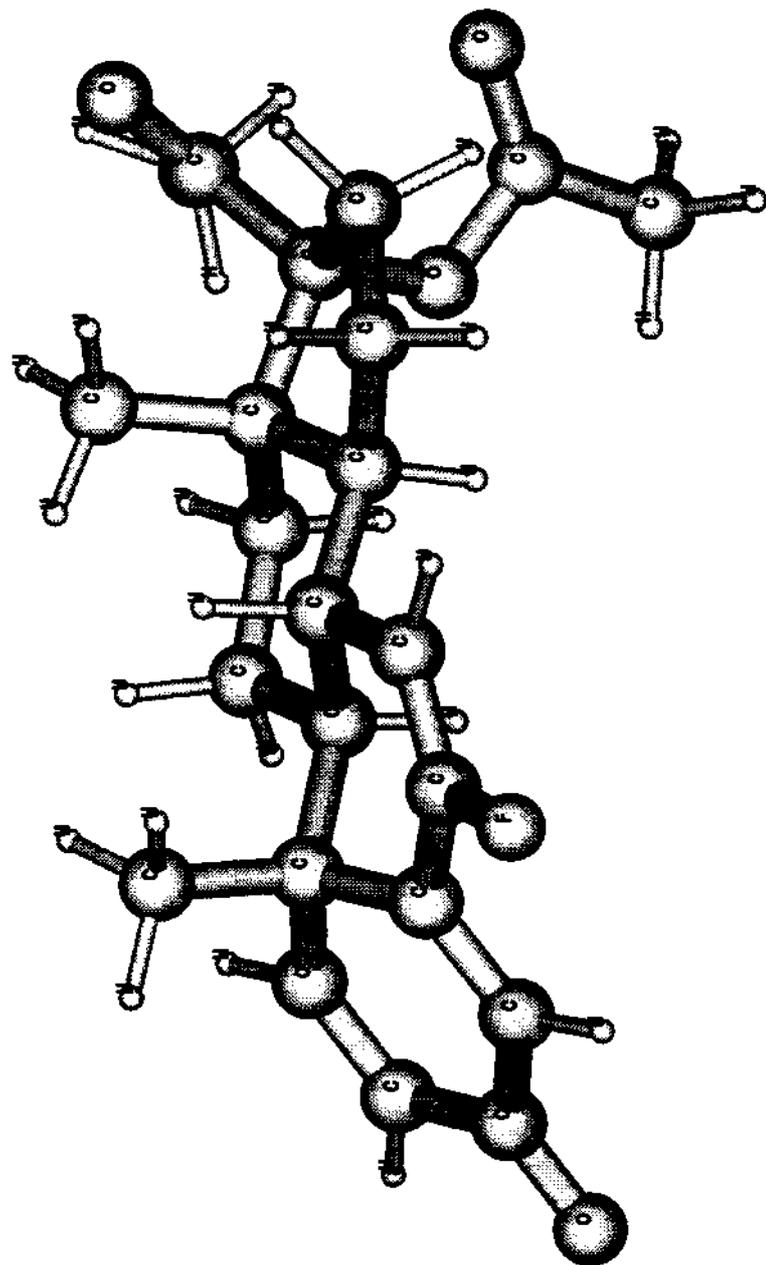
6-cloro,  $\Delta^6$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



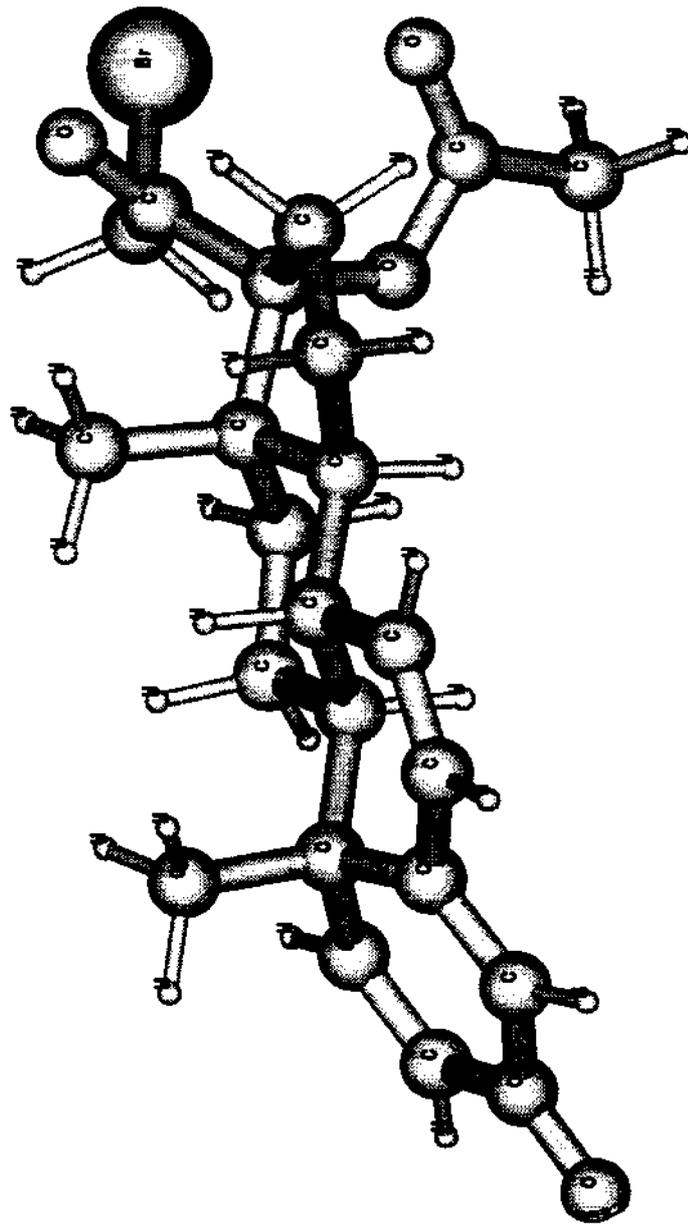
6-fluór,  $\Delta^6$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



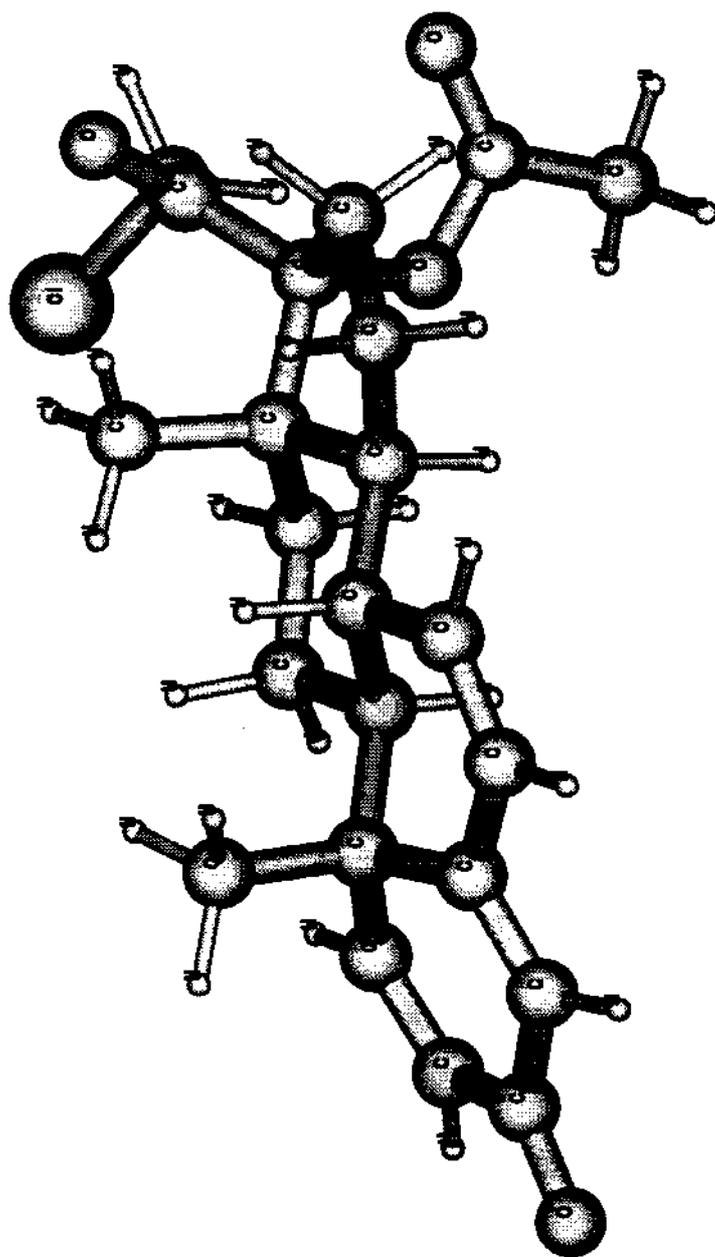
6-cloro,  $\Delta^{1,6}$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



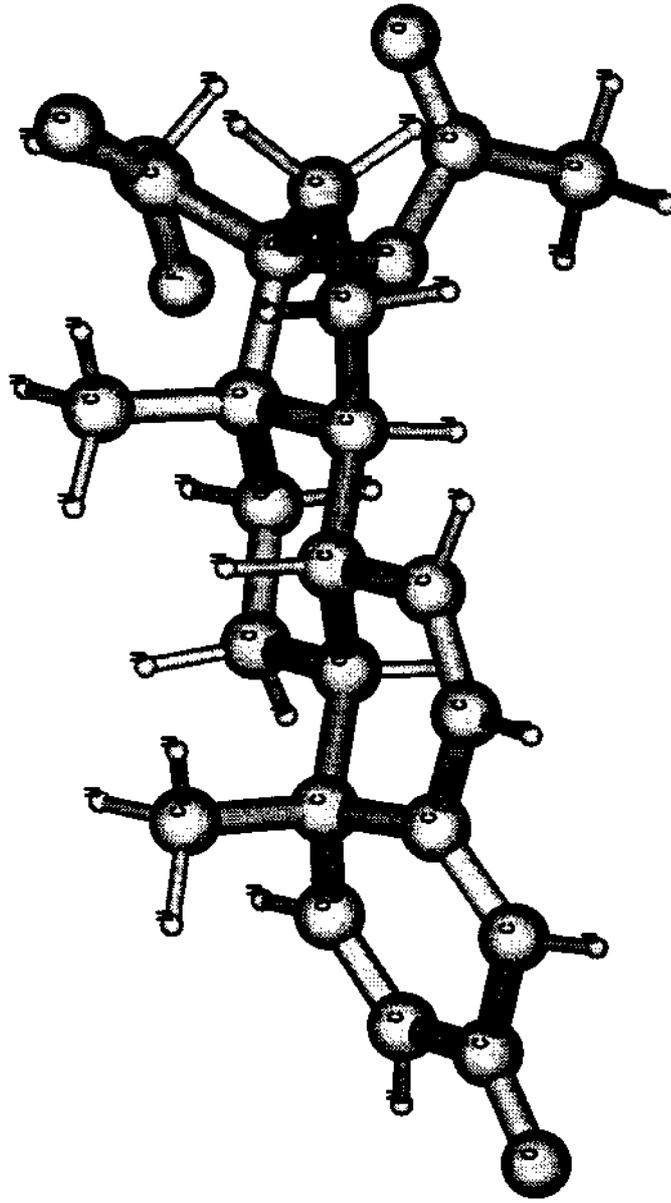
6-flúor,  $\Delta^{1,6}$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



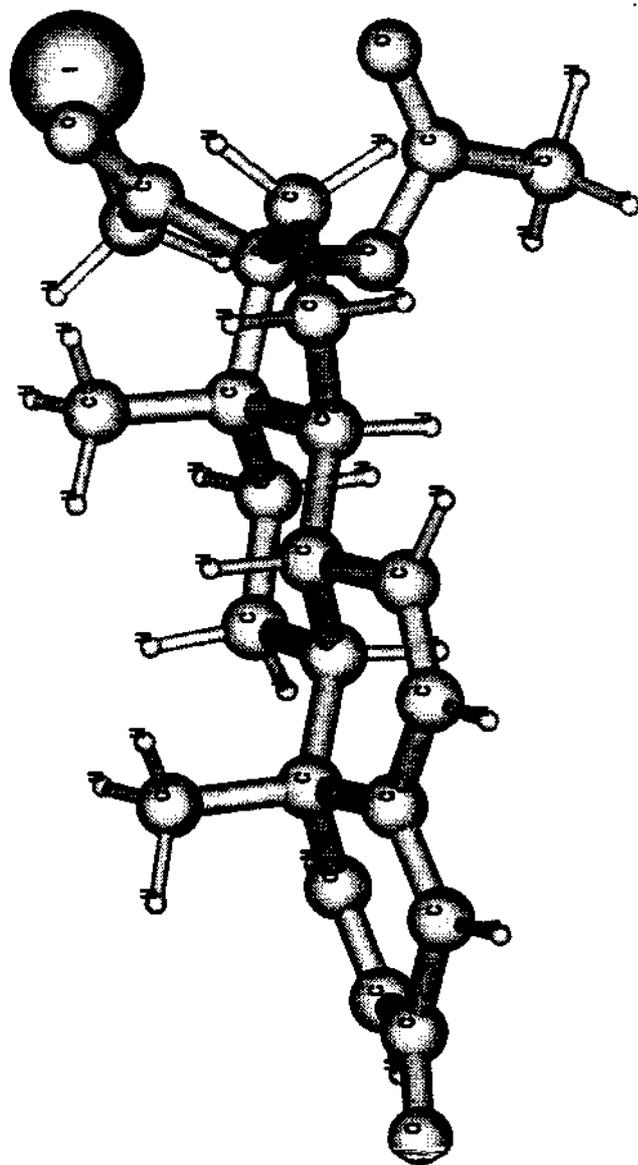
21-bromo,  $\Delta^{16}$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



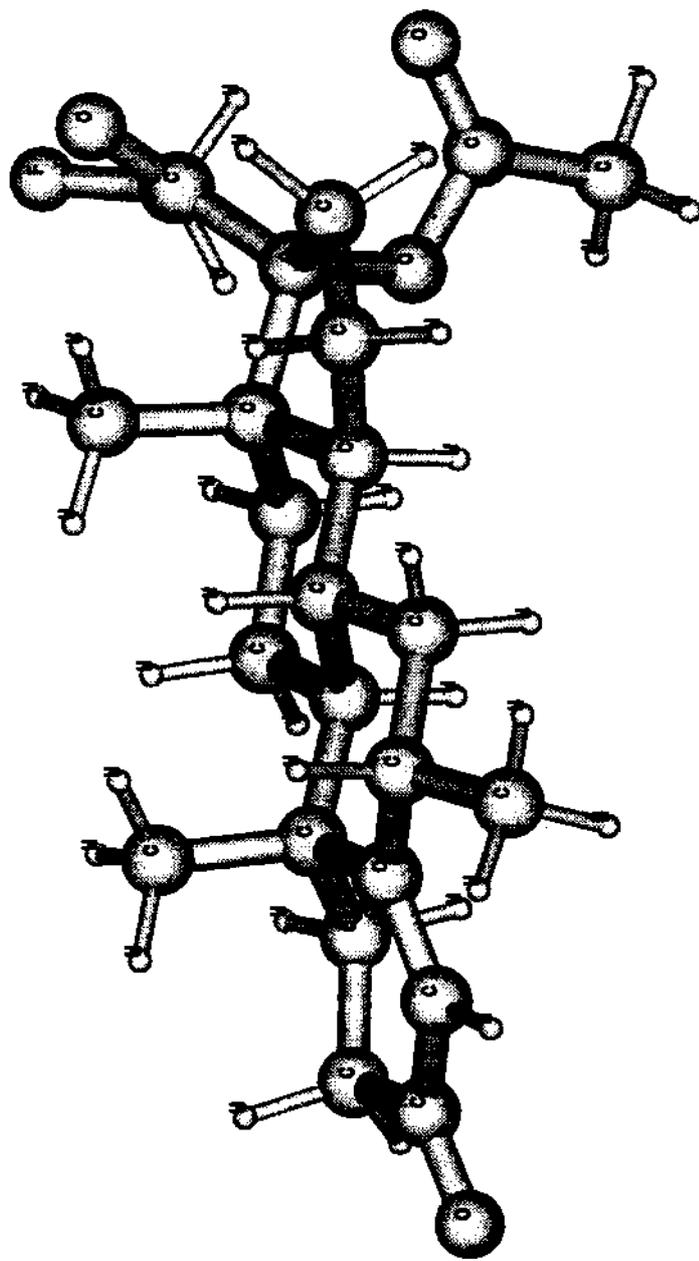
21-cloro,  $\Delta^{1,6}$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



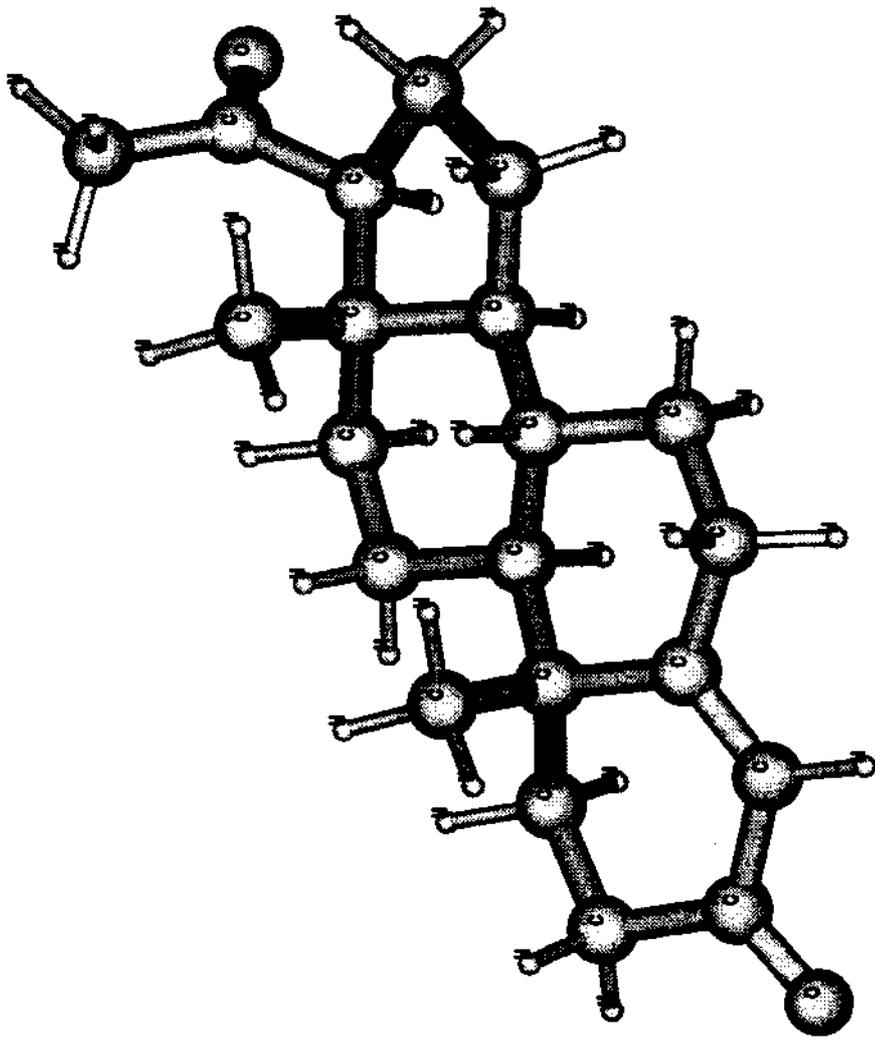
21-flúor,  $\Delta^{16}$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



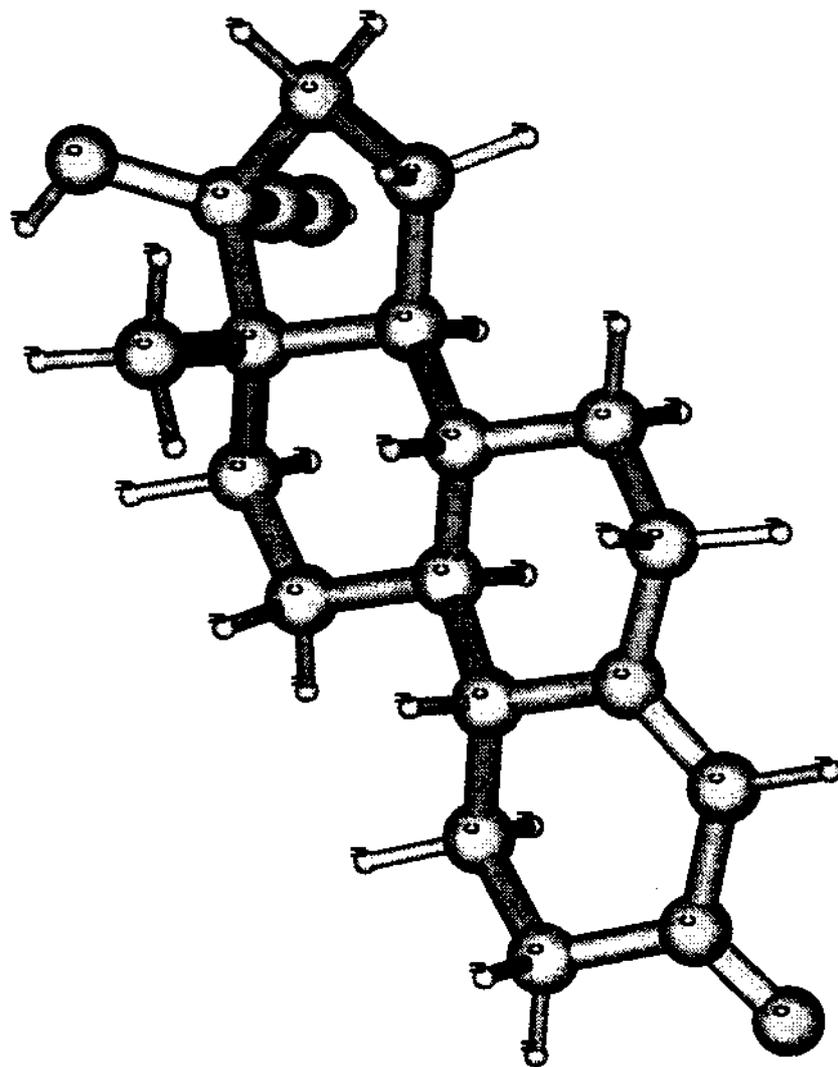
21-iodo,  $\Delta^{16}$ , 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



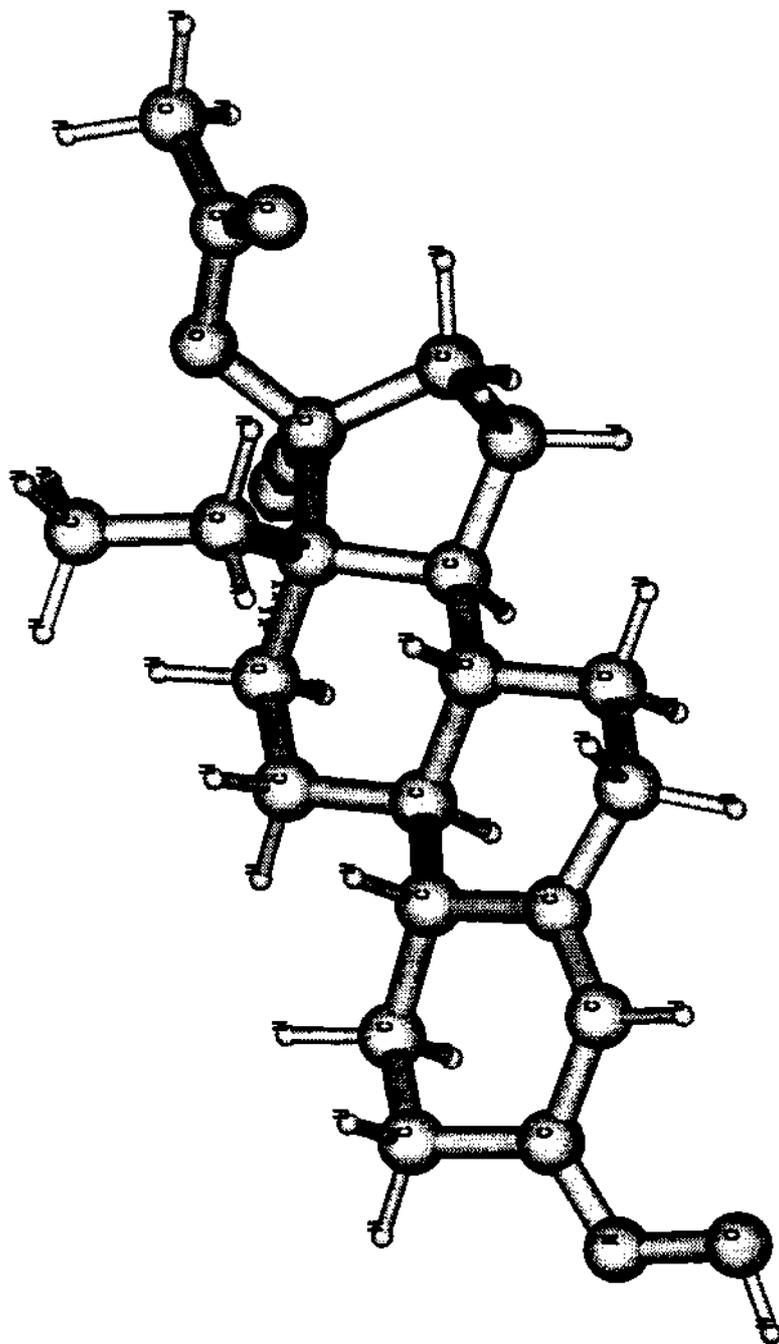
21-flúor, 6 $\alpha$ -metil, 17 $\alpha$ -acetoxiprogesterona



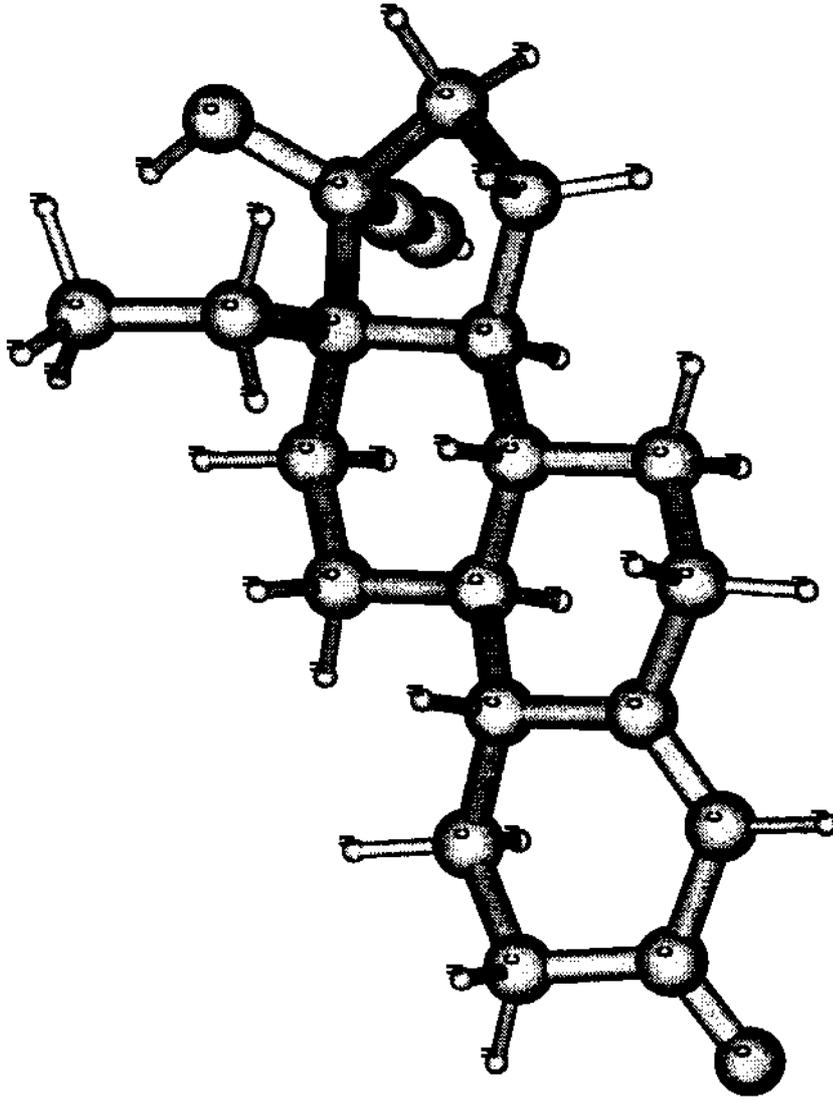
Progesterona



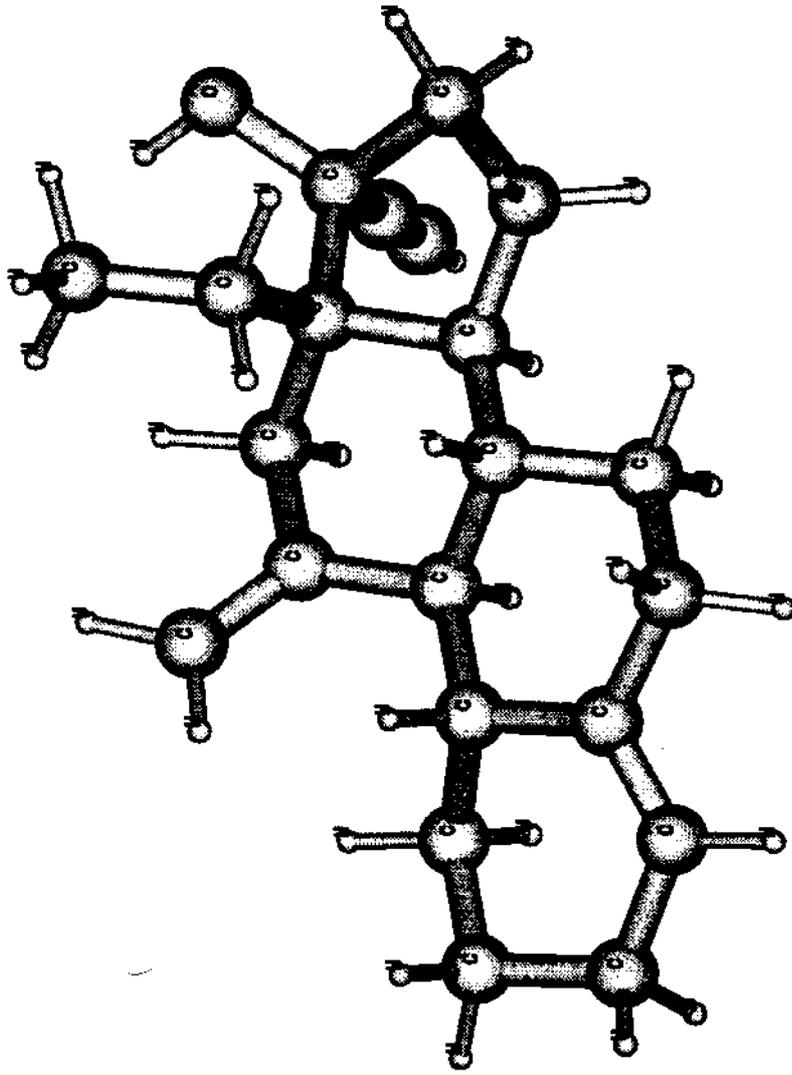
Noretisterona



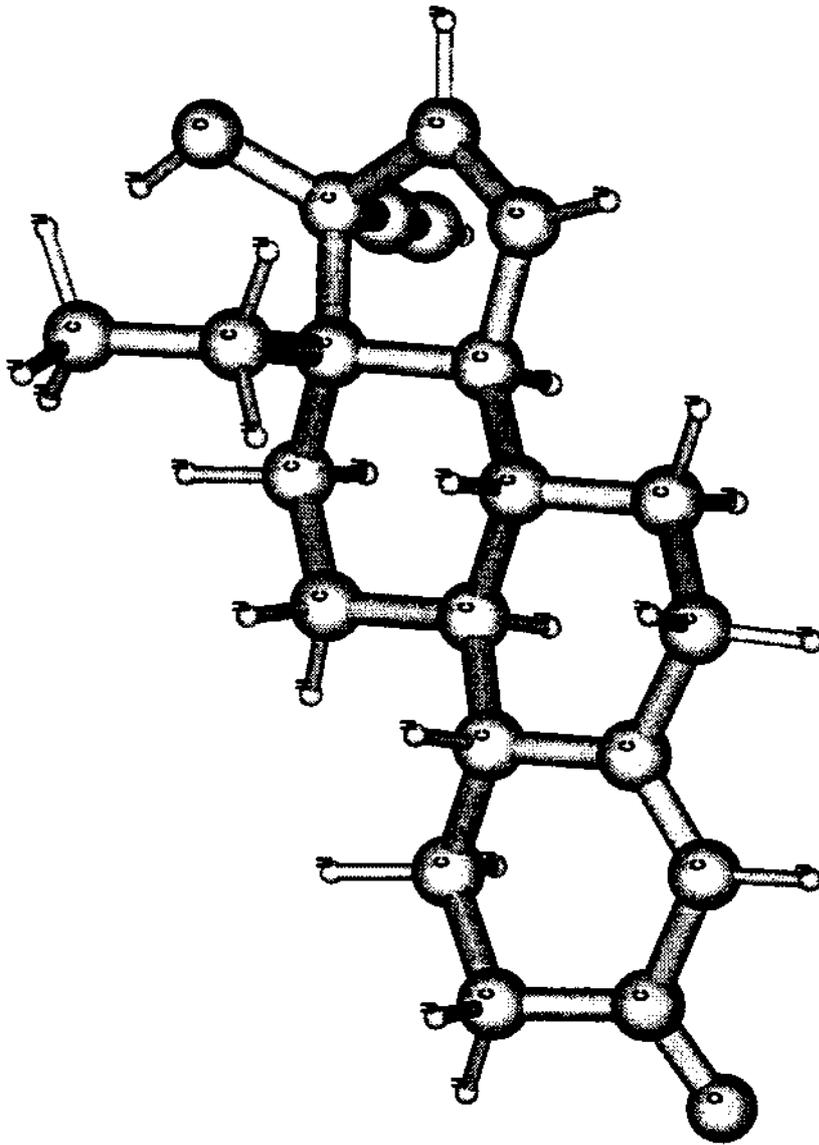
Norgestimatato



Levonorgestrel



Desogestrel



Gestodene

### Referências Bibliográficas

- (1) Egon, D., *Contraception*, 53, 1-7 (1.996).
- (2) Almanaque Abril 97, 23ª edição, Editora Abril, São Paulo, S.P.
- (3) Correio Popular, Censo de 1991 revela um Brasil mais Velho, pg.3, julho, 1.994.
- (4) Jornal da Unicamp- março de 1.992.
- (5) Correio Popular, Escassez de água potável ameaça o Homem, pg.16, 6 de março de 1.994.
- (6) Correio Popular, Colapso – Atibaia: Agonia de um Rio, 3 de agosto de 1.997.
- (7) Correio Popular, 18 de junho de 1.989.
- (8) Correio Popular, Unicef faz sombrio balanço do subdesenvolvimento no mundo, 21 de dezembro de 1.993.
- (9) Veja, 22 de maio de 1.991.
- (10) Goodman & Gilman, *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 8a. ed., Ed.Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 921 (1.991).
- (11) Fotherby, K. and Caldwell, A. D. S., *Contraception*, 49, 1-32 (1.994).
- (12) Zeelen, F. J., *Medicinal Chemistry of Steroids: Recent Developments*, *Advances in Drug Research*, 22, 150 (1.992).
- (13) Cato, A. C. B., Ponta, H. and Herrlich, P., *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 43, 1-31 (1.992).
- (14) Allinger, N. L., *Química Orgânica*, Editora Guanabara Dois S.A., Rio de Janeiro, 1.976.

- (15) Zanini, A. C. e Oga, S., *Farmacologia Aplicada*, 2a. ed., Ed.São Paulo, São Paulo, 405(1.982).
- (16) Djerassi, C., *Recent Progress in Hormone Research*, 50, Academic Press. Inc., 1-17(1.995).
- (17) Lobo, R. A., Stanczyk, F. Z., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 170, 1499 (1.994).
- (18) Speroff, L., De Cherny, A. and The Advisory Board for the New Progestins, *Obstet. Gynecol.*, 81, 1034-47 (1.993).
- (19) Rebar, R. W. and Zeserson, K., *Contraception*, 44, 1-11 (1.991).
- (20) Alexander, N. J., *Scientific American*, September, 104-109 (1.995).
- (21) Karsch, F. J., Bowen, J. M., Caraty, A., Evans, N. P. and Moenter, S. M., *Biology of Reproduction*, 56, 303-309 (1.997).
- (22) Kamernitskii, A.V. and Levina, I. S., *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 25, no.10, pp.4-16 (1.991).
- (23) Heikinheimo, O., Gordon, K., Williams, R. F. and Hodgen, G. D., *Contraception*, 53, 55-64 (1.996).
- (24) Kepa, J. K., Jacobsen, B. M., Boen, E. A., Prendergast, P., Edwards, D. P., Takimoto, G., Wierman, M. E., *Molecular and Cellular Endocrinology*, 117, 27-39 (1.996).
- (25) Richards, J. S., Fitzpatrick, S. L., Clemens, J. W., Morris, J. K. , Alliston, T. and Sirois, J., *Recent Progress in Hormone Research*, 50, 223-253, Academic Press (1.995).
- (26) Rosen, J., Day, A., Jones, T. K., Jones, E. T. T., Nadzan, A. M. and Stein, R. B., *Journal of Medicinal Chemistry*, 38, No.25, 4855-4874 (1.995).
- (27) Gaddy-Kurten, D., Tsuchida, K. and Vale, W., *Recent Progress in Hormone Research*, 109-129, Academic Press (1.995).
- (28) Brann, D. W. and Mahesh, V. B., *Neuroendocr.*, 12, 165-207 (1.991)

- (29) Mahesh, V. B. and Brann, D. W., *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 41, 495-513 (1.992).
- (30) Kepa, J. K., Jacobsen, B. M., Boen, E. A., Predergast, P., Edwards, D. P., Takimoto, G. and Wierman, M. E., *Molecular and Cellular Endocrinology*, 117, 27-39 (1.996).
- (31) Phillips, A., Hahn, D. W., McGuire, J. L., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 167, 1191 (1992).
- (32) Philips, A., Demarest, K., Hahn, D. W. et al., *Contraception*, 41, 399 (1990).
- (33) Kloosterboer, H., J., Vonk-Noordegraaf, C., A., *Contraception*, 38, 325 (1988).
- (34) Campagnoli, C. et al., *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 59, no.516, 357-363 (1.996).
- (35) Shoppee, C. W., *Chemistry of the Steroids*, 2a. ed., Ed. Spottiwoode, Ballantyne & Co. LTD., Londres (1.964).
- (36) Philips, A., Hahn, D. W. and McGuire, J. L., *Steroids*, 55, 373 (1.990).
- (37) Jain, A. N., Koile, K. and Chapman, D., *J. Med. Chem.*, 37, 2315-2327 (1.994).
- (38) Nys, G. G. and Rekker, R. F., *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.*, 9, 361-375 (1974).
- (39) Gaudio, A. C. and Takahata, Y., *Comput. Chem.*, 16, 277-284 (1992).
- (40) Higo, J. and Go, N., *J. Comput. Chem.*, 10, 376-379 (1989).
- (41) Bruns, R. E. and Faigle, J. F. G., *Química nova*, 84 (1.985).
- (42) Pirouette Multivariate Data Analysis for IBM PC Systems, (version 2.0), Infometrix, Seattle, WA (1.996).

- (43) Duax, W. L., Cody, V. and Hazel, J., *Steroids*, 30, 471-480 (1977).
- (44) Duax, W. L. and Norton, D. A., *Atlas of Steroid Structure*, Plenum Press, New York (1.975).
- (45) Duax, W. L., Weeks, C. M. and Roher, D. C. in *Topics in Stereochemistry*, 9, ed.N.L.Allinger and E.L.Eliel, John Wiley and Sons, New York, 271-383 (1.976).
- (46) Duax, W. L. and Griffin, J. F., *Adv.in Drug Research*, 18, 115 (1989).
- (47) Delettré, J., Mornon, J. P., Lopicard, G., Ojasoo, T. and Raynaud, J. P., *J.of Steroid Bioch.*, 13, 45-59 (1980).
- (48) Martin, Y. C., *J. Med. Chem.*, 24 (1.981).
- (49) Cvitas, T., Kovac, B., Pasa-Tolic, Lj., Ruscic, B. and Klasinc, L., *Pure & Appl. Chem.*, 61, no12, 2139-2150 (1.989).
- (50) Franke, R., *Theoretical Drug Design Methods*, Elsevier, Amsterdam (1.984).
- (51) Hansch, C., *ACC. Chem. Res.*, 26, 147-153 (1.993).
- (52) Box, G. E. P., Hunter, W. G. & Hunter, J. S., *Statistics for Sperimenters*, Wiley, New York (1.978).
- (53) Stone, M. & Jonathan, P., *J.Chemom.*, 7, 455-475 (1.993).
- (54) Free, S. M. and Wilson, J. W., *J.Med.Chem.*, 7, 395 (1.964).
- (55) Motoc, I., in *Steric Effects in Drug Design*, by M. Charton and I. Motoc, Springer, New York (1.983).
- (56) Balabon, A. T., *Chemical Applications of Graph Theory*, Academic, New York (1.067).
- (57) Wiener, H., *J.Am.Chem.Soc.*, 69, 2636 (1.947).

- (58)Kier, L. B. and Hall, L. H., *Molecular Connectivity in Structure-Activity Analysis*, Research Studies Press, Letchworth (1.986).
- (59)Richet, C., *C.R.Sci.Soc.Biol.Ses.Fil.*, 9 , 775 (1.893).
- (60)Hansch, C., Maloney, P. P., Fujita, T. and Muir, M., *Nature*, 194, 178 (1.962).
- (61)Hammett, L. P., *Physical Organic Chemistry*, McGraw-Hill, New York (1.940).
- (62)Hansch, C. and Leo, A. J., *Substituent Constants for Correlation Analysis*, Wiley, New York (1.979).
- (63)Unger, S. H., Cheung, P. S., Chiang, G. H. and Cook, J. R., in *Partition Coefficient Determination and Estimation*, ed.by W.J.Dunn, J.H.Block and R.S.Pearlman, Pergamon, Oxford (1.986).
- (64)Rekker, R. F., *The Hydrophobic Fragmental Constant*, Elsevier, Amsterdam, (1.977).
- (65)Medchem Software, Pomona College Chemistry Lab., Claremont, CA91711, USA.
- (66)Klopman, G. and Iroff, L. D., *J.Comput.Chem.*, 2, 157 (1.981).
- (67)Bowden, K., in *Comprehensive Medicinal Chemistry*,4, ed. by C.Hansch, P.G.Sammes and J.B.Taylor, Pergamon, Oxford (1.990).
- (68)Fukui, K., Yonezawa, T. and Shingu, H., *J.Chem.Phys.*, 20, 722-725 (1.952).
- (69)Mehler, E. L. and Gerhards, J., *J.Mol.Pharmacol.*, 31, 284 (1.983).
- (70)Meyer, V., *Chem.Ber.*, 27, 510 (1.894).
- (71)Taft, R. W., in *Steric Effects in Organic Chemistry*, ed. by M.S.Newman, Wiley, New York (1.956).

- (72) Sugden, S., *J.Chem.Soc.*, 125, 32-41 (1.924).
- (73) Verloop, A., Hoogenstraaten, W. and Tipker, J., in E.J.Ariens(ed.) *Drug Design*, 7, Academic Press, New York, 165-207 (1.976).
- (74) Könemann, H., *Toxicol.*, 19, 209-221 (1.981).
- (75) Cramer, R. D., Patterson, D. E. and Bunce, J. D., *J.Am.Chem.Soc.*, 110, 599 (1.988).
- (76) Koopmans, T., *Physica*, 1, 104 (1.933).
- (77) Mulliken, R. S., *J.Chem. Phys.*, 2, 782 (1.934).
- (78) Pearson, R. G., *J.Am.Chem.Soc.*, 85, 3533 (1.963).
- (79) Shriver, D. F., et al., *Inorganic Chemistry*, Oxford University Press, 31-35 (1.990).
- (80) Fukui, K., Yonezawa, T. & Shingu, H., *J. Chem. Phys.*, 20, 722 (1.952).
- (81) Fukui, K., Yonezawa, T., Nagata, C. & Shingu, H., *J. Chem. Phys.*, 22, 1433 (1.954)
- (82) Fukui, K., Yonezawa, T. & Nagata, C., *J. Chem. Phys.*, 27, 1247 (1.957).
- (83) Dunitz, W. J., *Chem.Int.Lab.Syst.*, 6, 181-189 (1.989).
- (84) Hansch, C. and Leo, A., (eds), "Substituent Constants for Correlations Analysis in Chemistry and Biology", John Wiley & Sons, New York (1.979).
- (85) Hammett, L. P., *Physical Organic Chemistry: Reaction Rates, Equilibria and Mechanisms*, 2a.ed., Mc Graw-Hill, New York (1.970).
- (86) Fujita, T., Iwasa, J. & Hansch, C., *J.Am.Chem.Soc.*, 86, 5175 (1.964).
- (87) Bruice, T. C., Kharasch, N. & Winzler, R. J., *Arch.Biochem.Biophys.*, 62, 305 (1.956).

- (88)Free, S. M. Jr. & Wilson, J. M., *J.Med.Chem.*, 7, 395 (1.964).
- (89)Fujita, T. & Ban, T., *J.Med.Chem.*, 14, 148 (1.971).
- (90)Bocek, K.; Kopecky, J.; Krivucová, M. & Vlachová, D., *Experientia*, 20, 667 (1.964).
- (91)Kopecky, J.; Bocek, K. & Vlachová, D., *Nature*, 207, 981 (1.965).
- (92)Hansch, C. & Dunn, W. J., *J.Pharm.Sci.*, 61, 1 (1.972).
- (93)Hansch, C. & Clayton, J. M., *J.Pharm.Sci.*, 62, 1 (1.973).
- (94)Hansch, C.; Leo, A. and Taft, W., *Chem.Rev.*, 91, 165-195 (1.991).
- (95)Karcher, W. and Devillers, J., (eds.), **Practical Applications of Quantitative Structure-Activity Relationships(QSAR) in Environmental Chemistry and Toxicology**, Kluwer, Dordrecht, Cap.1, 1-2 (1.990).
- (96)Topliss, J. G. & Costello, R. J., *J.Med.Chem.*, 15, 1066 (1.972).
- (97)Fukunaga, K. and Koontz, W. L. G., *IEEE Trans. Comp.*, C-19, 311 (1.970).
- (98)Cover, T. M. and Hart, P. E., *IEEE Trans.on Information Theory*, IT-13, 21 (1.967).
- (99)Wold, S., *Pattern Recognition*, 8, 127 (1.976).
- (100)Kowalski, B. R. and Bender, C. F., *J.Am.Chem.Soc.*, 94, 5632 (1.972).
- (101)Scarminio, I. S. and Bruns, R. E., *Trends Anal. Chem.*, 8, 326 (1.989).
- (102)Wold, S., Albano, C., Dunn III, W. J., Edlund, U., Ebensen, K., Geladi, P., Hellberg, S., Johansson, E., Lindberg, W. e Sjöström, **Proceedings of NATO Advanced Study Institute on Chemometrics Mathematics and Statistics in Chemistry**, ed. B. R. Kowalski, Riedel, 17 (1.983).

- (103) Beebe, K. R. e Kowalski, B. R., *Anal. Chem.*, 59, 1007 A, 1.987.
- (104) Wold, S. , Esbensen, K. e Geladi, P., *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2, 37 (1.987).
- (105) *J. Steroid Biochem.Molec.Biol.*, 56, nos.1-6, 3-9 (1.996)
- (106) Clemm, D. L., Macy, B. L., Mere, D. S. and McDonnell, D. P., *J.Steroid Biochem.Molec.Biol.*, 53, no.1-6, 487-495 (1.995)
- (107) *J.Steroid Biochem.Molec.Biol.*, 58, no.5/6, 517 (1.996).
- (108) Sheridan, P. L., Evans, R. M. and Horwitz, K. B., *The Journal of Biological Chemistry*, 264, no.11, 6520 (1.988)
- (109) Smith, D. F. and Toft, D. O., *Molec. Endocr.*, 7, 4-11 (1.993).
- (110) Brann, D. W., Hendry, L. B. and Mahesh, V. B., *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 52, no.2, 113-133 (1.995).
- (111) Edwards, D. P. et al., *J.SteroidBiochem. Molec. Biol.*, 53, no.1-6, 449-458 (1.995).
- (112) O'Malley, B. W., Schrader, W. T., Mani, S., Smith, C., Weigel, N. L., Conneely, O. M. and Clark, J. H., *Recent Progress in Hormone Research*, 50, 333-347, Academic Press, (1.995).
- (113) Zeelen, F. J., *Advances in Drug Research*, 22, 149, Editora Academic Press (1.992).
- (114) Zhang, Y., Beck, C. A., Hutchens, T. W., Clement IV, J. P., Harper, J. W., Edwards, D. P. and Weigel, N. L., *Endocrine Soc.*, 630 (1.994).
- (115) Denner, I. A., Weigel, N. L., Schrader, W. T. and O'Malley, B. W., *Endocrinology*, 125, 3051-3058 (1.989).
- (116) Weigel, N. L., Bai, W., Zhang, Y., Beck, C. A., Edwards, D. P. and Poletti, A., *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 53, no.1-6, 509-514 (1.995).

- (117) Brautigan, D. L., *Recent Progress in Hormone Research*, 49, 197, Academic Press (1.994).
- (118) Wella, M., *Protein Phosphorylation*, Page Bros (Norwich) Limited, Great Britain (1.979).
- (119) Aoyama, T., Suzuki, Y. and Ichikawa, H., *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 2558 (1.989).
- (120) Aoyama, T., Suzuki, Y. and Ichikawa, H., *J. Med. Chem.*, 33, 905 (1.990).
- (121) Aoyama, T., Suzuki, Y. and Ichikawa, H., *J. Med. Chem.*, 33, 2583 (1.990).
- (122) Aoyama, T., and Ichikawa, H., *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 358 (1.991).
- (123) Aoyama, T., and Ichikawa, H., *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 372 (1.991).
- (124) Aoyama, T., and Ichikawa, H., *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 1222 (1.991).
- (125) Quantum Chemistry Program Exchange, Program No.615 (QCPE 615). Creative Arts Building, 181. Indiana University/Bloomington, Indiana 47405.
- (126) Coenen, C. M. H., Thomas, C. M. G., Borm, G. F., Hollanders, J. M. G. and Rolland, R., *Contraception*, 53, 171-176 (1.996).
- (127) Botwood, N., Fairley, D. H., Kiddy, D., Robinson, S. and Franks, S., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 53, 529-531 (1.995).
- (128) Anderson, D. C.: *Sex-hormone-binding globulin*. Clin. Endocr., 3, 69-96, Oxford (1.974).
- (129) Nisker, J. A., Hammond, G. L., Davidson, B. J., Frumar, A. M., Takaki, N. K., Judd H. L. and Siiteri, P. K., *Am. J. Obstet. Gynec.*, 138, 637-641 (1.980).
- (130) Porto, C. S., Lazari, M. F. M., Abreu, L. C., Bardin, C. W. and Gunsalus, G. L., *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 53, 561-565 (1.995).

(131) Bergink, W., Assendorp, R., Kloosterboer, L., van Lier, W., Voortman, G. and Qvist, I., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 163, 2132-7 (1.990).

(132) Dunn, J. F., Nusula, B. C. and Rodbard, D., *J. Clin. Endocr. Metab.*, 53, 58-68 (1.981).

(133) Westphal, U. : Steroid-Protein Interactions II. *Monographs on Endocrinology*. Springer-Verlag, Berlin (1.986).

(134) Hammond, G. L. and Bocchinfuso, W. P., *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 53, 543-552 (1.995).

(135) Collins, D. C., *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 170, 1508 (1.994).