

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JEANYNNE LEITE DA ROCHA

ESTUDO TEÓRICO DA APLICAÇÃO DA MOF-74-Mg NO CARREAMENTO DE FÁRMACOS.

THEORETICAL STUDY OF THE APPLICATION OF MOF-74-Mg IN DRUG DELIVERY.





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JEANYNNE LEITE DA ROCHA

THEORETICAL STUDY OF THE APPLICATION OF MOF-74-Mg IN DRUG DELIVERY.

Exame de qualificação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Sergipe, para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Nivan Bezerra da Costa Jr.

Coorientador: Prof. Dr. Nailton Martins Rodrigues.

THEORETICAL STUDY OF THE APPLICATION OF MOF-74-Mg IN DRUG DELIVERY.

Qualification exam presented to the Graduate Programm in Chemistry of the Federal University of Sergipe to obtain MSc. in Chemistry.

COMISSÃO EXAMINADORA:

ORIENTADOR: Prof. Dr. Nivan Bezerra da Costa Junior

COORIENTADOR: Prof. Dr. Nailton Martins Rodrigues

1^o MEMBRO TIT.: Prof. Dr. Nome do membro titular

2⁰ MEMBRO TIT.: Prof. Dr. Nome do membro titular

SÃO CRISTÓVÃO - SE Julho, 2019

RESUMO

A busca por novos tipos de tratamento e novas drogas para o combate ao câncer, uma das doenças que mais atingem os brasileiros, é crescente, pois, drogas utilizadas nos tratamentos quimioterápicos são toxicas e apresentam baixa especificidade. Por isso, diferentes estratégias vêm sendo desenvolvidas, uma delas é a utilização das MOFs para a liberação do fármaco a uma velocidade controlada, com possibilidade de eficiente entrega no sitio ativo desejado. Neste contexto o presente trabalho tem como objetivo a aplicação de método computacionais para a avaliação da aplicação das redes metalorgânicas na liberação controlada dos fármacos ibuprofeno (IBU), 5-fluoracil (5-FLU) e cisplatina (CIS), utilizados para o tratamento de câncer. A determinação quantitativa dos fármacos, bem como o comportamento dessa interação fármaco-MOF, foram avaliados computacionalmente através dos programas RASPA e MOPAC2016. Observou-se uma melhoria na adsorção com dos fármacos com a MOF-74-Mg quando comparada com dados experimentais e teóricos encontrados na literatura. Quanto ao perfil de interação, foi observado que cada fármaco interage em um sítio diferente na Mg-MOF-74, apresentando variadas energias de ligação e mostrou que a interação mais favorável apresentou energia de ligação de 36,93 kcal/mol com maior potencial para uma liberação mais lenta, e a menos favorável 6,30 kcal/mol com potencial para uma liberação mais rápida do fármaco. Outras interações Fármaco-MOF-74-Mg estão sendo avaliados e os que já foram apresentados serão submetidos a investigações mais profundas, que já foram iniciadas.

Palavras-chave: MOFs. Métodos Semiempíricos. Fármacos. Câncer. Carreamento.

ABSTRACT

The search for new types of treatment and new drugs to combat cancer, one of the diseases that most affect Brazilians, is increasing, because the drugs used in chemotherapy are dangerous and are present in the specificity. For this reason, they are being generated, since the MOFs for a drug release have a controlled speed, with a possibility of effective delivery in the desired active site. In this context, the present work has the application of a computational method for the evaluation of metallic nets in the controlled release of the drugs ibuprofen (IBU), 5-fluoracil (5-FLU) and cisplatin (CIS), used for the treatment of Cancer. The computationally quantitative translated the RASPA and MOPAC2016 programs. Improvement in adsorption of drugs with MOF-74-Mg when compared with the experimental and theoretical data found in the literature. Mg-MOF-74 interacting with Mg-MOF-74, with varying binding energies and greater energy-binding amplitude of 36.93 kcal / mol with greater potential for slower and less favorable release 6,30 kcal / mol with potential for faster drug release. Other drug-MOF-74-Mg interactions are being evaluated and are being evidenced with the deeper investigations, which have already been initiated.

Keywords: MOFs. Semiempirical Methods. Drugs. Cancer. Carrying

Lista de Figuras

Figura 1.1.	Alguns exemplos de possíveis arranjos geométricos para as	13
Figura 1.2.	Representação de possíveis aplicações para as redes metalorgânicas.	14
Figura 1.3.	Esquemas que mostram as estratégias para a síntese das	15
Figura 1.4.	Gráfico hipotético do nível de fármaco no plasma por tempo de tratamento.	17
Figura 1.5.	Adsorção em multicamadas.	26
Figura 1.6.	Adsorção em monocamada.	27
Figura 1.7.	Classificação dos diferentes tipos de isotermas de adsorção física, segundo a IUPAC a) Fragmento com destague para subunidade orgânica da	28
Figura 3.1.	Mg-MOF-74; b) fragmento com destaque para subunidade inorgânica da Mg-MOF-74.	34
Figura 3.2.	com a calculada utilizando o método AM1 (verde), PM3 (amarelo) PM6 para a MOF-74.	36
Figura 3.3.	Estruturas moleculares dos fármacos utilizados.	37
Figura 3.4.	Curvas de energia potencial estimadas para uma molécula de cisplatina que se aproxima de um cluster representativo da Mg-MOF-74, utilizando PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4. a) coordenada ao fragmento inorgânico; b) coordenada ao fragmento orgânico.	40
Figura 3.5.	a), b) e c) interação no equilibrio entre a MOF e a cisplatina quando coordenada a fase inorgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4, respectivamente; d), e) e f) interação no equilíbrio entre a MOF e a cisplatina quando coordenada a fase orgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4. Curvas de energia potencial estimadas para uma molécula de	42
Figura 3.6.	ibuprofeno que se aproxima de um cluster representativo da Mg-MOF-74, utilizando PM6 PM6-D3 e PM6-D3H4. a) coordenada ao fragmento inorgânico; b) coordenada ao fragmento orgânico.	44

a), b) e c) interação no equilíbrio entre a MOF e o ibuprofeno quando coordenada a fase inorgânica para os métodos PM6,

- Figura 3.7. PM6-D3 e PM6-D3H4, respectivamente; d), e) e f)interação 46 no equilíbrio entre a MOF e a cisplatina quando coordenada a fase orgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4. Curvas de energia potencial estimadas para uma molécula de 5-fluoracil que se aproxima de um cluster representativo da
- Figura 3.8. Mg-MOF-74, utilizando PM6 PM6-D3 e PM6-D3H4. a) 47 coordenada ao fragmento inorgânico; b) coordenada ao fragmento orgânico.

a), b) e c) interação no equilíbrio entre a MOF e o 5-fluoracil quando coordenada a fase inorgânica para os métodos PM6,

Figura 3.9. PM6-D3 e PM6-D3H4, respectivamente; d), e) e f)interação 49 no equilíbrio entre a MOF e a cisplatina quando coordenada a fase orgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4.

Lista de Tabelas

	Valores de RMSD obtidos a partir da sobreposição da		
Tabela 3.1.	estrutura cristalográfica com calculada utilizando os métodos	35	
	AM1, PM3, PM6 e PM7.		
Tabela 3.2.	Valores de Energias de ligação (kcal/mol) estimadas PM6,	39	
	PM6-D3, PM6-D3H4, cisplatina.		
Tabela 3.3.	Adsorções simuladas e experimentais para os farmacos	41	
	avaliados, valores depositados na literatura.		
Tabela 3 4	Valores de Energias de ligação (kcal/mol) estimadas PM6,	45	
	PM6-D3, PM6- D3H4, ibuprofeno.	40	
	Valaras da Energias da ligação (kasl/mal) astimadas DMG		
Tabela 3.5.	PM6-D3 PM6- D3H4 5-fluoracil	48	
	Valores de energia de ligação, em Kcal/mol, para todos as		
Tabela 3.6.	interações obtidas.	50	

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM1	Do inglês Austin Model1
B3LYP	Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr
CCDC	Do inglês Cambridge Crystalographic Data Centre
CIS	Cisplatina
DFT	Do inglês Density Functional Theory
HF	Hartree-Fock
IBU	Ibuprofeno
IRMOF	Isoreticular MOF
GCMC	Do inglês Grand Canonical Monte Carlo
LJ	Lennard Jones
MC	Monte Carlo
MIL	Materials of Institut Lavoisier
MNDO	Do inglês Modified Negect of Diatomic Overlap
MOF	Do inglês Metal-Organic Framework
NDDO	Do inglês Neglect of Diatomic Differential Overlap
PM3	Do inglês Parametric Method 3
PM4	Do inglês Parametric Method 4
PM5	Do inglês Parametric Method 5
PM6	Do inglês Parametric Method 6
PM7	Do inglês Parametric Method 7
PUB	Do inglês Primary Building Units
RM1	Do inglês Recife Model 1
RMSD	Root Mean Square Deviation
SBU	Do inglês Secondary Building Units
TGA	Análise termogravimétrica
ZIF	Do inglês Zeolitic imidazolate framework
1D, 2D, 3D	Uma, Duas e Três Dimensões
5-FU	5 - fluoracil

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 ASPECTOS GERAIS DAS REDES METALORGÂNICAS	12
1.1.1 APLICAÇÃO DE REDES METALORGÂNICAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS	15
1.2 MÉTODOS TEÓRICOS	19
1.2.1 MÉTODOS AB INITIO	19
1.2.2 MÉTODOS HARTREE-FOCK (HF)	19
1.2.3 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE (DFT)	22
1.2.4 MÉTODOS SEMIEMPÍRICOS	23
1.2.4.1 – MÉTODO AM1	24
1.2.4.2 – MÉTODO PM3	24
1.2.4.3 – MÉTODO PM6	25
1.2.4.4 – MÉTODO PM7	25
1.2.4.5 – MÉTODO RM1	25
1.2.5 ADSORÇÃO	26
1.2.6 USO DO MONTE CARLO GRÃ-CANONICO PARA OBTE DE ISOTERMAS DE ADSORÇÃO EM MOFS	NÇÃO 28
2 OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3 AVALIAÇÃO TEÓRICA DA MOF-74 COMO CARREADOR DE FÁRMACO	32
3.1 METODOLOGIA	32
3.1.1 UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS COMPUTACIONAIS NA DESCRIÇÃO DOS FÁRMACOS	33
3.1.2 UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS COMPUTACIONAIS NA	
DESCRIÇÃO DA INTERAÇÃO FÁRMACO-MG-MOF-74	34
3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
3.2.1 CÁLCULO DA MOF-74 EM FASE SÓLIDA	35
3.2.2 FÁRMACOS CANDIDATOS AO ESTUDO	36
3.2.3 ADSORÇÃO	38
3.2.4 Avaliação da formação do sistema Fármaco-MOF	40
3.2.4.1 CISPLATINA	40
3.2.4.2 IBUPROFENO	43
3.2.4.3 5-FLUORACIL	47

3.3	ENERGIAS DE MÍNIMO	
3.4	CONCLUSÕES	51
4 PE	ERSPECTIVAS	
5 RI	EFERÊNCIAS	53

1 INTRODUÇÃO

As redes metalorgânicas, conhecidas também como MOFs (do inglês *Metal Organic Frameworks*), são estruturas porosas formadas a partir da coordenação de ligantes orgânicos a um íon metálico. Suas inúmeras possibilidades de arranjo geométrico, sua grande área superficial e sua porosidade, fazem com que essas estruturas possuam uma vasta área de aplicações. Uma das aplicações para esses polímeros de coordenação é como carreador de fármacos, no qual a MOF pode viabilizar uma liberação continua e controlada de um determinado fármaco no organismo, dentro da faixa terapêutica, possibilitando que os efeitos colaterais sejam amenizados durante o tratamento de doenças. Com base nas suas propriedades, o presente trabalho apresentará resultados obtidos a partir da química computacional, visando explorar o potencial da Mg-MOF-74 como carreador de fármacos comumente utilizados no tratamento de câncer.

1.1 ASPECTOS GERAIS DAS REDES METALORGÂNICAS

Os polímeros de coordenação ficaram conhecidos há décadas através do trabalho de A. F. Wells, em 1954, que introduziu o conceito de estruturas cristalinas inorgânicas, onde os íons metálicos agindo como "nós" se ligam entre si através de um espaçador Orgânico^{1,2}. Mas, apenas na década de 90 a partir do trabalho de Hoskins e Robson sobre redes poliméricas constituídas por seguimentos tridimensionais, esses materiais voltaram a ganhar atenção. Em 1995, o termo *Metal Organic Frameworks (MOFs)* surgiu na literatura nos trabalhos do grupo de Yaghi³.

As MOFs seguem os modelos das estruturas cristalinas porosas e podem se estender em duas ou três dimensões. Compostos com esse tipo de estrutura os poliedros de coordenação são conhecidos como subunidade de construção primária ou PUB (*Primary Building Units*), já seus ligantes orgânicos são conhecidos como unidades de construção secundárias ou SUB (do inglês *Secondary Building Units*)⁴.

Na ultima década o interesse nesse tipo de material vem crescendo, devido as suas inúmeras possibilidades de arranjo geométrico, observados na Figura 1.1, sua estabilidade, grande área superficial e porosidade faz com que esse material possua um amplo impacto em uma variedade de aplicações tecnológicas, como captura de CO₂⁵, catálise⁶, armazenamento de hidrogênio⁷, adsorção⁸, processos de toca de íons e vários outros processos de separação, como as zeólitas⁹, entre outros como observados na Figura 1.2.





Fonte: Adaptado do trabalho de lane Bezerra¹⁰.

A alta estabilidade térmica (suportando temperaturas acima de 1000°C) e baixa densidade, também, são características presentes nas MOFs, estas por sua vez dependem da sua constituição. Algumas dessas propriedades surgem devido à natureza do ligante coordenado ao metal. Para os ligantes que são derivados de ácidos carboxílicos (maioria entre as subunidades orgânicas) a coordenação é realizada a partir dos oxigênios carboxílicos presentes em sua molécula. As coordenações realizadas podem ser monodentadas ou bidentadas, essas interações possuem um alto caráter eletrostático, resultando em ligações com forças mais próximas às ligações iônicas que das ligações covalentes¹¹.



Figura 1.2: Representação de possíveis aplicações para as redes metalorgânicas.

O processo de síntese das MOFs é realizado por auto-organização, e consiste na adição de uma solução contendo o metal e outra com o componente orgânico. Após essa junção os metais ou *clusters* formam os "nós" e as moléculas orgânicas as "hastes", com o metal cedendo os elétrons na ligação coordenada, se comportando como ácido de Lewis e o ligante por usa vez, comportando-se como base de Lewis, esse tipo de ligação possui um forte caráter iônico, na Figura 3 é possível observar esquematicamente o processo de formação de uma MOF. Assim, quando o sal iônico é misturado ao ligante orgânico, ocorre uma reação que resulta na formação das MOFs (2D e 3D). Contudo, não iremos nos aprofundar neste processo, uma vez que não é objeto deste trabalho a realização de síntese de MOFs^{6,13}.

O design da MOF está relacionado, às forças intermoleculares que limitam a previsibilidade das mesmas, por isso muitos esforços vem sendo aplicados com o intuito de tentar identificar e modificar as condições de síntese, de forma a se obter a estrutura desejada e um protocolo de síntese reproduzível, e isso

Fonte: Soares, 2016¹².

muitas vezes requer mudanças na concentração e/ou polaridade do solvente, pH e temperatura. A variação de apenas um desses parâmetros pode levar a mudanças no cristalito, alterar o rendimento da reação ou mesmo provocar o surgimento de novas fases^{14–16}.



Figura 1.3: Esquemas que mostram as estratégias para a síntese das MOFs

Fonte: Adaptado do trabalho de Zhu et al¹⁷.

1.1.1 APLICAÇÃO DE REDES METALORGÂNICAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS

Uma das doenças que mais atinge os brasileiros é o câncer, estimasse que para o biênio 2018/2019 no Brasil, a ocorrência de 600 mil novos casos¹⁸, para cada ano. A doença é considerada um grande problema de saúde no Brasil e no mundo¹⁸.

Atualmente são conhecidos mais de cem tipos de câncer, que são diferenciados pela etiologia, história natural da doença e tipos de tratamento. Mesmo com todo investimento e evolução da medicina para o conhecimento e

entendimento a respeito destas patologias ainda não foi desenvolvido um tratamento eficaz para prevenção e cura¹⁹. As drogas utilizadas nos tratamentos quimioterápicos são altamente eficazes contra as células cancerosas, mas apresentam baixa especificidade e acabam sendo toxicas também para as células saudáveis. Isso acontece, pois as moléculas dos fármacos são geralmente muito pequenas e conseguem atravessar o endotélio em quase todas as regiões do organismo¹⁹.

É indiscutível que o processo de busca e desenvolvimento de novas drogas para o tratamento dessas patogenias está em ascensão, mas esse além de ser um processo caro é demorado, por isso, a busca pela melhoria, eficácia e segurança de drogas já conhecidas tem se feito necessária, visando a melhor qualidade de vida dos usuários. Diferentes estratégias vêm sendo desenvolvida, estimulando a comunidade científica a buscar, incansavelmente, atualização de métodos já conhecidos⁸. Seguindo nessa direção vem sendo proposto o uso de polímeros de coordenação no sentido de desenvolver sistemas capazes de transportar o fármaco até um alvo especifico, diminuindo assim, os efeitos indesejáveis resultantes de sua ação em outros sítios²⁰. A liberação do fármaco a uma velocidade controlada e a entrega no sitio desejado são objetivos que vem sendo vigorosamente perseguidos pela indústria farmacêutica, buscando a melhoria da biodistribuição e a diminuição dos efeitos colaterais^{21,22}. Micro e nanomaterais podem ser utilizados para o encapsulamento de agentes farmacêuticos, nestes sistemas, o fármaco está ligado a um transportador (carreador) que será os responsáveis por contornar as propriedades físico-químicas limitantes dos fármacos encapsulados, desta forma, melhorando a farmacodinâmica (potencialização do efeito terapêutico), farmacocinética (controle da absorção e distribuição tecidual), os efeitos toxicológicos (redução da toxicidade local e sistêmica) dos mesmos e manter constante a concentração sanguínea de uma determinada droga.

O sucesso dos sistemas de liberação de fármacos é alcançado não só pela melhoria de suas propriedades físico-químicas limitantes, mas, também, pela manutenção da dose efetiva do fármaco nos locais de ação. Na Figura 1.4 o gráfico mostra, de modo genérico, o perfil da liberação de um fármaco em sistemas de entrega controlada, atuando dentro do nível de segurança e

eficácia, e a liberação por técnicas terapêuticas tradicionais, que em sua liberação o fármaco chega a atingir concentrações abaixo e acima dessa faixa. Esse comportamento, por sua vez, pode causar ineficiência do tratamento, alem de graves efeitos tóxicos^{23,24}.

Figura 1.4: Gráfico hipotético do nível de fármaco no plasma por tempo de tratamento.



Fonte: Adaptada do trabalho de Misal *et al*²⁵.

O primeiro sistema de carreadores, que tinha como objetivo o encapsulamento de moléculas, foi proposto por Paul Ehrlich no século XX, e ficou conhecido como "bala mágica", até hoje ainda é seguida a mesma ideia. Existem sistema carreadores que utilizam vetores capazes de permitir a otimização da velocidade de cedência e do regime de dosagem das substâncias. Os dispositivos são feitos sob medida e desenvolvidos cuidadosamente para o fármaco que eles pretendem conter²⁶. Entre estes incluem sistemas poliméricos baseados em lipossomas²⁷, niossomas²⁷, dendrímeros²⁸, ciclodextrinas²⁹, zeólitas mesoporosos³⁰, redes metalorgânicas (Metal Organic Frameworks - MOFs) e outros materiais mesoporosos.

Neste contexto, uma proposta que tem fascinado a comunidade cientifica na ultima década é a utilização de Metal Organic Frameworks (MOFs), materiais mesoporosos ($20\text{\AA} \leq d \leq 500\text{\AA}$), nanoporosos ($10 - 100 \text{\AA}$) e microporosos,

conhecidos como IRMOF's (*isorreticular MOF*), como carreadores de fármacos^{31,32}. Embora seja recente a aplicação das MOFs como carreadores de fármacos apresentam vantagens por possuir uma síntese relativamente simples, na qual se pode modular tanto a estrutura porosa quanto o ambiente químico do sítio ativo, selecionando criteriosamente os blocos de construção (metal e ligante orgânico) e como eles estão conectados. As MOFs podem atuar como peneiras moleculares, selecionando as moléculas que podem ser difundidas nos poros³¹.

A investigação do potencial de aplicação de uma determinada MOF como carreador de um fármaco especifica, configuram como um avanço nesta linha de pesquisa. E neste âmbito a utilização de simulações computacionais possui um papel importante, pois estes possibilitam entender e interpretar todo o processo em nível molecular, possibilitando, por exemplo, explicar se ocorre a ancoragem do fármaco, onde ocorre e se esta é viável energeticamente.

Os pioneiros nas investigações de MOFs como sistema em transporte de drogas foi o grupo de Fe'rey e seus colaboradores desenvolveram a primeira família de MOFs, conhecidas como *Materials of Institut Lavoisier* (MIL)¹. Um de seus primeiros trabalhos buscou incorporar o fármaco o ibuprofeno, visto que a MOF MIL-101 apresentava grandes cavidades. O grupo tinha a intenção de estudar a interação do mesmo fármaco com diferentes MOFs. Nesse trabalho foi investigada a diferença na capacidade de adsorção do ibuprofeno frente à MOFs com diferentes tamanhos de poros.

Com vista na aplicação da MOF ZIF-8 como carreador do fármaco Doxorrubicina, Vasconcelos e colaboradores em 2013 investigaram por via teórica e experimental a utilização deste sistema, e constataram que o mesmo proporcionava uma liberação continua de 66% do fármaco encorpado durante o período de 30 dias, e viu-se também que o fármaco estava ancorado por meio de coordenação entre átomos de oxigênio do fármaco e átomos de alumínio contidos na superfície desta MOF³³.

1.2 MÉTODOS TEÓRICOS

A simulação computacional se tornou ao longo dos anos uma excelente ferramenta na investigação cientifica, atuando como ferramenta de apoio na analise e interpretação de dados obtidos experimentalmente, fornecendo informações que muitas vezes não são possíveis de serem obtidas experimentalmente, além do auxilio no planejamento, proporcionando uma economia nos custos associados aos estudos experimentais¹¹.

A química teórica é basicamente compreendida em quântica (métodos *ab initio*, funcional de densidade e semiempiricos) e clássica (mecânica dinâmico – determinístico³⁴.

1.2.1 MÉTODOS AB INITIO

Os cálculos *ab initio*, também conhecidos como métodos dos primeiros princípios, parte diretamente de princípios teóricos da mecânica quântica, que permitem a investigação das estruturas e as propriedades dos materiais em níveis atômicos, incluindo apenas as constantes físicas fundamentais. Estes são usados para resolver a equação de Schrödinger, no entanto, quanto maior o nível de exatidão do método, maior o recurso computacional associado aos mesmos. Por este motivo, aproximações são feitas³⁵. Uma simplificação significativa, conceitual e computacional aplicada a este método é obtida pela introdução de modelo de partículas independentes, onde o movimento de um elétron é considerado independente de todos os outros³⁶.

1.2.2 MÉTODOS HARTREE-FOCK (HF)

O método *ab initio* mais simples é o Hartree-Fock, o mesmo assume que um sistema de N elétrons pode ser descrito como um produto antimetrizado de N funções de um único elétron (spin-orbital) que se move num campo gerado pelos núcleos estacionários e num campo médio resultante da distribuição espacial de todos os outros elétrons, reduzindo ao problema de N elétrons independentes. Essa aproximação evita que seja preciso resolver uma equação envolvendo N elétrons, pois é considerada que a função de onda do sistema será uma sobreposição (combinação linear) de todas as possíveis

permutações de pares de elétrons. Uma maneira dessas funções de onda, com todas as permutações possíveis, serem obtidas é descreve – lá como um determinante construído com os spins-orbitais, chamado determinante de Slater³⁷.

Quando considerada uma função de onda para um problema molecular é escrita na forma de um determinante de Slater a equação de Schrödinger pode ser resolvida pela aproximação do método de Hartree-Fock, que utiliza a aproximação de Born-Oppenheimer, onde os termos que dependem das coordenadas eletrônicas são separados das nucleares³⁸.

A equação de HF é uma equação de autovalores com os spins-orbitais que funciona como uma autofunção do operador de Fock e a energia dos spinsorbitais. O operador de Fock depende desses valores de energia logo, as equações são solucionadas de maneira auto consistente, pois fazem uso de algoritmos interativos baseados na teoria variacional a qual busca a minimização da energia até que o campo formado pelos elétrons se mostre³⁹.

Normalmente, os spin-orbitais moleculares são tratados como um conjunto de base que são descritos pela combinação linear de orbitais atômicos. Neste modelo de equações diferenciais são substituídas por equações matriciais, por serem muito mais fáceis de serem solucionadas. Com isto, a energia de HF passa a depender da escolha do conjunto de base e, como se tratam de caçulos variacionais, quanto maior o conjunto de base associado, mais exato o resultado obtido.

A função HF, por ser uma função que despreza as interações instantâneas entre os elétrons, trata-se de uma função não exata. No método HF são apenas consideradas como valores médios as interações que ocorrem entre os elétrons, enquanto as interações reais são instantâneas³⁸

Funções desse tipo apresentam energia sempre superior à energia exata não relativística do estado fundamental e a diferença entre elas são chamadas de energia de correlação. Com o resultado da simplificação, a energia total obtida pelo sistema pode chegar até 99%, apesar de pequeno em termos percentuais, essa energia perdida em torno de 1%, é o suficiente para sugerir que uma ligação química estável seja considerada instável geralmente, o aumento da energia de correlação está relacionado a duas grandes limitações do método HF³⁸.

A primeira delas está relacionada com o uso da função de onda HF restrito, esta função costuma descrever muito bem moléculas na configuração que estão próximas do estado de equilíbrio, mas quando há um ou mais de um estado eletrônico próximo do estado fundamental, a descrição do sistema é falha se restrita a um único determinante de Slater. Essa limitação pode ser resolvida ao adicionar mais algumas configurações à função de onda e a mesma passa a ser descrita por mais de um determinante de Slater e são chamadas de correlação estática ou não dinâmica. A segunda limitação é mais evidente, ela resulta da incapacidade da aproximação HF em descrever fisicamente o movimento que cada elétron desempenha nos demais elétrons. Correlações desse tipo são denominadas de correlações dinâmicas, uma vez que estão relacionadas com as interações diretas entre elétrons, estas também podem ser corrigidas adicionando configurações de onda³⁵.

Novos determinantes de Slater podem ser produzidos, pois, a solução algébrica da equação de HF gera dois conjuntos de spin-orbitais, os ocupados e os desocupados. Quando os orbitais do estado fundamental são alterados, novas configurações podem ser obtidas.

Entende-se que os determinantes obtidos a partir de conjuntos de base completos, a função de N elétrons será descrita por uma base completa, com o intuito de obter a energia exata do sistema, mas, na pratica o conjunto de base nunca está completo e assim, só é possível chegar a aproximações de energia exata.

Outras maneiras de buscar a energia de correlação mais exata podem ser utilizadas, mas esses métodos demandam um elevado nível computacional associado, o que restringe seu uso apenas para sistemas pequenos. Uma alternativa para obter energia de correlação com um custo computacional menor são métodos baseados na teoria funcional da densidade (DFT) e por isso, vem sendo muito utilizada pelos químicos⁴⁰.

1.2.3 TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE (DFT)

A teoria do funcional da densidade se difere da mecânica quântica no uso da densidade eletrônica como sua variável básica, em vez de funções de onda multieletrônica.

A primeira aproximação baseada somente na densidade eletrônica foi proposta em 1927 por Thomas⁴¹ e Fermir⁴², que independentemente desenvolveram uma aproximação extraordinariamente simples para a equação de Schrondinger e apesar da baixa qualidade das previsões para sistemas reais este modelo é o percussor da moderna teoria do funcional da densidade e foi extensivamente estudado até a chegada do novo modelo proposto por Slater X $\alpha^{43,44,45}$.

A consolidação do funcional da densidade foi estabelecida a partir de dois teoremas publicados em um único trabalho de Holemberg e Kohn⁴⁶, em 1964. Eles conseguiram justificar o uso da densidade eletrônica como variável básica na descrição da estrutura eletrônica de moléculas e sólidos. O primeiro teorema mostra que o conhecimento da densidade eletrônica determina o potencial externo e, como também determina completamente o Hamiltoniado, a partir daí todas as propriedades determinadas por ele como a função de onda do estado fundamental e a polarizabilidade elétrica. O segundo determina que haja um principio variacional para o funcional da densidade eletrônica, isto é, uma densidade eletrônica aproximada, v-representável⁴⁷, que determina que há um limite para a energia eletrônica mínima energia exata.

O funcional da densidade pôde ser escrito em duas partes, uma contém um funcional dependente do potencial externo e a outra tem um funcional independente deste, denominado funcional universal, que recebeu este nome, pois, sua forma é a mesma tanto para sistemas mais simples, quanto para sistemas mais complexos compostos de muitos elétrons. Neste método é realizada a substituição da dependência das 4N coordenadas (3N para descrever a posição no espaço e 1N para spin eletrônico), que são necessárias para descrever da função de onda, pela densidade eletrônica, passando a

trabalhar intrinsecamente com uma função real de três variáveis (densidade em três dimensões)³⁵.

A diferença fundamental entre o DFT e o Hartree-Fock está na descrição do Hamiltoniano, onde, a evolução do tratamento matemático passa a englobar a densidade eletrônica como grandeza fundamental, tornando possível a aplicação em sistemas de muitos corpos, com um custo computacional associado mais barato do que os *ab initio* tradicionais. O único problema é que além da dependência do conjunto de base, agora também é preciso o uso dos funcionais de correlação e troca³⁷.

1.2.4 MÉTODOS SEMIEMPÍRICOS

Os métodos de HF e DFT, apesar de descreverem as propriedades com exatidão, apresentam limitações com respeito ao tamanho do sistema, quanto mais átomos, maior o custo computacional associado a esse cálculo.

Os semiempíricos surgiram do desejo de realizar cálculos químicos quânticos para sistemas maiores, seja no número de átomos como no número de elétrons. A principal ideia é reduzir a demanda de recursos computacionais, mantendo a capacidade preditiva de propriedades em um nível aceitável.

Para driblar as limitações dos métodos ab-initios, foram feitas aproximações que evitam etapas computacionais intensivas anulando integrais de valores baixos e incluindo parâmetros determinados empiricamente para substituir outras integrais de modo a se obter o melhor ajuste a um conjunto de treinamento que seja consideravelmente mais rápido que a metodologia *ab initio* Métodos que são gerados a partir desse procedimento e possuem essas características, são conhecidos como métodos semiempíricos⁴⁸, os quais são mais versáteis que os cálculos clássico baseados na mecânica molecular.

Os primeiros métodos semiempíricos surgiram no início da década de 50, para a descrição de sistemas que possuem orbitais π através de métodos quantitativos e semiquantitativos. Os avanços dessa teoria se deram a partir do trabalho de Dewar em 1952, que propôs um ajuste dos parâmetros do modelo frente a um conjunto de dados experimentais^{49,50}.

A seguir serão descritos características importantes dos métodos semiempíricos usados neste trabalho, a saber: AM1, PM3, PM6, PM7 e RM1.

1.2.4.1 – MÉTODO AM1

O método AM1(do inglês, *Austin Model 1*)⁵¹ surgiu com a tentativa de aprimorar o seu antecessor, o método de MNDO (do inglês, *Modifield Nedeet of Diatomic Overlap*) que possuía uma tendência erronia em descrever interações repulsivas núcleo – núcleo entre átomos não ligados^{52,53}.

O método trouxe em sua formulação modificações das funções de repulsão nuclear pela inclusão de Gaussianas que descrevem interações atrativas, com o objetivo de diminuir a larga repulsão que seu antecessor demonstrava⁵⁴.

A evolução do AM1 foi confirmada após a parametrização e mostrou-se muito melhor que seu antecessor na descrição da força das ligações de hidrogênio. Mas, ainda assim os resultados não são tão satisfatórios, pois, apesar da boa descrição dessas o método não reproduz corretamente as geometrias da ligação de hidrogênio⁵⁵.

1.2.4.2 – MÉTODO PM3

A descrição matemática do método PM3 (do inglês, *Parametric Method 3*)⁵⁶ é semelhante ao usado no método AM1, que apresentou suas deficiências aperfeiçoadas quando Stewart aprimorou a técnica anterior procurando obter um conjunto de parâmetros tão próximos quanto o possível do mínimo global da hipersuperficie de parâmetros. Essa nova parametrização foi o que deu origem ao PM3, esse então, passou a descrever melhor alguns parâmetros, como as ligações de hidrogênio que deixaram de ser bifurcadas, concordando mais com a geometria experimental, mas formando ligações mais fracas do que deveriam, alem de mais algumas desvantagens que vieram juntas ao novo conjunto de parâmetros⁵⁵.

No geral, é um método basicamente idêntico ao AM1, uma das poucas diferenças está no tratamento das integrais de repulsão caroço-caroço no qual o numero de Gaussianas foi reduzido.

1.2.4.3 – MÉTODO PM6

O método semiempírico PM6 (do inglês, *Parametric Method 6*)⁵⁷ surgiu a partir de modificações no tratamento caroço-caroço feita no primeiro método desenvolvido por Pople, o MNDDO (do inglês, Modified Neglect of Diatomic Diferential Overlap)⁵⁷.

Neste método foi feito um esforço para que o conjunto de dados que foi tomado como referencia fosse tão completo quanto viável e, sempre que não fossem encontrados resultados experimentais, resultados de cálculos de alto nível como os *ab initio* foram consultados⁵⁸.

O PM6 além de ser um dos métodos mais completos, por possuir parametrização de quase toda tabela periódica, observaram que fornecia geometrias excelentes para vários tipos de complexos ligados por interações de dispersão e ligação de hidrogênio. Mas, os valores de energia obtidos foram subestimados, diante disso foi proposto, pela primeira vez, a adição de uma correção para a ligação de hidrogênio em conjunto com a correção de dispersão^{57,59}.

O método também foi usado para calcular propriedades de vários sólidos cristalinos orgânicos e inorgânicos, inexistentes no conjunto de treinamento e conseguiu descrever muito bem a geometria para a maioria, mas para um pequeno grupo de sólidos, foram observados grandes erros na estrutura⁶⁰.

1.2.4.4 – MÉTODO PM7

O método PM7 (do inglês, *Parametric Method 7*)⁶¹ surgiu a partir de uma nova parametrização para corrigir pequenos erros encontrados na descrição de moléculas, íons e sólidos cristalinos feitos pelo PM6. A nova modificação conta com a inclusão de correções empíricas de força de dispersão para melhor descrição das interações fracas como forças de Londons e, também, correções para a descrição de ligações de hidrogênio, fundamentais para descrever sólidos e estruturas grandes como macromoléculas biológicas⁶⁰.

1.2.4.5 – MÉTODO RM1

O método RM1 (do inglês, Recife Model 1)⁶² surgiu de uma nova parametrização de AM1. Nesse processo os parâmetros atômicos foram ajustados considerando dados experimentais de calor de formação, momento dipolo, potencial de ionização e parâmetros geométricos. O conjunto de parametrização também contou com um numero muito maior de estruturas. Embora ainda possua poucos elementos da tabela periódica parametrizados, estes são de grande importância do ponto de vista biológico. ^{48,63}

1.2.5 ADSORÇÃO

Adsorção é um fenômeno físico-químico, no qual um fluido composto por moléculas liquida ou gasosas, denominados adsorvato, aderem à superfície de um solido denominado adsorvente. É um fenômeno de concentração que se da pela diminuição da energia livre de Gibbs por meio de interações intermoleculares fracas (força de van der Waals, ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo, interações hidrofóbicas ou eletrostáticas) ou por ligações químicas. Esse processo pode ser dividido basicamente em dois tipos de categorias: a adsorção física ou fisiosorção e a adsorção química ou quimiosorção^{64–66}.

Na fisiosorção a interação ocorre a partir de forças intermoleculares fracas, como forças de van der Waals e ligações de hidrogênio, interação dipolo-dipolo, entre outras, podendo formar uma ou mais camadas de moléculas adsorvidas, Figura 1.5, alem de ser uma adsorção reversível^{11,67}.



Figura 1.5: Adsorção em multicamadas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Na quimiossorção, ocorre interação química, onde os elétrons de ligação entre as moléculas e o sólido submetem-se a um reordenamento e seus orbitais mudam de forma. A quimiossorção caracteriza-se por possui calores de adsorção entre 10 a 200 kcal/mol, na mesma ordem de grandezas de calor e de modo semelhante a uma reação química. Por ser mais forte que o processo de fisiosorção, é um processo mais lento e irreversível, o que vem a favorecer a formação de apenas uma camada de moléculas adsorvida^{64,65,67}.

Figura 1.6: Adsorção em monocamada.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Vale ressaltar que ambos os fenômenos de adsorção podem ocorrer simultaneamente em certas ocasiões ou o mesmo par de adsorvente/adsorvato pode se unir por um tipo ou outro de adsorção a depender da temperatura⁶⁸. O grau de interação entre o adsorvente e o adsorbato será ditado por suas afinidades e a ordem de ocorrência entre os dois tipos de adsorção. A relação entre a quantidade de moléculas de adsorvente em uma faixa de pressão, quando a temperatura é mantida constante, fornece informações importantes a respeito do comportamento dos compostos envolvidos. A representação gráfica desta relação denomina-se isoterma de adsorção.

A IUPAC⁶⁹ reconhece seis tipos de adsorção e, cada forma obtida fornece informações sobre as características do adsorvente e o tamanho de seus poros. Materiais microporosos (poros com diâmetro inferior a 2 nm) normalmente produzem isotermas do tipo I, que apresentam maior adsorção em baixas pressões antes de atingir a saturação⁷⁰. As isotermas do tipo II são indicativas de materiais macroporosos (poros maiores que 50 nm), apresentam inicialmente características semelhantes com a do tipo I, mas conforme a pressão aumenta sua adsorção é intensificada com a formação de múltiplas camadas. Também para materiais macroporosos pode-se obter a isoterma do tipo III, essa apresenta o comportamento oposto das duas primeiras, exibindo baixo grau de adsorção a baixa pressão e aumentando abruptamente a medida que a pressão aumenta. As isotermas do tipo IV e V sugerem a presença de mesoporosidade (poros com diâmetro de 2 a 50 nm) e apresentam interação forte e fraca, respectivamente. Já as isotermas do tipo VI, são características de materiais com superfície regular e não porosos e apresenta a formação em multicamada⁷¹.

Figura 1.7: Classificação dos diferentes tipos de isotermas de adsorção física, segundo a IUPAC⁶⁹.



Fonte: Adaptada do trabalho de *Fletcher et al*⁷¹.

1.2.6 USO DO MONTE CARLO GRÃ-CANONICO PARA OBTENÇÃO DE ISOTERMAS DE ADSORÇÃO EM MOFS

A simulação de Monte Carlo (MC) é um método estatístico aplicado em simulações estocásticas, nas mais diversas áreas do conhecimento e vem sendo utilizado há bastante tempo como uma forma de obter aproximações numéricas de funções complexas. O método consiste, basicamente, na geração de observações de alguma distribuição de probabilidade e uso de amostragem obtida para aproximar a função de interesse. Seu nome deriva de uma analogia a região de Monte Carlo em Mônaco, que é mundialmente conhecida por seus cassinos, os quais também possuem sorteios realizados aleatoriamente^{72,73}.

Simulações com método MC tem a energia do sistema calculada a partir de funções de potencial ou são definidos por campos de forças, estes parâmetros incluem somente contribuições intermoleculares, visto que muitas das propriedades sofrem pouca influência dos graus de liberdade intramoleculares, seu sucesso é dado principalmente na qualidade dos modelos de potencial empregados, sem comprometer a viabilidade computacional dos cálculos⁷⁴.

O método MC considera que sistemas fechados que possuam volume, composição e temperatura constantes podem ser reproduzidos com uma grande quantidade de replicas e estas por sua, que estão em contato térmico, podem realizar tocas de energia. A partir dessas condições o método foi dividido em três conjuntos que diferem entre si de acordo com os sistemas avaliados, são eles: o ensemble microcanônico (MCMC), sistemas que possuem os mesmos números de moléculas (N), temperatura (T) e energia (E), o ensemble canônico (MCC) que são os sistemas que possuem volume (V), N e T comuns, e no ensemble grã-canônico eles possuem potencial químico (μ), V e T comum (MCGC)^{75,76}.

As simulações de MC têm sido utilizadas com sucesso em vários estudos, que tem como objetivo prever as propriedades de adsorção em materiais de estruturas porosas em relação a dados experimentais correspondentes⁷⁷. A avaliação de estudos de adsorção em MOFs, em particular, tem utilizado o ensemble MCGC que é capaz de calcular a quantidade de moléculas adsorvidas em sistemas a uma dada temperatura e pressão constantes⁷⁸.

Todos os conjuntos do método de MC, as interações fluido - fluido e solido – fluido são calculados a partir de potenciais de interação. Os potenciais que são geralmente utilizados são os de Coulomb, que descreve bem as interações de

29

longas distancias, e o de Lennard – Jones (LJ), que por sua vez descreve bem as interações de van der Waals (fraca) entre pares que estão a curta distância, ambos são provenientes de campos de forças genéricos como o UFF⁷⁸.

A aplicação do MCGC permite a obtenção de isotermas de adsorção, para isso, basta realizar uma sequencia de simulações mantendo a temperatura constante e variando, continuamente, a pressão em que se encontra a caixa de simulação. Em cada ponto é possível obter informações referentes ao número total de moléculas que estão contidas na caixa e quantas foram adsorvidas, obtendo assim, as isotermas de adsorção absoluta, que considera todas as moléculas contidas na caixa de simulação (adsorvidas e não adsorvidas), e a isoterma de adsorção em excesso, que corresponde às isotermas obtidas experimentalmente, estas consideram apenas as moléculas que estão adsorvidas na MOF^{11,79}.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo geral a aplicar de métodos computacionais para avaliar a adsorção de fármacos utilizados para o tratamento e diagnóstico de câncer, com o objetivo de promover um ou mais sistemas candidatos a serem utilizados como carreadores de fármacos, estes que podem ser aplicados com foco em reduzir a toxicidade e aumentando a especificidade.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizando o programa MOPAC2016, calcular com os diferentes métodos semiempíricos utilizando condições de contorno, MOFs previamente selecionadas, de modo a avaliar qual método é o mais indicado para; o estudo subsequente;
- Calcular os fármacos com a MOF, utilizando o método que melhor a descreveu, para assim realizar o cálculo de interação entre a MOF e o fármaco;
- Avaliar o grau adsorção dos fármacos a partir da obtenção de isotermas de adsorção, estas que serão obtidas com o método de Monte Carlo Grã-canônico no programa RASPA;
- Simular pontos de interação do fármaco com a MOF;
- Por meio de curvas de energia potencial, ordenar as MOF e os fármacos em termos de energia de interação, para com isso reforçar a eleição de sistemas candidatos.

3 AVALIAÇÃO TEÓRICA DA MOF-74 COMO CARREADOR DE FÁRMACO

Visto que a necessidade de novos compostos com atividade terapêutica e/ou solubilidade aquosa vem se tornando cada vez mais complexas e sua comercialização cada vez mais lenta. Por isso, se faz necessário o desenvolvimento de sistemas que permitem melhor controle dos níveis plasmáticos de drogas aumentando a eficiência, diminuindo a toxicidade, bem como a proteção da biodegradação do fármaco aumentando sua estabilidade⁸⁰.

Uma das estratégias bem estabelecida e já consolidada no carreamento do fármaco é o uso de sílica mesoporosa ordenada, no entanto é um material que possui uma baixa capacidade de armazenamento de fármacos. Portanto, uma rota alternativa com as MOFs foi proposta, como novo sistema de entrega controlada⁸⁰. Elas exibem uma capacidade de armazenamento de drogas elevada e apresentou boa liberação sob condições fisiológicas. As MOFs apresentam excelente porosidade, estabilidade térmica e a possibilidade de ajustar a estrutura de acordo com a aplicação, tais propriedades tornam essa classe de materiais uma excelente alternativa para investigação. Especificamente para o carreamento de fármacos, foi demonstrado que a Mg-MOF-74 apresenta uma excelente capacidade de adsorcão⁸¹.

3.1 METODOLOGIA

A estrutura cristalina da MOF -74-Mg foi obtida no dados Cambridge Crystalographic Data Center (CCDC)⁸², a partir do número de deposição 668974⁸³.

Os cálculos foram executados usando o programa MOPAC2016⁵², no qual os arquivos de entrada contêm as coordenadas XYZ e parâmetros de rede descritos como vetores de translação (Tv), a palavra-chave GNORM que especifica o fim da otimização quando o cálculo atinge um gradiente de normalização igual a 1,0 kcal mol⁻¹Å⁻¹ para os cálculos com os métodos semiempíricos AM1, PM3 e PM6 (GNORM=1), e para o método PM7 um gradiente igual a 5,0 kcal mol⁻¹Å⁻¹, uma vez que foi utilizado um "GNORM=5,0", pois, o mesmo requer um limite maior para a convergência de moléculas maiores, sendo aplicado um valor recomendado para cálculos de grandes

estruturas, tais como as proteínas. Também foram aplicadas para todos os casos as palavras chaves MERS=(a,b,c), onde a, b e c são números inteiros que identificam quantas vezes os parâmetros de rede foram replicado em comparação a célula unitária original, e LET DDMIN=0.0 foi aplicada para permitir que os cálculos escapem de mínimos locais.

A precisão das estruturas otimizadas com os diferentes métodos foram avaliadas através do RMSD (*Root Mean Square Devition*), e todos os valores de RMSD foram obtidos através do programa VMD 1.9.1⁸⁴ a partir da sobreposição das estruturas calculadas frente à cristalográfica, visando obter a magnitude de erro dos parâmetros geométricos calculados. O método semiempírico mais apropriado para o estudo foi eleito por meio de comparação através de valores de RMSD obtidos.

As isotermas de adsorção foram obtidas com o programa RASPA⁷⁹, via método Monte Carlo Grã-Canônico de modo a explorar e obter dados referentes à adsorção física que pode ocorrer entre a estrutura e o fármaco. Para isso, foram utilizados 30.000 ciclos para cada pressão mantendo a temperatura constante em 298 K. A realização dos cálculos de Monte Carlo Grã-Canônico fornece a isoterma em excesso descreve a relação direta com a quantidade de moléculas adsorvidas na MOF, como não se trata de um gás, é não é preciso considerar as moléculas que estariam naturalmente no poro.

A descrição da interação entre fármaco – fármaco e fármaco – MOF foi realizada a partir da utilização do potencial de LJ com o campo de força GenericMOFs⁷⁹ (contido no programa RASPA) utilizado para a descrição de MOFs, já para os fármacos foram utilizado o campo de força de LJ encontrados na literatura.

3.1.1 UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS COMPUTACIONAIS NA DESCRIÇÃO DOS FÁRMACOS.

Os fármacos utilizados foram escolhidos de forma que contemplasse o tratamento de diversos tipos de câncer, suas estruturas foram desenhadas utilizando o programa Molden⁸⁵. Os mesmos foram otimizados utilizando o MOPAC2016, para os métodos AM1, PM3, PM6 PM7 e RM1, com de normalização GNORM=0,001.

3.1.2 UTILIZAÇÃO DE MÉTODOS COMPUTACIONAIS NA DESCRIÇÃO DA INTERAÇÃO FÁRMACO-MG-MOF-74.

A partir de resultados anteriores para os cálculos envolvendo a Mg-MOF-74, foi selecionado o método com os melhores resultados da descrição estrutural da MOF para o estudo de interação (adsorção) dos fármacos selecionados com a Mg-MOF-74, a fim de avaliar a capacidade carreamento destes fármacos.

Para a realização desta parte do estudo, foram construídas a partir da estrutura cristalina da Mg-MOF-74 dois fragmentos, a) com destaque para a subunidade orgânica e b) com destaque para a subunidade inorgânica, tais que podem ser observadas na Figura 3.1. Esses fragmentos foram gerados com o devido cuidado para proporcionar a mínima perda de informação estrutural, de modo a proporcionar um ambiente químico o mais próximo possível da célula unitária e do poro em si, para que com eles fossem avaliadas a interação com os fármacos.

Figura 3.1. a) Fragmento com destaque para subunidade orgânica da Mg-MOF-74; b) fragmento com destaque para subunidade inorgânica da Mg-MOF-74.



Após a construção destes fragmentos, deu-se inicio ao cálculo da curva de energia potencial, para isso foi feita a aproximação entre o fragmento da

MOF e o fármaco, sendo escolhido um átomo ou um ponto (pela inclusão de um átomo fantasma) central do fármaco e um átomo central da MOF no fragmento construído, com isso foram geradas curvas de energia potencial.

Para esta aproximação, a distância assumiu 100 valores, variando de 12,0 Å a 2,1 Å decrescendo a 0,1 Å a cada passo, conservando sempre fixa a estrutura da MOF. Esse intervalo foi escolhido para que fosse possível observar e determinar a energia, desde o inicio da interação entre a molécula e o fragmento. Como o fármaco esteve livre durante todo cálculo, foi permitido que os ângulos e distâncias dos átomos da molécula mudassem livremente de acordo com as interações realizadas pelo mesmo durante o percurso.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.1 CÁLCULO DA MOF-74 EM FASE SÓLIDA

A partir da sobreposição entre a estrutura cristalográfica e a calculada com os diferentes métodos semiempíricos avaliados, foi possível obter os valores de RMSD contidos na Tabela 3.1. É importante ressaltar, que o método é um principio indicativo de um melhor ajuste quando possui um valor mais baixo e, segundo estudos detalhados e publicados recentemente, por nosso grupo, foi assumido que valores de RMSD próximos ou inferiores a 1 Å serão considerados como um indicativo de bom ajuste, já valores próximos ou superiores a 2 Å não indicam uma boa previsão da estrutura⁵.

Método	RMSD (Å)	
AM1	0,6634	
PM3	0,6004	
PM6	0,4049	
PM7	0,5254	

Tabela 3.1. Valores de RMSD obtidos a partir da sobreposição da estrutura cristalográfica com calculada utilizando os métodos AM1, PM3, PM6 e PM7.

Observando a tabela 3.1 é possível observar os valores de RMSD obtidos com os métodos semiempíricos AM1. PM3, PM6 e PM7. Todos apresentaram uma previsão muito boa, mas o método PM6 foi o método que apresentou o menor valor de erro em sua descrição, uma menor dispersão dos

átomos, divergindo dos outros três modelos aplicados, que apresentaram valores maiores de RMSD.

Na figura 3.1 é possível observar a sobreposição da estrutura cristalográfica (cinza) com as estruturas calculadas para os métodos AM1 (verde), PM3 (amarelo), PM6 (rosa) e PM7 (azul), nesta é possível ter uma considerável noção visual das distorções estruturais apresentadas por cada método em função de seus correspondentes valores de RMSD.

Figura 3.2. De a) a d), sobreposição da estrutura cristalográfica (cinza) com a calculada utilizando o método AM1 (verde), PM3 (amarelo) PM6 para a MOF-74.



3.2.2 FÁRMACOS CANDIDATOS AO ESTUDO

Os três fármacos escolhidos são amplamente utilizados em tratamento dos mais diversos tipos de câncer e atuam de diferentes maneiras.

A cisplatina é um antineoplásico alquilante utilizado principalmente nos cânceres de ovário e próstata, entre outros. O fármaco possui um átomo central de platina envolto por dois átomos de cloro e dois grupos de amônio, Figura 3.3 a), e torna-se ativado dentro da célula quando ocorre a substituição dos íon cloreto por água, essa forma vem a ser muito reativa nos centros nucleofílicos de biomoléculas como o DNA, RNA, proteínas e membranas fosfolípidicas.

Quando liga ao DNA a cisplatina impede sua duplicação pelo bloqueio da enzima DNA polimerase, podendo também inibir sua transcrição, bloqueando o ciclo celular.

O 5-fluoracil, Figura 3.3 b), é um agente metabolito que atua sobre células em fase de síntese do DNA. É um dos fármacos mais empregados para o tratamento quimioterápico de uma variedade de tumores, principalmente os colorretais e de mama.

Sua atuação se dá tanto por incorporação direta nos ácidos nucleicos, quanto por meio da inibição de sua biossíntese. O fármaco é um análogo estrutural da base nitrogenada uracila, por isso, seus metabolitos podem ser incorporados ao DNA e do RNA, alem de possuírem ação inibitória sobre a enzima timidalato síntase, que é uma das responsáveis pela síntese de nucleotídeos.

O ibuprofeno, Figura 3.3 c), é da classe dos antiflamatorios não esterioidal que age pela inibição da ciclooxigenase-2 (COX-2), o que difere da mucosa normal. A atuação do fármaco se da pela inibição da COX – 2, o que impede a estimulação da prostraglandina – 2 não deixando que esta iniba a proliferação de células epiteliais. A COX – 2 também apresenta estreitas relação como regulação da angiogenese tumoral.

Figura 3.3. Estruturas moleculares dos fármacos utilizados.



3.2.3 ADSORÇÃO

Para a validação do método utilizado, primeiro foi realizada a adsorção do ibuprofeno, fármaco vastamente utilizado com os mais diversos tipos de materiais mesoporosos, como observados na Tabela 3.2.

Os resultados obtidos para o mesmo com a MOF-74-Mg estão em boa concordância com os dados já reportados na literatura, sejam eles experimentais ou através de simulações computacionais, Tabela 3.2. A metodologia aqui aplicada foi realizada a 1 bar e a temperatura ambiente, 25°C, mostrou uma adsorção de 0,410 g g⁻¹. Embora existam diferenças nos modelos utilizados nas simulações moleculares de diferentes grupos, a metodologia aqui aplicada apresentou resultados superiores. Quando comparados aos dados encontrados na literatura para resultados experimentais, apresentou uma melhoria na capacidade de adsorção de 17,27% para a MIL-100 (Cr)⁸⁶, 20% para a peneira molecular MCM-41²⁶ e chegou a ser superior a 100% para a MOF-53 (Cr)⁸¹. Os mesmo quando comparados a trabalhos teóricos recentes, nossos resultados apresentaram

uma melhoria na adsorção de 1,85% para a MIL-100 (Fe)⁸⁷ e de 9,45% para a MOF-74-Mg⁸¹, a mesma utilizada neste trabalho.

Nossas previsões também foram comparadas com os dados disponíveis na literatura para o fluoracil e a cisplatina. Para o fluoracil, que apresentou uma adsorção de 0,721 g g⁻¹, apresentou uma boa concordância com a maior adsorção experimental encontrada para a mesma, 0,820 g g⁻¹ com o CuBTC⁸⁸. Para a cisplatina nossas previsões mostraram uma adsorção de 3,01256 g g⁻¹, e se mostrou muito superior aos valores encontrados para adsorções experimentais com a mesma, 0,256 g g⁻¹ para UiO66⁸⁹ e 1,252 g g⁻¹ para a MOF-NC⁹⁰. Nossas previsões para o fluoracil quando comparadas com adsorções teóricas encontradas na literatura, também apresentou concordância para MOF-74-Mg⁹¹, nas simulações de Erucar que apresentou uma adsorção de 0,710 g g⁻¹. Para a cisplatina, ate o que foi pesquisado, não foi encontrado trabalhos teóricos referentes a adsorção da mesma.

FARMACO	Adsorvente	Máximo simulado adsorção g g ⁻¹	Referencia
	MIL-100(Cr)	1,38	Horcajada, 2006. ⁸⁶
	MIL-101(Cr)	0,35	Horcajada, 2006 ⁸⁶
	MCM-41	0,34	Horjacada, 2008. ²⁶
IBUPROFEINO	MIL-53(Fe)	0,21	Horjacada, 2008 ²⁶
	Zeolite (FAU)	0,16	Erucar, 2017 ⁹¹
	MOF-74-Mg	0,375	Erucar, 2016. ⁸¹
	ZIF-8	0,45	Sun, 2012. ⁹²
	Zn-MOF	0,5	Sun,2011. ⁹³
FLUORACIL	CuBTC	0,82	Lucena, 2013. ⁸⁸
	MOF-74-Mg	0,71	Erucar, 2017 ⁹¹

Tabela 3.2. Adsorções simuladas e experimentais para os fármacos avaliados, valores depositados na literatura.

	UiO66	0,256	Lin, 2019. ⁸⁹
CISPLATINA	UiO66	0,298	Mocniak, 2015. ⁹⁴
	MOF-NC	1,252	Torad, 2014.90

3.2.4 Avaliação da formação do sistema Fármaco-MOF

Para entender melhor as interações entre as moléculas hóspedes avaliamos a formação do sistema Fármaco-MOF. O estudo foi realizado em duas etapas, a primeira etapa foi realizada coordenando os fármacos à subunidade inorgânica da MOF, na segunda os mesmos foram coordenados à subunidade orgânica da MOF, ambas foram calculadas com o método PM6, com o PM6-D3⁹⁵ e PM6-D3H4⁹⁶ que incluem correção de dispersão de densidade e de hidrogênio, respectivamente.

3.2.4.1 CISPLATINA

A Figura 3.2 apresenta curvas de energia potencia (CEP) de uma molécula de cisplatina (CIS) que se aproxima da estrutura de um fragmento inorgânico, Figura 3.2, a, e orgânica, Figura 3.2, b, ambos utilizando os métodos PM3, PM6-D3 E PM6-D3H4. Os três métodos apresentaram, em ambos os fragmentos, uma diferença considerável em respeito aos valores de energia de mínimo, onde o PM6-D3H4 apresenta uma maior profundidade na CEP, indicando uma maior estabilidade na reação. Essa diferença entre os métodos é justificada, pois os modelos aplicados apresentam correções de dispersão, que passaram a descrever melhor as ligações que são regidas pela força de van der Waals, e as ligações de hidrogênio.

Figura 3.4 Curvas de energia potencial estimadas para uma molécula de cisplatina que se aproxima de um cluster representativo da Mg-MOF-74, utilizando PM6 PM6-D3 e PM6-D3H4. **a)** coordenada ao fragmento inorgânico; **b)** coordenada ao fragmento orgânico.



A Tabela 3.3 mostra os valores das energias de ligação obtidas quando a cisplatina é coordenada aos fragmentos nos diferentes métodos aplicados. Para o fragmento inorgânico os valores de mínimo observados foram de 18,21 kcal/mol para o PM6, 33,39 kcal/mol para o PM6-D3 e de 36,93 kcal/mol para o PM6-D3H4, com distancias de equilíbrio de 4,2, 4,1 e 4,2 Å, respectivamente. Quando coordenada ao fragmento orgânico os valores de energia de ligação foram de 9,92 kcal/mol para o PM6, 28,53 kcal/mol para o PM3-D3 e de 34,55 kcal/mol para o PM6-D3H4, com distancias de equilíbrio de 3,9, 3,4 e 3,6 Å, respectivamente.

Tabela 3.3. Valores de Energias de ligação (kcal/mol) estimadas l	PM6,	PM6-
D3, PM6-D3H4 para a cisplatina.		

Métodos	Energia de ligação (kcal/mol)	
	ΔH _{INO}	ΔH _{ORG}
PM6	18,21	9,92
PM6-D3	33,39	28,53
PM6-D3H4	36,93	34,55

No fragmento inorgânico, para todos os métodos, é observado na geometria de equilíbrio dos pontos de mínimo das curvas, representados na figura 3.4 a e b, é possível observar que um dos átomos de cloro da cisplatina se coordenou ao átomo de magnésio da MOF, a uma distância de ligação de 2,51 Å (Mg--Cl) para o PM6, 2,49 Å para o PM6-D3 e 2,50 Å para o PM6 – D3H4, formando uma ligação iônica, enquanto um dos átomos de hidrogênios ligado a nitrogênio da cisplatina realizou ligação de hidrogênio com um átomo de oxigênio que constitui o poliedro de coordenação da MOF a uma distância de ligação 1,94 Å para o PM6, Å para o 2,03 PM6-D3 e 3,25 Å para o PM6 – D3H4 (N---H-O).

Para a interação com a subunidade orgânica, a geometria de equilíbrio Figura 3.4 c e d, demonstraram que mesmo direcionado a parte ligante da MOF a cisplatina novamente realizou ligação de hidrogênio com um átomo de oxigênio que constitui o poliedro de coordenação da MOF a uma distância de ligação (N---H-O) foi de 1,88 Å para o PM6, 2,56 Å para o PM6-D3 e 2,60 Å para o PM6 – D3H4, e que um dos átomos de cloro se coordenou diretamente a um átomo de magnésio da MOF, a uma distância de ligação foi de 2,60 Å para o PM6, 2,73 Å para o PM6-D3 e 1,77 Å para o PM6 – D3H4 (Mg-Cl). Outras interações de menor porte também foram observadas, sendo uma delas a aproximação da platina com o anel aromático, e do segundo átomo de cloro da cisplatina com um átomo de oxigênio que constitui o poliedro de coordenação da MOF localizado no lado oposto, tais que justificariam a maior estabilidade observada nas curvas. A distância do segundo átomo de cloro com o oxigênio foi de 4,65 Å e a distância entre a platina e anel aromático foi de aproximadamente 3,90 Å.

Figura 3.5 a), **b) e c)** interação no equilíbrio entre a MOF e a cisplatina quando coordenada a fase inorgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4, respectivamente; **d)**, **e) e f)** interação no equilíbrio entre a MOF e a cisplatina quando coordenada a fase orgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4.



PM6



PM6-D3



b)

A maior estabilidade do sistema inorgânico, representados por maiores valores de energia, indica que adsorção da cisplatina se dá, preferencialmente na parte metálica da molécula, formando ligações iônicas mais fortes e com distâncias menores, favorecendo essa estabilidade.

3.2.4.2 IBUPROFENO

O ibuprofeno (IBU) quando coordenado aos fragmentos orgânicos e inorgânicos da MOF apresentou, para os métodos PM6, PM6-D3 e PM3-D3H4,

as CEP representadas na Figura 3.4. O IBU apresentou comportamento semelhante à cisplatina, quando os métodos de dispersão são aplicados. O IBU por sua vez, quando coordenado ao fragmento inorgânico, apresentou para o PM6 um poço de potencial raso e afastado, destoando do que foi observado para os outros dois métodos. Observou-se também que em todas as CEP, para ambos os fragmentos, descontinuidades são apresentadas, sendo mais acentuadas para o fragmento inorgânico, essas ocorrem porque a molécula de IBU está livre e até atingir o ponto de mínimo e estabelecer uma ligação com a MOF, sua estrutura vem sofrendo variações em sua conformação.

Figura 3.6 Curvas de energia potencial estimadas para uma molécula de cisplatina que se aproxima de um cluster representativo da Mg-MOF-74, utilizando PM6 PM6-D3 e PM6-D3H4. **a)** coordenada ao fragmento inorgânico; **b)** coordenada ao fragmento orgânico.



Os valores de energia de ligação para a coordenação do IBU em ambos os fragmentos da MOF estão representados na Tabela 3.4. Esses valores de energia para quando o fármaco é coordenado ao fragmento inorgânico foram de 8,66 kcal/mol para o PM6, 27,77 kcal/mol para o PM6-D3 e 27,19 kcal/mol para o PM6-D3H4, a uma distancia de 5,2, 3,4 e 3,3 Å, respectivamente. Para a coordenação com a subunidade orgânica os valores de energia são de 6,31 kcal/mol para o PM6, 27,42 kcal/mol para o PM6-D3 e de 32,86 kcal/mol para o PM6-D3H4, com distancias de 6,2, 6,53 e 5,9 Å, respectivamente.

Foi observado que a interação entre o fármaco (IBU) e o fragmento inorgânico da MOF é composta por ligações fracas, que são regidas pelas forças de van der Waals, que são melhores descritas quando se usa o modelo de correção de dispersão D3. Foi observado que as curvas com os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4 apresentaram uma diferença menor quando aplicado no fragmento orgânico, e neste viu-se que ocorre uma atração não covalente entre anéis aromáticos do fármaco e da MOF, conhecida como atração $\pi - \pi$ – Stacking⁹⁷, não sendo mais regida pela força de van der Waals. Na figura 3.4, é possível observar o perfil das curvas de energia potencial obtidas, e o distanciamento entre as curvas descritas pelos diferentes métodos.

Tabela 3.4. Valores de Energias de ligação (kcal/mol) estimadas PM6, PM6-D3, PM6-D3H4 para o ibuprofeno.

Métodos	Energia de ligação (kcal/mol)	
	ΔH _{INO}	ΔH _{ORG}
PM6	8,66	6,31
PM6-D3	26,77	27,42
PM6-D3H4	27,19	32,86

Para os pontos de mínimo do fragmento inorgânico, representados na Figura 3.5 a e b, foi possível observar que a interação entre o ibuprofeno e a MOF deu-se através da coordenação entre o átomo de carbono (C2) do ibuprofeno com um átomo de oxigênio da MOF, a uma distância de 3,02 Å para o PM6, 2,79 Å para o PM6-D3 e 2,50 Å para o PM6-D3H4, observou-se também que o hidrogênios (H22) do ibuprofeno interagiu através de ligação de hidrogênio com um oxigênio do poliedro de coordenação da MOF a uma distância de 3,05 Å para o PM6, 2,62 Å para o PM6-D3 e 2,54 Å para o PM6-D3H4, foi verificada, também, uma maior aproximação de um dos carbonos presentes no anel do ibuprofeno com um dos magnésios presentes na MOF, o qual atingiu uma distância no equilíbrio de 3,41 Å para o PM6, 2,84 Å para o PM6-D3 e 3,07 Å para o PM6-D3H4.

Já na subunidade orgânica, as geometrias de equilíbrio, Figura 3.5 c e d, demonstram que quando o ibuprofeno é direcionado a parte ligante da MOF ocorre um emparelhamento π - π -Stacking sandwich (quando dois anéis ficam emparelhados frente a frente)⁹⁷, a uma distância de 3,01 Å para o PM6, 2,84 Å para o PM6-D3 e de 3,13 Å para o PM6-D3H4, observou-se também uma ligação de hidrogênio entre o hidrogênio (HX) do fármaco e um oxigênio da MOF a uma distância de 2,06 Å para o PM6, 1,93 Å para o PM6-D3 e de 2,76 Å para o PM6-D3H4.

Figura 3.7 a), **b) e c)** interação no equilíbrio entre a MOF e o ibuprofeno quando coordenada a fase inorgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4, respectivamente; **d)**, **e) e f)** interação no equilíbrio entre a MOF e o ibuprofeno quando coordenada a fase orgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4.





3.2.4.3 5-FLUORACIL

Na Figura 3.6 é possível observar as CEP de uma molécula de 5fluoracil (5-FU) quando coordenada ao fragmento oinorganico da MOF, Figura 3.6, a, e ao fragmento orgânico, Figura 3.6, b, para os métodos PM6, PM6-D3 E PM6-D3H4.

O 5-FU segue o mesmo comportamento dos fármacos anteriores quando as funções de dispersão são aplicadas. Como para o ibuprofeno, as CEP para o 5-FU também apresentam descontinuidade e para os métodos PM6-D3 E PM6-D3H4 as CEP também apresentaram um poço mais afastado.

Figura 3.8 Curvas de energia potencial estimadas para uma molécula de cisplatina que se aproxima de um cluster representativo da Mg-MOF-74, utilizando PM6 PM6-D3 e PM6-D3H4. **a)** coordenada ao fragmento inorgânico; **b)** coordenada ao fragmento orgânico.



A Tabela 3.5 mostra os valores de energias de ligações obtidas quando o 5-FU é coordenado aos fragmentos para todos os métodos. Para o fragmento inorgânico os valores de mínimo foram de 13,85 kcal/mol para o PM6, 21,95 kcal/mol para p PM6-D3 e de 21,96 kcal/mol para o PM6-D3H4, assumindo distancias de equilíbrio nos valores de 4,5, 4,4 e 4,4 Å, respectivamente.

Quando coordenado ao fragmento orgânico os resultados foram 14,42 kcal/mol para o PM6, 20,60 kcal/mol para o PMP6-D3 e 23,90 kcal/mol para o PM6-D3H4, assumindo distancias no equilíbrio de 4,0, 6,2 e 5,7 Å, respectivamente.

Tabela 3.5. Valores de Energias de ligação (kcal/mol) estimadas PM6, PM6-D3, PM6-D3H4 para o 5-fluoracil.

Métodos	Energia de ligação (kcal/mol)	
	ΔH _{INO}	ΔH _{ORG}
PM6	13,85	14,42
PM6-D3	21,95	20,60
PM6-D3H4	21,96	23,90

No ponto de equilíbrio para a subunidade inorgânica, Figura 3.7 a, b, c, foi observado que a coordenação do fármaco se deu através de uma ligação de hidrogênio, com o hidrogênio que está ligado ao nitrogênio (N---H-O), a uma distância de 1,73 Å para o PM6, 1,69 Å para o PM6-D3 e de 1,69 Å para o PM6-D3H4, outra ligação também foi estabelecida nessa coordenação, o oxigênio posicionado entre os nitrogênios do fármaco e o magnésio da MOF (O-Mg), a uma distância de 2,12 Å para o PM6, 2,04 Å para o PM6-D3 e de 2,13 Å PM6-D3H4.

Quando avaliada a geometria de equilíbrio da interação entre o fármaco e a fase orgânica, Figura 3.7 d, e e f, foi observado que mesmo quando direcionado a subunidade orgânica, o fluoracil realizou novamente uma ligação de hidrogênio com um átomo de oxigênio da MOF e um de hidrogênio do fármaco, a uma distancia de 1,92 Å para o PM6, 1,70 Å para o PM6-D3 e de 1,69 Å para o PM6-D3H4, mas diferente de quando direcionado a subunidade inorgânica, dessa vez para o PM6 o fluoracil realizou uma ligação entre o flúor presente em sua estrutura e o magnésio da MOF (C---F-Mg), a uma distancia de 2,21 Å para o PM6 – D3, Figura 3.7 d).

Figura 3.9 a), **b) e c)** interação no equilíbrio entre a MOF e o fluoracil quando coordenada a fase inorgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4, respectivamente; **d)**, **e) e f)** interação no equilíbrio entre a MOF e o fluoracil quando coordenada a fase orgânica para os métodos PM6, PM6-D3 e PM6-D3H4.





PM6-D3

3.3 ENERGIAS DE MÍNIMO

Na Tabela 3.5 estão dispostos os valores de variação de energia para todos os fármacos mostrados anteriormente. De posse destes dados é possível realizar uma avaliação geral. Verificou-se que a interação mais favorável termodinamicamente para a cisplatina foi para a subunidade inorgânica, esta apresentou uma energia de ligação de 63,93 kcal/mol para o PM6-D3H4. Para o ibuprofeno a subunidade orgânica foi quem apresentou a maior energia de ligação, que foi de 32,86 kcal/mol para o PM6-D3H4. Para o 5-fluoracil, a subunidade orgânica, como para o ibuprofeno, foi quem também apresentou a maior energia de ligação, no valor de 23,90 kcal/mol. Todos os melhores resultados foram descritos com o PM6-D3H4. Quando comparados os três sistemas, o que apresentou o melhor resultado termodinâmico foi a cisplatina coordenada a subunidade inorgânica.

Tabela 3.6. Valores de energia de ligação, em kcal/mol, para todos as interações							
obtidas.							

	ENERGIA (kcal/mol)					
FÁRMACO	PM6		PM6-D3		PM6-D3H4	
	ΔH _{INO}	ΔH _{ORG}	ΔH _{INO}	ΔH_{ORG}	ΔH _{INO}	ΔH_{ORG}
CISPLATINA	18,21	9,92	33,39	28,53	36,93	34,55
IBUPROFENO	8,66	6,31	6,73	27,42	27,19	32,86

3.4 CONCLUSÕES

Neste estudo, foi avaliado o desempenho de armazenamento da MOF-74-Mg com os fármacos ibuprofeno, fluoracil e cisplatina, utilizando simulações moleculares. A comparação das nossas simulações para a capacidade de armazenamento foi consistente com valores encontrados na literatura para varias MOFs e materiais mesoporosos que possuem estruturas e propriedades diferentes. Para entender melhor as interações entre as moléculas hóspedes avaliamos a formação do sistema, com base nas curvas de energia potencial apresentadas, viu-se que cada fármaco interage com um dos diferentes sítios da Mg-MOF-74 com variadas energias de ligação, de modo que em geral a interação mais forte ocorre entre o fármaco e a subunidade orgânica da MOF, sendo assim, o sítio localizado na subunidade orgânica é o preferencial, e a ancoragem geralmente ocorre a partir de ligações de hidrogênio entre um hidrogênio do fármaco e um oxigênio do poliedro de coordenação da MOF ou a partir da coordenação de um dos átomos do fármaco com o magnésio presente na MOF. Viu-se também que o fármaco que interagiu com maior energia de ligação foi a ciclofosfamida com 36,93 kcal/mol, e o que interagiu com menor energia de ligação foi o ibuprofeno com 6,30 kcal/mol. Nossos resultados mostraram que os MOF-74-Mg, têm um forte potencial no armazenamento e entrega de medicamentos e pode ser uma alternativa aos transportadores tradicionais de drogas.

4 PERSPECTIVAS

Dentre as perspectivas futuras para esta dissertação estão:

- Obter a geometria de equilíbrio para a Mg-MOF-74, a partir de cálculos em fase sólida, utilizando cálculos DFT com funcional PBE e um conjunto de funções de base SZV e DZVP no programa CP2K, para serem utilizados nos estudos com o método de Monte Carlo Grãcanônico;
- Por meio da realização de *Doking* Molecular, obter pontos de ancorarem e fortalecer os resultados obtidos e expostos como curvas de energia potencial.
- Utilizar diferentes metais para a MOF-74 e realizar cálculos com os fármacos, para avaliação de qual é o melhor metal para o sistema proposto fármaco - MOF-74.

5 REFERÊNCIAS

- [1] Taylor-Pashow, K. M. L.; Della Rocca, J.; Xie, Z.; Tran, S.; Lin, W. Postsynthetic Modifications of Iron-Carboxylate Nanoscale Metal-Organic Frameworks for Imaging and Drug Delivery. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (40), 14261–14263.
- [2] Dantas Ramos, A. L.; Tanase, S.; Rothenberg, G. Redes Metalorgânicas e Suas Aplicaçõões Em Catálise. *Quimica Nova* 2014, 37 (1), 123–133.
- [3] Flores, L. S. Síntese, Caracterização e Estrutura Cristalina de Redes Metalorgânicas Com Ligantes Mistos N- e O- Doadores. **2015**, 137.
- [4] Marques, J. S. Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte Instituto De Química Programa De Pós-Graduação Em Química. **2012**.
- [5] Daniel, C. R. A.; Rodrigues, N. M.; Nivan, B.; Jr, C.; Freire, R. O. Are Quantum Chemistry Semiempirical Methods E Ff Ective to Predict Solid State Structure and Adsorption in Metal Organic Frameworks? **2015**.
- [6] Article, E.; Zou, L.; Feng, D.; Liu, T.; Chen, Y.; Yuan, S. Chemical Science Titanium Metal Organic Frameworks †. **2016**, *333*, 1063–1069.
- [7] Zou, L.; Zhou, H. C. Hydrogen Storage in Metal-Organic Frameworks. Nanostructured Materials for Next-Generation Energy Storage and Conversion: Hydrogen Production, Storage, and Utilization 2017, No. 5, 143–170.
- [8] Lucena, G. N. Síntese, Caracterização e Avaliação Do Potencial Em Drug Delivery de BioMOFs (Biocompatible Metal-Organic Frameworks) de Zn (II). 2016, No. Ii.
- [9] Witman, M.; Ling, S.; Anderson, S.; Tong, L.; Stylianou, K. C.; Slater, B.; Smit, B.; Haranczyk, M. In Silico Design and Screening of Hypothetical MOF-74 Analogs and Their Experimental Synthesis. *Chemical Science* **2016**, 7 (9), 6263–6272.
- [10] ALVES, I. B. V. Doutoranda: lane Bezerra Vasconcelos Alves. 2013.
- [11] Rodrigues, N. M. ESTUDO TEÓRICO DAS PROPRIEDADES ESTRUTURAIS E ESPECTROSCÓPICAS DE REDES METALORGÂNICAS COM APLICAÇÕES EM SAÚDE, SEGURANÇA PÚBLICA, ENERGIA E MEIO AMBIENTE., UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, 2018, Vol. 0.
- [12] Soares, C. V.; Borges, D. D.; Wiersum, A. D.; Martineau, C.; Nouar, F.; Llewellyn, P. L.; Ramsahye, N. A.; Serre, C.; Maurin, G.; Leitão, A. A. Adsorption of Small Molecules in the Porous Zirconium- Based Metal Organic Framework MIL-140A (Zr): A Joint Computational-Experimental Approach Adsorption of Small Molecules in the Porous Zirconium-Based Metal Organic Framework MIL-140A (Zr): A Joint . 2016.
- [13] Wu, M. X.; Yang, Y. W. Metal–Organic Framework (MOF)-Based

Drug/Cargo Delivery and Cancer Therapy. *Advanced Materials* **2017**, 29 (23), 1–20.

- [14] Huxford, R. C.; Della Rocca, J.; Lin, W. Metal-Organic Frameworks as Potential Drug Carriers. *Current Opinion in Chemical Biology* 2010, 14 (2), 262–268.
- [15] Mathiowitz, E.; Jacob, J. S.; Jong, Y. S.; Carino, G. P.; Chickering, D. E.; Chaturvedi, P.; Santos, C. A.; Vijayaraghavan, K.; Montgomery, S.; Bassett, M.; et al. Biologically Erodable Microspheres as Potential Oral Drug Delivery Systems. *Nature*. 1997, pp 410–414.
- [16] Horcajada, P.; Chalati, T.; Serre, C.; Gillet, B.; Sebrie, C.; Baati, T.; Eubank, J. F.; Heurtaux, D.; Clayette, P.; Kreuz, C.; et al. Porous Metal-Organic-Framework Nanoscale Carriers as a Potential Platform for Drug Deliveryand Imaging. *Nature Materials* **2010**, *9* (2), 172–178.
- [17] Zhuang, J.; Kuo, C.; Chou, L.; Liu, D.; Weerapana, E.; Tsung, C.; Hill, C.; States, U.; Barbara, S.; States, U. Optimized Metal-Organic- Framework Nanospheres for Drug Delivery : Evaluation of Small-Molecule. ACS Nano 2014, 8 (3), 2812–2819.
- [18] Intituto Nacional de Câncer https://www.inca.gov.br/ (accessed Feb 2, 2019).
- [19] Gamarra, L. F. Avanços Na Utilização de Nanocarreadores No Tratamento e No Diagnóstico de Câncer Advances in the Use of Nanocarriers for Cancer Diagnosis and Treatment. 2016, 14 (11), 99– 103.
- [20] Ciências, I. D. E.; Ice, E.; Química, P. E. M. Síntese e Aplicações Catalíticas de Polímeros de Coordenação Derivados de Íons Lantanídeos e Ligantes Arenossulfônicos Síntese e Aplicações Catalíticas de Polímeros de Coordenação Derivados de Íons Lantanídeos e Ligantes Arenossulfônicos. 2018.
- [21] Severino Alves (Coordenador). METAL ORGANIC FRAMEWORKS (MOFS): Da Síntese a Aplicações Em Meio Ambiente, Saúde e Segurança Pública; 2016.
- [22] De Oliveira, C. A. F.; Silva, F. F. Da; Malvestiti, I.; Malta, V. R. D. S.; Dutra, J. D. L.; Da Costa, N. B.; Freire, R. O.; Alves, S. Synthesis, Characterization, Luminescent Properties and Theoretical Study of Two New Coordination Polymers Containing Lanthanide [Ce(III) or Yb(III)] and Succinate Ions. *Journal of Molecular Structure* **2013**, *1041*, 61–67.
- [23] Ma, Z.; Moulton, B. Recent Advances of Discrete Coordination Complexes and Coordination Polymers in Drug Delivery. *Coordination Chemistry Reviews 2011 255 (15-16*, 1623-1641.
- [24] Misal, R.; Waghmare, A.; Aqueel, S.; Hattiambire, K. Matrix Table: A Promising Technique for Controlled Drug Delivery. *Indo American Journal* of Pharmaceutical Research 2013, 3 (5), 1–15.

- [25] Applications, T. Formulações de Anestésicos Locais de Liberação Controlada : 2003, 53, 663–671.
- [26] Horcajada, P.; Horcajada, P.; Serre, C.; Serre, C.; Maurin, G.; Maurin, G.; Ramsahye, N. A.; Ramsahye, N. A.; Balas, F.; Sebban, M.; et al. Flexible Porous Metal-Organic Frameworks for a Controlled Drug Delivery. *Health* (San Francisco) 2008, 6774–6780.
- [27] Costa, C. A. M. da. Preparação e Caracterização de Lipossomas Encapsulando Ácido Azelaico, Bleomicina e 5-Fluorouracil Para a Aplicação Na Terapia de Melanomas. 2000.
- [28] Wu, D.; Si, M.; Xue, H. Y.; Wong, H. L. Nanomedicine Applications in the Treatment of Breast Cancer: Current State of the Art. *International Journal of Nanomedicine* **2017**, *12*, 5879–5892.
- [29] Saltão, R. Ciclodextrinas Em Novos Sistemas Terapêuticos. **2014**, No. January 2001.
- [30] Amarante, S. F.; Ramos, A. L. D.; Freire, M. A.; Mendes, D. T. S. L. Síntese e Caracterização de Redes Metalorgânicas, ZIF-8 e ZIF-67. Scientia Plena 2016, 12 (5), 1–9.
- [31] Corma, A.; García, H.; Llabrés i Xamena, F. X. Engineering Metal Organic Frameworks for Heterogeneous Catalysis. *Chemical Reviews* 2010, 110, 4606–4655.
- [32] Gerais, M.; Federal, P. U.; Gon, U. W. Estudo Teórico Da Adsorção de Gases Leves Nas Redes Metalorgânicas SIFSIX-2-Cu, SIFSIX-2-Cu-i e SIFSIX-3-Cu Estudo Teórico Da Adsorção de Gases Leves Nas Redes Metalorgânicas SIFSIX-2-Cu, SIFSIX-2-Cu-i e SIFSIX-3-Cu. 2017.
- [33] Vasconcelos, I. B.; Silva, T. G. da; Militão, G. C. G.; Soares, T. A.; Rodrigues, N. M.; Rodrigues, M. O.; Costa, N. B. da; Freire, R. O.; Junior, S. A. Cytotoxicity and Slow Release of the Anti-Cancer Drug Doxorubicin from ZIF-8. RSC Advances 2012, 2 (25), 9437.
- [34] Morgon, N. H. Computação Em Química Teórica: Informações Técnicas. Química Nova 2001, 24 (5), 676–682.
- [35] Sergipe, U. F. D. E. SEQUESTRO DE CO 2 UTILIZANDO MOF-74-I: 2016.
- [36] Jensen, F. Molecular Modelling; 2007; Vol. 90.
- [37] Boni, A. C. Preparação Do T-Butila Reação SN1.
- [38] CRAMER, C. J. Essential of Computational Chemistry. 2004, 2^a.
- [39] JENSEN, F. Introduction to Computational Chemistry. **1999**.
- [40] ALCÁCER, L. Introdução a Química Quântica Computacional. Coleção Ensino da Ciência e da Tecnologia. IST Pres. 2007, 1a. ed.
- [41] Thomas, L. H. The Calculation of Atomic Fields. Mathematical

Proceedings of the Cambridge Philosophical Society **1927**, 23 (05), 542.

- [42] FERMIR, E. "Un Metodo Statistico per La Determinazione Di Alcune Prioprietà Dell'atomo". Rendiconti Dell. Accademia Nazionale dei Lincei 1927, 6, 602–607.
- [43] DIRAC, P. A. M. Note on Exchange Phenomena in the Thomas Atom. **1930**, *v. 26*, (3), 376–385.
- [44] LIEB, E. H. Thomas-Fermi and Related Theories of Atoms and Molecules. *Reviews of Modern Physics* **1981**, *53* (4), 603–641.
- [45] SLATER, J. C.; JOHNSON, K. H. Self-Consistent-Field Xα Cluster Method for Polyatomic Molecules and Solids. *Physical Review B* **1972**, 5 (3), 844–853.
- [46] HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review* **1964**, *136*, B864–B871.
- [47] PARR, R. G.; YANG, W. Density Functional Theory of Atoms and Molecules. New York: Oxford University Press 1989.
- [48] MORGON, Nelson H; COUTINHO, K. R. Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular, 1^a edição.; Física, E. L. da, Ed.; 2007: São Paulo, 2007.
- [49] Dewar, M. J. S. A Molecular Orbital Theory of Organic Chemistry. I. General Principles. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, 74 (13), 3341–3345.
- [50] Dewar, M. J. S. A Molecular Orbital Theory of Organic Chemistry. II. 1The Structure of Mesomeric Systems. *Journal of the American Chemical Society* **1952**, *74* (13), 3345–3350.
- [51] DEWAR, M. J. S. et al. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, 13, 3902–3909.
- [52] mopac 2016 http://openmopac.net/.
- [53] Dewar, M. J. S.; Thiel, W. Ground States of Molecules. 38. The MNDO Method. Approximations and Parameters. *Journal of the American Chemical Society* **1977**, *99* (15), 4899–4907.
- [54] Dewar, M. J. S.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. Development and Use of Quantum Mechanical Molecular Models. 76. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, *107* (13), 3902–3909.
- [55] Laschuk, E. F. Novo Formalismo Semi-Empírico Para Cálculos Químico-Quânticos. 2005, 143.
- [56] Stewart, J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods I. Method. *Journal of Computational Chemistry* **1989**, *10* (2), 209–220.

- [57] Pople, J. A.; Santry, D. P.; Segal, G. A. Approximate SelfConsistent Molecular Orbital Theory. I. Invariant Procedures. *Journal of Chemical Physics* **1965**, *43* (10), S129–S135.
- [58] Stewart, J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations and Application to 70 Elements. *Journal of Molecular Modeling* **2007**, *13* (12), 1173–1213.
- [59] Freire, R. O.; Rocha, G. B.; Simas, A. M. Modeling Rare Earth Complexes: Sparkle/PM3 Parameters for Thulium(III). *Chemical Physics Letters* 2006, 425 (1–3), 138–141.
- [60] Stewart, J. J. P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods VI: More Modifications to the NDDO Approximations and Re-Optimization of Parameters. *Journal of Molecular Modeling* **2013**, *19* (1), 1–32.
- [61] Stewart, J. J. P. Application of the PM6 Method to Modeling the Solid State. *Journal of Molecular Modeling* **2008**, *14* (6), 499–535.
- [62] GERD B. ROCHA, RICARDO O. FREIRE, ALFREDO M. SIMAS, J. J. P. S. RM1: A Reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, and I. Journal of Computational Chemistry 2006, 27 (10), 1101–1111.
- [63] Siqueira., T. M. P. M. F. Química Quântica: Fundamentos e Aplicações., 2009.
- [64] GUELFI, L. R. Estudo de Adsorção Para Purificação e Separação de Misturas Na Indústria Petrolífera. Universidade Federal do Paraná, Engenharia Química, PRH-24, Curitiba - PR 2007.
- [65] VALENCIA, C. A. V. Aplicação Da Adsorção Em Carvão Ativado e Outros Materiais Carbonosos No Tratamento de Águas Contaminadas Por Pesticidas de Uso Agrícola. (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais), Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro 2007.
- [66] Deda, R.; Barancelli, F.; Branco, P. UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ESTUDO DE ADSORÇÃO DE LIPASE DE Candida Rugosa EM ESTUDO DE ADSORÇÃO DE LIPASE DE Candida Rugosa EM. 2019.
- [67] FLorêncio, de M. T. Degradação Anaeróbia de Efluente Têxtil Simulado Com Corate Azo Direct Black 22 Na Presença de Íons Sulfato Em Reator Anaeróbio de Leito Estruturado Com Fluxo Ascendente. 2018.
- [68] TREYBAL, R. E. Mass Transfer Operations. 1980, 3.
- [69] IUPAC. The PubChem Project, 2012 IUPAC International Union of Pure and Applied Chemistry. Manual of Symbols and Terminology for Physiochemical Quantities and Units – Appendix II. *Pure & Appl Chem.* **1976**, *46*, 71–90.
- [70] Langmuir, I. The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, *40* (9),

1361–1403.

- [71] Fletcher, A. J.; Thomas, K. M.; Rosseinsky, M. J. Flexibility in Metal-Organic Framework Materials: Impact on Sorption Properties. *Journal of Solid State Chemistry* **2005**, *178* (8 SPEC. ISS.), 2491–2510.
- [72] Dubbeldam, D.; Torres-Knoop, A.; Walton, K. S. On the Inner Workings of Monte Carlo Codes. *Molecular Simulation*. Taylor & Francis 2013, pp 1253–1292.
- [73] da Silva, J. A. B. Líquidos e Soluções: Aplicações Do Método de Monte Carlo e Estatística de Redes Complexas. **2010**, 220.
- [74] Brasil, R.; Bruce, Ê. D. V. Dissertação de Mestrado Simulação Computacional Da Adsorção de Metano Em Novos Materiais Metal-Orgânicos (MOFs) Ênio Dikran Vasconcelos Bruce Simulação Computacional Da Adsorção de Metano Em Novos Materiais Metal-Orgânicos (MOFs). 2011.
- [75] Atikins, P.; Paula, J. d. *Físico Química*, 9°.; 2012.
- [76] Frysali, M. G.; Klontzas, E.; Tylianakis, E.; Froudakis, G. E. Tuning the Interaction Strength and the Adsorption of CO2 in Metal Organic Frameworks by Functionalization of the Organic Linkers. *Microporous and Mesoporous Materials* **2016**, 227, 144–151.
- [77] Leite, E. S. Simulação de Redes Porosas Metal-Orgânicas Usadas No Armazenamento de Gás Natural. **2007**, 123.
- [78] Oliveira, L. T. Adsorção De H2 Em Cu-Btc: Relevância Da Geometria E Do Tamanho Do Cluster Nos. 2012, 1–8.
- [79] Dubbeldam, D.; Calero, S.; Ellis, D. E.; Snurr, R. Q. RASPA: Molecular Simulation Software for Adsorption and Diffusion in Flexible Nanoporous Materials. *Molecular Simulation* **2015**, *42*, 81–101.
- [80] Rojas, S.; Arenas-Vivo, A.; Horcajada, P. Metal-Organic Frameworks: A Novel Platform for Combined Advanced Therapies. *Coordination Chemistry Reviews* 2019, 388, 202–226.
- [81] Erucar, I.; Keskin, S. Efficient Storage of Drug and Cosmetic Molecules in Biocompatible Metal Organic Frameworks: A Molecular Simulation Study. Industrial and Engineering Chemistry Research 2016, 55 (7), 1929–1939.
- [82] The Cambridge Crystalographic Data Center https://www.ccdc.cam.ac.uk/.
- [83] Dietzel, P. D. C.; Blom, R.; Fjellvåg, H. Base-Induced Formation of Two Magnesium Metal-Organic Framework Compounds with a Bifunctional Tetratopic Ligand. *European Journal of Inorganic Chemistry* 2008, No. 23, 3624–3632.
- [84] Referencia VMD (Metodologia).Pdf.

- [85] Schaftenaar, G.; Vlieg, E.; Vriend, G. Molden 2.0: Quantum Chemistry Meets Proteins. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2017**, *31* (9), 789–800.
- [86] Horcajada, P.; Serre, C.; Vallet-Regí, M.; Sebban, M.; Taulelle, F.; Férey, G. Metal-Organic Frameworks as Efficient Materials for Drug Delivery. Angewandte Chemie - International Edition 2006, 45 (36), 5974–5978.
- [87] Bernini, M. C.; Fairen-Jimenez, D.; Pasinetti, M.; Ramirez-Pastor, A. J.; Snurr, R. Q. Screening of Bio-Compatible Metal-Organic Frameworks as Potential Drug Carriers Using Monte Carlo Simulations. *Journal of Materials Chemistry B* 2014, 2 (7), 766–774.
- [88] Raquel, F.; Lucena, S. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE, ATIVIDADE ANTITUMORAL DE 5- FLUOROURACIL INCORPORADO A REDES DE COORDENAÇÃO MULTIFUNCIONAIS. 2013.
- [89] Lin, S. X.; Pan, W. L.; Niu, R. J.; Liu, Y.; Chen, J. X.; Zhang, W. H.; Lang, J. P.; Young, D. J. Effective Loading of Cisplatin into a Nanoscale UiO-66 Metal-Organic Framework with Preformed Defects. *Dalton Transactions* **2019**, *48* (16), 5308–5314.
- [90] Torad, N. L.; Li, Y.; Ishihara, S.; Ariga, K.; Kamachi, Y.; Lian, H.-Y.; Hamoudi, H.; Sakka, Y.; Chaikittisilp, W.; Wu, K. C.-W.; et al. MOF-Derived Nanoporous Carbon as Intracellular Drug Delivery Carriers. *Chemistry Letters* **2014**, *43* (5), 717–719.
- [91] Erucar, I.; Keskin, S. Computational Investigation of Metal Organic Frameworks for Storage and Delivery of Anticancer Drugs. *Journal of Materials Chemistry B* 2017, 5 (35), 7342–7351.
- [92] Sun, C. Y.; Qin, C.; Wang, X. L.; Yang, G. S.; Shao, K. Z.; Lan, Y. Q.; Su, Z. M.; Huang, P.; Wang, C. G.; Wang, E. B. Zeolitic Imidazolate Framework-8 as Efficient PH-Sensitive Drug Delivery Vehicle. *Dalton Transactions* **2012**, *41* (23), 6906–6909.
- [93] Sun, C. Y.; Qin, C.; Wang, C. G.; Su, Z. M.; Wang, S.; Wang, X. L.; Yang, G. S.; Shao, K. Z.; Lan, Y. Q.; Wang, E. B. Chiral Nanoporous Metal-Organic Frameworks with High Porosity as Materials for Drug Delivery. *Advanced Materials* **2011**, *23* (47), 5629–5632.
- [94] Mocniak, K. A.; Kubajewska, I.; Spillane, D. E. M.; Williams, G. R.; Morris, R. E. Incorporation of Cisplatin into the Metal-Organic Frameworks UiO66-NH2 and UiO66-Encapsulation vs. Conjugation. *RSC Advances* 2015, 5 (102), 83648–83656.
- [95] Fanfrlík, J.; Pecina, A.; Řezáč, J.; Sedlak, R.; Hnyk, D.; Lepšík, M.; Hobza, P. B-H···π: A Nonclassical Hydrogen Bond or Dispersion Contact? *Physical Chemistry Chemical Physics* **2017**, *19* (28), 18194–18200.
- [96] Řezáč, J.; Hobza, P. Advanced Corrections of Hydrogen Bonding and Dispersion for Semiempirical Quantum Mechanical Methods. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2012**, 8 (1), 141–151.

[97] Sci, C.; Martinez, C. R.; Iverson, B. L. Chemical Science. **2012**, 2191–2201.