

Uso de métodos quimiométricos e mecânico-quanticos na análise de terpenóides e fenilpropanóides bioativos contra o *Aedes aegypti*

Reginaldo Bezerra dos Santos*, Valdemar Lacerda Júnior, Eustáquio Vinicius Ribeiro de Castro, Vinicius de Oliveira Balthar e Sandro José Greco

Departamento de Química, Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo, Av. Fernando Ferrari 514, 29075-910 – Vitória – ES, Brasil.

Recebido em 02/12/2009; revisado em 19/12/2009; aceito em 30/12/2009. Disponível na internet: 12/01/2010

RESUMO: O dengue é um dos principais problemas de saúde pública no mundo. Muitos mosquitos já apresentam resistência aos inseticidas convencionais utilizados. Assim, tem-se aumentada a procura por extratos vegetais e substâncias naturais como inseticidas alternativos. Neste trabalho, métodos quimiométricos foram empregados para classificar um conjunto de compostos terpenóides e fenilpropanóides com atividade biológica contra as larvas do mosquito *A. aegypti*. O método AM1 (Austin Model 1) foi utilizado para calcular um conjunto de descritores moleculares (propriedades) para os compostos em estudo. A seguir, os descritores foram analisados utilizando os seguintes métodos de reconhecimento de padrões: Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA). Os métodos PCA e HCA mostraram-se bastante eficientes para classificação dos compostos estudados em dois grupos (ativos e inativos). As variáveis eletrônicas E_{HOMO-1} , E_{HOMO-2} , E_{LUMO} , E_{LUMO+2} e a estrutural LogP foram responsáveis pela separação entre os compostos ativos e inativos. Na maioria dos compostos estudados, as variáveis responsáveis pela separação entre compostos ativos e inativos foram descritores eletrônicos, podendo-se concluir que efeitos eletrônicos desempenham papel fundamental na interação entre receptor biológico e compostos terpenóides e fenilpropanóides com atividade contra as larvas do mosquito *A. aegypti*.

Palavras-chave: terpenos, dengue, AM1, quimiometria, PCA

* Corresponding author. E-mail: belo.ufes@gmail.com

Introdução

O dengue é uma doença reemergente que vem preocupando as autoridades sanitárias de todo o mundo em virtude de sua circulação nos cinco continentes e pelo grande potencial para assumir formas graves e letais. O vírus do dengue é um arbovírus do gênero *Flavivirus*; é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o *Aedes aegypti* seu principal vetor. São conhecidos quatro sorotipos do vírus [1- 4].

Como ainda não existem vacinas disponíveis contra os diferentes sorotipos da doença, o principal meio de controle do dengue baseia-se no combate ao *Aedes aegypti*, por meio do saneamento do meio ambiente, eliminação dos focos de procriação do vetor e proteção individual contra picadas. As ações de combate podem ser focadas nos mosquitos imaturos (formas aquáticas), por meio do controle físico, controle químico e controle biológico, ou nos mosquitos adultos, por meio de inseticidas, repelentes e barreiras mecânicas, ou ainda em ambos [3, 5].

O controle do vetor utilizando inseticidas sintéticos constitui a principal medida adotada pelos programas de saúde pública [4]. O uso contínuo desses inseticidas tem se mostrado eficaz no processo de erradicação, mas não obstante tem conduzido cada vez mais ao desenvolvimento de larvas e adultos resistentes; o odor do produto é desagradável e o princípio ativo costuma ser danoso às pessoas que sofrem de problemas alérgicos e respiratórios [5, 6].

A resistência aos inseticidas convencionais surge hoje como um dos principais obstáculos ao controle de insetos de importância na agricultura e na medicina. Dados da Organização Mundial de Saúde revelam que o custo da resistência de insetos a inseticidas pode alcançar anualmente 1,4 bilhões de dólares nos Estados Unidos [7].

A procura por metodologias naturais e menos agressivas aos seres humanos tem crescido consideravelmente nos últimos anos. Uma alternativa ao controle químico convencional é a utilização de extratos vegetais e substâncias naturais efetivas no controle do mosquito adulto e/ou da larva do *Aedes aegypti* e que sejam isentas de toxicidade para o meio ambiente [8].

Muitos dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas são usados pelas mesmas contra microrganismos e insetos predadores, o que as torna potenciais candidatas para a descoberta de novos produtos contra o *Aedes aegypti*. Como exemplo tem-se a ação repelente dos óleos essenciais de casca de laranja [9], tomilho e cravo [10] e substâncias como eugenol, cineol e citronelal [11]. Estudos com *Lippia sidoides* (alecrim pimenta) [12] e *Cymbopogon citratus* (capim limão) [4] sugerem que seus óleos essenciais possuem ação larvicida contra o *Aedes aegypti*.

Plantas, como organismos que co-evoluem com insetos e outros microrganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico [13]. As plantas sintetizam e liberam inúmeras substâncias voláteis para atrair polinizadores e se defender de patógenos. Terpenos e fenilpropanóides, principais constituintes dos óleos essenciais [14], sintetizados por espécies vegetais podem ter, dependendo do inseto em análise, propriedades atrativas (alimentação, polinização) e/ou repelentes e inseticidas.

Nos últimos anos, óleos essenciais obtidos de plantas têm sido considerados fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas [15]. Ênfase tem sido dada às propriedades antimicrobiana, antitumoral, larvicida, repelência e inseticida de compostos voláteis.

Com relação ao controle do mosquito vetor do dengue, os esforços têm se concentrado no combate às larvas do *Aedes aegypti*. Trabalhos relatados na literatura mostraram que alguns óleos essenciais apresentaram expressivas atividades larvicidas contra espécies de mosquitos como *Culex quinquefasciatus* [16, 17] e *Aedes aegypti* [4, 12, 18, 19].

Os monoterpenos e os fenilpropanóides, compostos encontrados abundantemente nos óleos essenciais e, tipicamente lipofílicos, apresentam alto potencial para interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, com consequências, fisiológicas em larvas e comportamentais em insetos [14, 20].

Os óleos essenciais são larvicidas e inseticidas de ação rápida, indicativa de modo de ação neurotóxica, com evidências de interferência no neuromodulador octopamina ou em canais de cálcio. A octopamina é semelhante à noradrenalina, agindo como um neuormônio, neuromodulador e neurotransmissor [21]. Podem, também, apresentar ação larvicida e inseticida em função da inibição da enzima acetilcolinesterase [22] além da inibição do citocromo P450 monoxigenase-dependente e ação no sistema nervoso octopaminérgico [23].

Todos esses mecanismos de ação ainda não são completamente compreendidos e determinados sendo que, estudos que proporcionam uma melhor elucidação da relação estrutura-atividade se fazem necessário. O estudo de propriedades físico-químicas utilizando a química quântica é importante para prever o comportamento químico de moléculas e, conseqüentemente, a sua atividade biológica em diversas situações de reatividade.

Os métodos quânticos semi-empíricos são baseados no mesmo formalismo dos métodos *ab initio*, mas parte de seus parâmetros são ajustados a dados

experimentais. A parametrização dos métodos semi-empíricos com dados experimentais aumentou significativamente a acuracidade química e a velocidade dos métodos de orbitais moleculares. O sucesso desta abordagem é indicado por inúmeros estudos, cujos resultados de cálculos de energia produzem variações na faixa de 1,0 kcal.mol⁻¹ em relação aos dados experimentais. Os métodos semi-empíricos mais recentes são AM1 (*Austin Model 1*) [24] e PM3 (*Parametric Method 3*) [25] contidos em diversos pacotes de cálculos teóricos.

O método quântico semi-empírico AM1 (*Austin Model 1*) foi utilizado para calcular um conjunto de descritores moleculares para os compostos em estudo. Em seguida, os descritores foram analisados utilizando os métodos de reconhecimento padrão: Análise de Componentes Principais (PCA) [26] e Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA) [27].

Análise por Componentes Principais (PCA)

Esta técnica tem por objetivo a redução da dimensão dos dados originais facilitando a visualização das informações mais importantes em um número menor de componentes principais ou fatores.

Na PCA as coordenadas das amostras são reescritas num novo sistema de eixos (componentes principais), mais convenientes à análise dos dados. Neste novo sistema de eixos, cada componente principal é gerada a partir da combinação linear das *m*-variáveis originais, onde os componentes principais são ortogonais.

As combinações lineares das *m*-variáveis originais que dão origem a cada componente principal podem ser representadas por:

$$CP_i = a_{i1}V_1 + a_{i2}V_2 + \dots + a_{im}V_m$$

Onde:

V_m = variáveis originais $m = 1, 2, \dots, m$

a_{im} = *loading* ou peso, coeficiente que mede a importância de cada variável na *i*-ésima componente principal (PC_i).

Os *loadings* são o cosseno do ângulo entre o eixo da componente principal e o eixo da variável original. Logo, o seu valor estará entre -1 e 1. Quanto mais próximo de ± 1 , maior a influência que esta determinada variável tem na descrição deste componente principal. Os *loadings* são capazes de determinar quais variáveis originais possuem maior contribuição na combinação linear de cada componente principal.

Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA)

É o segundo método de análise exploratória, também chamada de técnica não supervisionada de reconhecimento de padrões. É uma técnica que tem como objetivo analisar a formação de agrupamentos naturais das amostras, com base nas suas similaridades. O primeiro passo é selecionar uma medida de similaridade. Em seguida, deve-se decidir o tipo de agrupamento hierárquico que será empregado e, finalmente, deve-se escolher o critério de ligação (*linkage*) entre os agrupamentos.

O agrupamento hierárquico mais comum é o aglomerativo, que funciona através de uma série de fusões. Inicialmente, todos os objetos estão separados e cada um é um pequeno grupo. A seguir, os dois objetos mais próximos (mais semelhantes) são unidos para formar um grupo de dois objetos. Se existe mais de um objeto com o mesmo grau de similaridade, o agrupamento é feito aleatoriamente. A união dos grupos (com um ou mais objetos) é feita sucessivamente até que todos os objetos estejam em um único grupo. Quando os grupos apresentam mais de um objeto, diferentes critérios de união podem ser usados.

O resultado de um agrupamento hierárquico é representado normalmente através de um gráfico bidimensional denominado dendrograma, onde é possível observar as correlações e similaridades entre as amostras.

A similaridade entre as amostras é avaliada medindo-se as distâncias entre os pares de amostras e colocando num mesmo agrupamento aquelas amostras com menores distâncias entre si. Em seguida, a distância entre esses pequenos agrupamentos é medida e são estabelecidos novos agrupamentos, assim por diante até que todas as amostras tenham sido enquadradas em algum grupo. Esse tipo de agrupamento permite observar os diferentes graus de similaridade entre as amostras, pois o agrupamento é feito de cada amostra individual em direção a um conjunto total.

Recentemente foi relatado na literatura [28] o estudo do fracionamento do extrato hexânico de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho), realizando em seguida, a partir destas frações, ensaio biológico larvicida (larvas de terceiro estágio de *A. aegypti*) para se determinar a(s) substância(s) ativa(s) contra a larva do mosquito transmissor do dengue. Os pesquisadores, além disso, para efeito de comparação, estudaram a atividade larvicida de vários terpenos e fenilpropanóides, constituintes de óleos essenciais abundantes encontrados em plantas brasileiras.

Baseado nos resultados de atividade biológica reportados pelos pesquisadores [28], o presente trabalho tem como objetivo estudar a relação estrutura-atividade de todas as substâncias ensaiadas, utilizando a Química Quântica e a Quimiometria.

Material e Métodos

Os descritores moleculares foram obtidos a partir de cálculos de Mecânica Molecular (MM+) [29] e Métodos Quânticos Semi-Empíricos AM1 [25], contidos nos pacotes de programas HyperChem 6.01 [30] e WinMopac 7.21 [31]. As propriedades calculadas foram correlacionadas com a atividade larvicida previamente conhecida a partir de dados da literatura [28].

Os descritores responsáveis pela atividade dos compostos foram separados por métodos quimiométricos. Os métodos utilizados foram a Análise por Componentes Principais (PCA) e Análise por Agrupamentos Hierárquicos (HCA), contidos no programa MINITAB 14[®] [32].

Resultados e Discussão

Pré-Modelagem das Moléculas Utilizando o Método Mecânica Molecular

As moléculas que apresentam atividade larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti*, e as que não apresentam esta atividade [28] foram pré-otimizadas através de cálculos de Mecânica Molecular (MM+), contidos no pacote de programas HyperChem 6.01, com gradiente de convergência de 5×10^{-4} Kcal/mol. Com isso, foram obtidas as melhores conformações para essas moléculas, as quais foram posteriormente estudadas através de cálculos quânticos semi-empíricos. As moléculas estudadas estão mostradas na Figura 1.

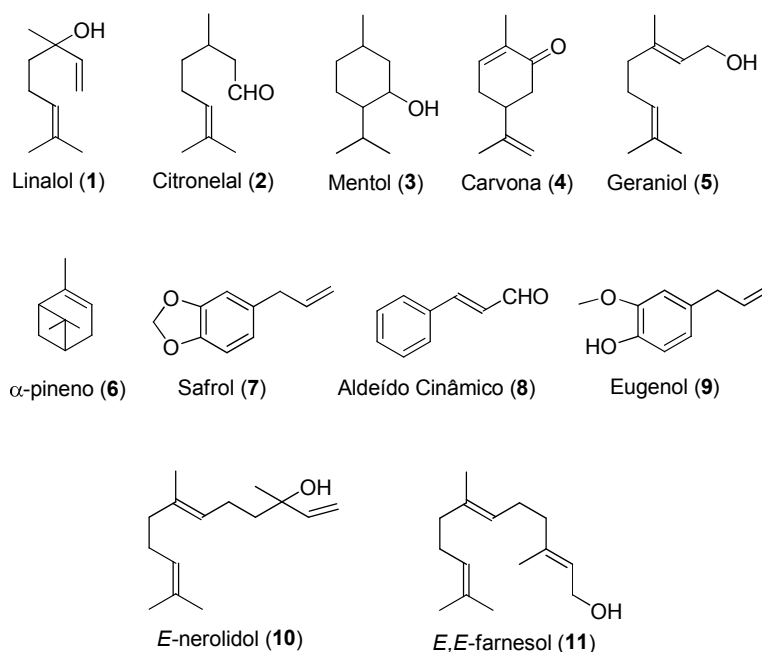


Figura 1. Estruturas das moléculas estudadas.

Obtenção dos Descritores Moleculares

As conformações moleculares das substâncias foram obtidas a partir dos cálculos de Mecânica Molecular, contidos do pacote de programas HyperChem 6.01, e foram aproveitadas como matrizes iniciais para a otimização das moléculas a partir de cálculos quânticos semi-empíricos AM1, contidos no pacote WinMopac 7.21.

As diversas aproximações semi-empíricas permitem evitar o cálculo de um grande número de integrais, o que possibilita a aplicação destes métodos em sistemas com um número maior de átomos. Nestes métodos, os núcleos são assumidos em sucessivas posições estacionárias, sobre as quais a distribuição espacial ótima dos elétrons é calculada pela resolução da equação de Schrödinger. O processo é repetido até que a energia não mais varie dentro de um limite escolhido, ou seja, até se alcançar um ponto estacionário de superfície de energia. Em um sistema no estado fundamental, isto significa que a geometria é tal que o calor de formação (ΔH_f) é um mínimo irreduzível (na verdade um mínimo irreduzível local), ou seja, todas as suas constantes de força são positivas; para estados de transição, o sistema deve ter exatamente uma constante de força negativa.

Propriedades moleculares de compostos químicos são geralmente correlacionadas com atividade biológica. Essa correlação é conhecida como *Relação Estrutura-Atividade* (SAR) e vários estudos têm sido reportados na literatura [33]. O método SAR tem sido usado com sucesso em aplicações farmacêuticas, e no presente trabalho foram calculadas as seguintes propriedades moleculares para serem correlacionadas com a atividade biológica em estudo: logP (propriedade relacionada com a lipofilicidade das substâncias): os valores desta propriedade foram obtidos a partir de parâmetros hidrofóbicos, usando o pacote de programas HyperChem 6.01; área superficial molecular, volume, energia de hidratação, refratividade e polarizabilidade também foram obtidas a partir de cálculos AM1 com o pacote de programas HyperChem 6.01. As demais propriedades eletrônicas (Energia Eletrônica, Energia Total, Momento de Dipolo, E_{HOMO} , E_{HOMO-1} , E_{HOMO-2} , E_{HOMO-3} , E_{LUMO} , E_{LUMO+1} , E_{LUMO+2} , E_{LUMO+3}) e os calores de formação foram obtidos a partir de cálculos AM1 com o pacote de programas WinMopac 7.21.

Em trabalho anterior [29], foi relatada a atividade larvicida para os compostos em estudo em *A. aegypti*. Foram determinadas as concentrações letais 50% (CL_{50}) e 99% (CL_{99}) a partir de ensaios biológicos segundo metodologia preconizada pela OMS (Tabela 1). Essas são as concentrações responsáveis pela erradicação de 50 e 99% das larvas presentes. Os valores de CL_{50} foram utilizados como base para a separação dos compostos em dois grupos: ativos e inativos.

Tabela 1. Susceptibilidade de larvas de terceiro estágio de *A. aegypti* a monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides

Substâncias	CL ₅₀ (ppm)	CL ₉₉ (ppm)
Linalol* (1)	> 100	(-)
Citronelal* (2)	> 100	(-)
Mentol* (3)	> 100	(-)
Carvona* (4)	43.8 (39.0 – 48.3)	131.5 (101.5 – 214.0)
Geraniol* (5)	81.6 (77.5 – 86.7)	122.0 (111.6 – 139.0)
α-Pineno* (6)	74.3 (68.7 – 81.7)	168.1 (133.0 – 268.0)
Safrol** (7)	49.0 (47.5 – 50.2)	63.8 (59.7 – 73.2)
Aldeído Cinâmico** (8)	24.4 (22.4 – 26.5)	54.7 (45.1 – 76.8)
Eugenol** (9)	44.5 (40.8 – 48.0)	100.0 (83.0 – 139.0)
Nerolidol*** (10)	17.0 (15.2 – 19.0)	50.0 (37.3 – 84.8)
Farnesol*** (11)	13.0 (12.0 – 14.1)	32.5 (25.5 – 52.5)

* monoterpeno, ** fenilpropanóide, *** sesquiterpeno

Os parâmetros obtidos estão mostrados na Tabela 2 a seguir.

Antes de aplicar os métodos de reconhecimento padrão aos 11 compostos em estudo, foram verificadas as correlações entre as variáveis, segundo 4 critérios:

- I – Correlação entre as variáveis calculadas para o composto **1** e do **4** ao **11**;
- II - Correlação entre as variáveis calculadas para o composto **2** e do **4** ao **11**;
- III - Correlação entre as variáveis calculadas para o composto **3** e do **4** ao **11**;
- IV - Correlação entre as variáveis calculadas para todos os compostos.

Isto se deve ao fato de as atividades dos compostos **1**, **2** e **3** não serem exatamente conhecidas. O que se sabe é que a CL₅₀ ultrapassa a faixa de 100 ppm para os três compostos. A melhor separação foi obtida utilizando-se os dados em I, ou seja, comparando-se as propriedades do composto inativo **1**, com os compostos **4** ao **11**.

Após análises dos dados por Peso de Fischer e Correlação entre as variáveis, a melhor separação dos compostos foi obtida utilizando-se as seguintes variáveis:

Tabela 2. Parâmetros obtidos a partir de cálculos quânticos semi-empíricos AM1

Composto	Atividade (CL ₅₀ – ppm)	HOMO (EV)	HOMO – 1 (EV)	HOMO – 2 (EV)	HOMO – 3 (EV)	LUMO (EV)	LUMO + 1 (EV)	LUMO + 2 (EV)	LUMO +3 (EV)	M.D. (D)
1	>100.00	-9.16	-10.05	-11.24	-11.31	1.26	1.33	3.34	3.55	1.41
2	>100.00	-9.39	-10.53	-11.47	-11.72	0.90	1.06	3.20	3.34	3.05
3	>100.00	-10.54	-10.75	-11.01	-11.19	3.34	3.58	3.69	3.75	1.40
4	43.80	-9.86	-10.04	-10.38	-11.79	-0.01	0.99	1.78	3.05	3.21
5	81.60	-9.31	-9.69	-10.91	-11.53	0.92	1.16	3.60	3.70	1.72
6	74.30	-9.12	-10.47	-10.89	-10.98	1.18	3.36	3.63	3.69	0.08
7	49.00	-8.86	-9.73	-10.18	-11.44	0.19	0.28	1.23	1.85	0.60
8	24.40	-9.34	-9.98	-10.66	-11.45	-0.72	0.28	0.74	1.96	3.04
9	44.50	-8.67	-9.47	-10.10	-11.48	0.35	0.46	1.33	2.62	1.73
10	17.00	-9.22	-9.26	-10.27	-10.94	1.15	1.20	1.29	3.35	1.41
11	13.00	-9.22	-9.34	-9.67	-11.10	0.89	1.18	1.20	3.56	1.75

Tabela 2. Continuação

Composto	Calor de Formação (Kcal/mol)	E.TOTAL (EV)	E.ELET (EV)	SURF. AREA APROX (Å²)	SURF. AREA GRID (Å²)	VOLUME (Å³)	E. HID. Kcal/mol	Log P	REFRAT. (Å³)	POLAR. (Å³)
1	-47.56	-1848.81	-10389.64	381.92	364.74	591.27	-2.18	2.52	50.21	19.38
2	-64.39	-1849.54	-10081.16	421.34	379.61	604.11	12.61	2.25	49.30	19.02
3	-97.86	-1878.31	-11368.48	359.36	369.64	588.89	-0.21	2.78	47.44	18.99
4	-27.95	-1793.34	-9606.66	343.60	352.38	549.07	0.73	2.55	47.17	18.05
5	-59.29	-1849.32	-10122.22	401.06	379.20	606.63	-2.64	2.46	51.18	19.38
6	16.79	-1500.03	-8892.57	303.07	334.99	519.86	2.49	2.80	44.72	17.38
7	-25.53	-2057.29	-10240.14	296.27	351.72	534.82	-5.70	2.78	46.11	18.08
8	5.50	-1581.72	-6990.81	304.58	316.74	474.18	13.39	1.74	42.13	15.83
9	-46.07	-2085.49	-10624.97	338.53	369.63	567.72	-7.68	2.55	48.50	18.86
10	-53.71	-2599.45	-17139.26	536.85	499.72	838.82	-1.22	4.00	74.01	28.36
11	-64.79	-2599.93	-17319.49	524.95	486.05	826.07	-3.07	3.94	74.98	28.36

$E_{\text{HOMO-1}}$, $E_{\text{HOMO-2}}$, E_{LUMO} , $E_{\text{LUMO+2}}$, LogP (parâmetro lipofílico). Os valores encontrados para estas variáveis estão apresentados na Tabela 2. Isto sugere que as demais variáveis calculadas não são significantes para a classificação dos compostos em ativos e inativos frente a larvas do mosquito *A. aegypti*.

Os resultados da Análise por Componentes Principais (PCA) mostram que a primeira componente (PC1) é responsável por 54,19% da variância dos dados. Considerando a primeira (PC1), a segunda (PC2) e a terceira (PC3) componentes, a variância acumulada alcança 97,00 %, como mostrado na Figura 2.

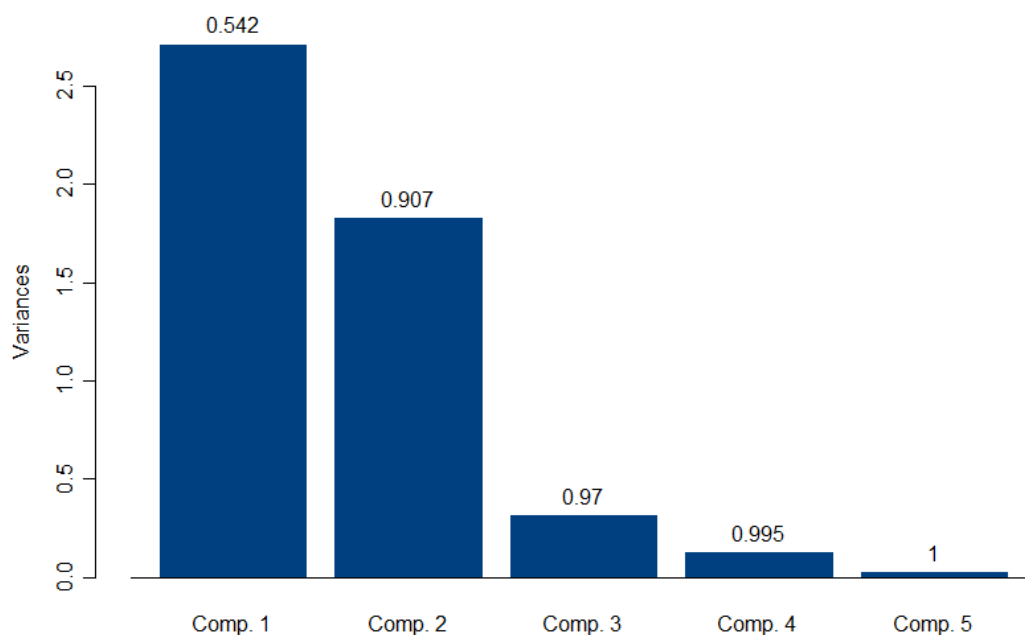


Figura 2. Importância relativa das componentes principais.

A Figura 3 (PC1 x PC2) mostra que a PC1 é fator responsável para a discriminação entre os compostos ativos (**4**, **7**, **8**, **9**, **10** e **11**) e inativos (**1**, **5** e **6**) sobre *A. aegypti*, quando utilizamos as variáveis $E_{\text{HOMO-1}}$, $E_{\text{HOMO-2}}$, E_{LUMO} , $E_{\text{LUMO+2}}$ e LogP para obter a separação. A partir da Figura 3 podemos ver também que os compostos ativos apresentam valores de *scores* positivos para PC1, enquanto que os compostos inativos apresentam valores negativos.

A equação (1) apresenta os valores de *loading* (influência na componente principal) de cada variável em PC1, a qual é responsável pela discriminação entre os compostos ativos e inativos.

$$PC1 = 0.521 [E_{\text{HOMO-1}}] + 0.570 [E_{\text{HOMO-2}}] - 0.493 [E_{\text{LUMO+2}}] + 0.388 [\text{LogP}] \quad (1)$$

A equação (2) apresenta os valores *loading* de cada variável em PC2:

$$PC2 = -0.164 [E_{\text{HOMO-1}}] - 0.727 [E_{\text{LUMO}}] - 0.396 [E_{\text{LUMO+2}}] - 0.534 [\text{LogP}] \quad (2)$$

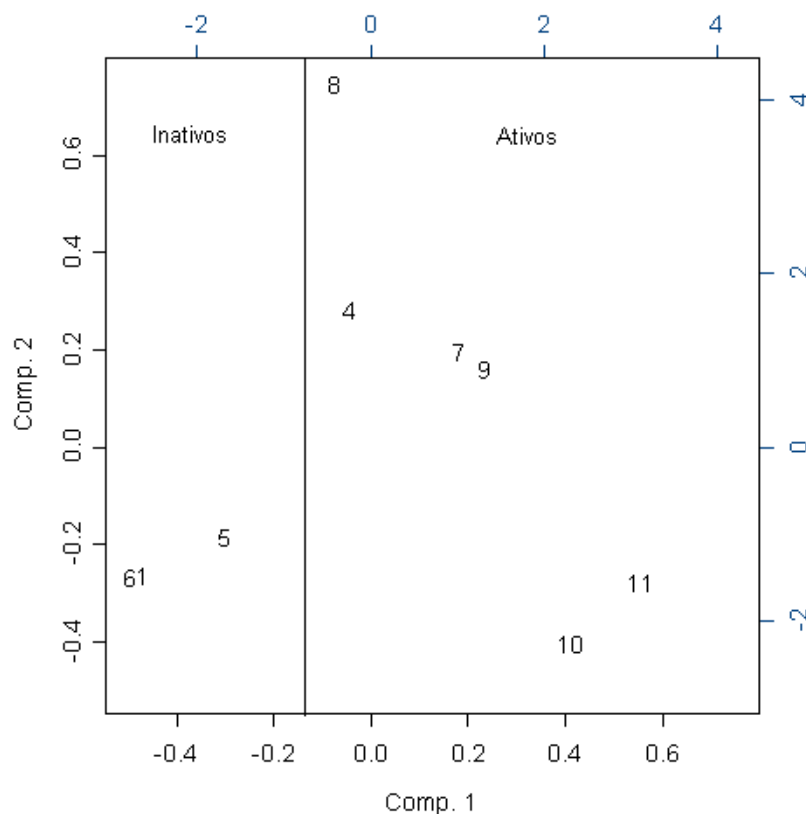


Figura 3. Separação dos compostos em dois grupos pelo método PCA: compostos ativos e inativos.

A partir da equação (1) podemos observar que para um composto ser classificado como ativo é necessário que este apresente os menores valores, em módulo, para a energia do HOMO-1, uma vez que todos são negativos. O mesmo é válido para a energia do HOMO-2. É necessário também que apresente valores altos e negativos para a energia do LUMO +2 e valores altos e positivos para o parâmetro lipofílico.

Isto é interessante porque podemos observar que as variáveis responsáveis pela separação dos compostos em ativos e inativos são propriedades eletrônicas ($E_{\text{HOMO-1}}$, $E_{\text{HOMO-2}}$, E_{LUMO} , $E_{\text{LUMO+2}}$) e apenas uma é estrutural (LogP). Com isso, podemos concluir que os efeitos eletrônicos mostrados, bem como a lipofilicidade, são de extrema importância para a determinação da atividade larvicida de compostos sobre larvas do mosquito *A. aegypti*.

As energias dos orbitais de fronteira são propriedades importantes em Química Farmacológica. A razão para isto está no fato de que estas propriedades nos fornecem informações a respeito do caráter doador e receptor de elétrons. A energia do orbital molecular de mais alta energia ocupado (HOMO) mostra o caráter doador de elétron e a energia do orbital molecular de mais baixa energia não-ocupado (LUMO) mostra o

caráter receptor de elétron. A partir destas definições, temos que: (1): altos valores para E_{HOMO} representam alta capacidade doadora de elétron e (2): baixos valores para E_{LUMO} representam baixa resistência à recepção de elétrons. Para os compostos ativos estudados, quando comparados aos inativos, menores valores para E_{LUMO} , o que mostra que os compostos ativos são receptores de elétrons mais eficientes que os inativos, o que nos sugere um possível mecanismo de transferência de cargas com o receptor biológico.

Os resultados obtidos a partir do HCA estão abrigados no dendrograma mostrado na Figura 4. A partir desse dendrograma, podemos classificar os compostos em dois grupos: compostos ativos (A), e inativos (B). Além disso, podemos observar a similaridade entre os compostos **11** e **12**, de maior atividade frente a larvas do mosquito *A. aegypti*, e a menor atividade do composto **1**.

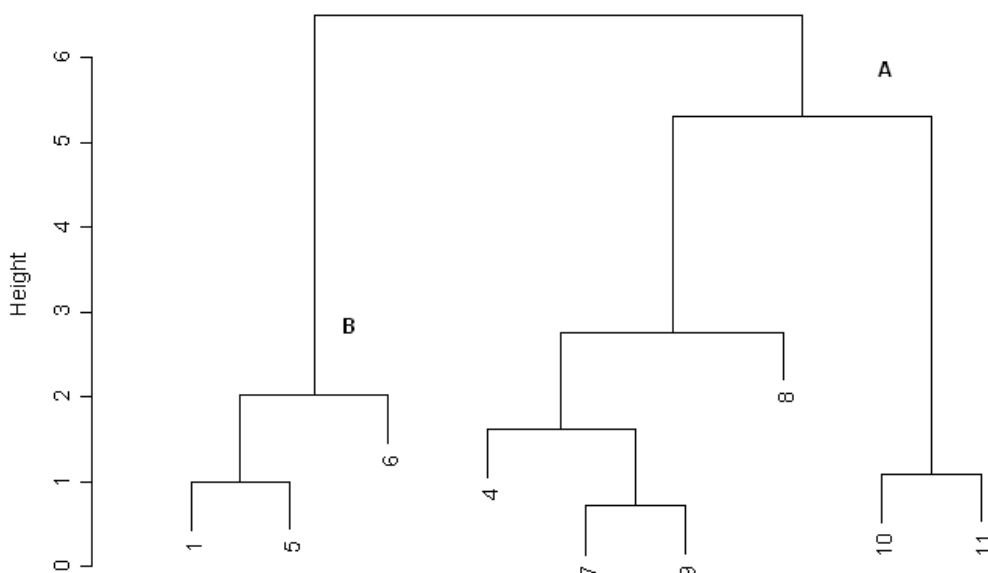


Figura 4. Dendrograma obtido com o método HCA, mostrando a separação dos compostos em dois grupos: A (compostos ativos) e B (compostos inativos).

Os métodos HCA e PCA são complementares e para os compostos estudados neste trabalho, foram bastante similares, classificando os compostos exatamente como esperado.

Conclusão

Os métodos de reconhecimento padrão (HCA e PCA) foram aplicados sobre os compostos com atividade larvicida sobre *A. aegypti* e mostraram que os compostos estudados neste trabalho puderam ser corretamente classificados em dois grupos:

moléculas ativas e inativas.

As variáveis eletrônicas $E_{\text{HOMO-1}}$, $E_{\text{HOMO-2}}$, E_{LUMO} , $E_{\text{LUMO+2}}$ e a estrutural LogP, segundo os resultados de PCA são responsáveis pela separação entre compostos ativos e inativos. Os resultados obtidos a partir do HCA foram bastante similares àqueles obtidos por PCA, e ambos os métodos classificaram os compostos exatamente como esperado a partir dos dados experimentais.

A análise dos dados obtidos com os métodos quimiométricos (PCA e HCA), permitiu concluir que na maioria dos compostos, as variáveis eletrônicas são as responsáveis pela separação entre compostos ativos e inativos. Portanto, podemos concluir que os efeitos eletrônicos mostrados são de suma importância na separação dos compostos estudados quanto à atividade frente a larvas do mosquito *A. aegypti*.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Espírito Santo (FAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) e ao LabPetro-DQUI/UFES pelo suporte financeiro.

ABSTRACT

Use of chemometric and quantum-mechanical methods in the analysis of bioactive terpenoids and phenylpropanoids against the *Aedes aegypti*

Dengue fever is one of the main public health problems in the world. Many mosquitoes have developed resistance to the conventional insecticides used. Thus, the search for vegetable extracts and natural substances as alternative insecticides has increased. In this study, chemometric methods were employed to classify a group of terpenoid and phenylpropanoid compounds with biological activity against the larval of the A. aegypti mosquitoes. The AM1 (Austin Model 1) method was used to calculate a set of molecular descriptors (properties) for the studied compounds. Then, the descriptors were analyzed using the following methods of pattern recognition: Principal Component Analysis (PCA) and Hierarchical Clustering Analysis (HCA). The PCA and HCA methods have shown to be very effective for the classification of the study compounds in two groups (active and inactive). The electronic variables $E_{\text{HOMO-1}}$, $E_{\text{HOMO-2}}$, E_{LUMO} , $E_{\text{LUMO+2}}$, and the structural LogP were used to classify as active and inactive compounds. In most studied compounds, the variables responsible for separating active from inactive

compounds were electronic descriptors. Thus, it can be concluded that electronic effects play a fundamental role in the interaction between biological receptor and terpenoid and phenylpropanoid compounds with activity against larval *A. aegypti* mosquitoes.

Keywords: terpenes, dengue, AM1, chemometric, PCA

Referências e Notas

- [1] Ventura, J. A.; Batista, M. G. *Controle integrado de mosquitos e borrachudos*. In: SEEA. Curso de controle de vetores e pragas urbanas. Vitória-ES, 1998.
- [2] Souto Júnior, J. V., Ribeiro, M. A. A. *O que é dengue?* Ministério da Saúde, Convênio MS/Fundep – UFMG, 2000.
- [3] Marcondes, C. B.; *Entomologia médica e veterinária*, São Paulo: Atheneu, 2001.
- [4] Furtado, R. F.; Lima, M. G. A.; Andrade Neto, M.; Bezerra, J. N. S.; Silva, M. G. V. *Neotrop. Entomol.* **2005**, 34, 843.
- [5] Arruda, W.; Oliveira, G. M. C.; Silva, I. G. *Entomol. Vectores* **2003**, 10, 47.
- [6] Albuquerque, M. R. J. R.; Silveira, E. R.; Uchoa, D. E. A.; Lemos, T. L. G.; Souza, E. B.; Santiago, G. M. P.; Pessoa, O. D. L. *J. Agr. Food. Chem.* **2004**, 52, 6708.
- [7] Hemingway, J.; Ranson, H. *Annu. Rev. Entomol.* **2000**, 45, 371.
- [8] Macoris, M. L. G.; Camargo, M. F.; Silva, I. G.; Takaku, L.; Andrighetti, M. T. *Rev. Pat. Trop.* **1995**, 24, 31.
- [9] Ezeonu, F. C.; Chidume, G. I.; Udedi, S. C. *Biores. Technol.* **2001**, 76, 273.
- [10] Bernard, D. R. *J. Med. Entomol.* **1999**, 36, 625.
- [11] Hummlbrunner, L. A.; Isman, M. B. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 715.
- [12] Carvalho A. F.; Melo V. M.; Craveiro, A. A.; Machado, M. I.; Bantim, M. B.; Rabelo, E. F. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2003**, 98, 569.
- [13] Pichersky, E.; Gershenzon, J. *Current Opinion in Plant Biology* **2002**, 5, 237.
- [14] Isman, M. B. *Crop Protection* **2000**, 19, 603.
- [15] Alcaraz, M. J.; Rios, J. L.; *Ecological chemistry and biochemistry of plant*, Oxford: Clarendon Press, 1991.
- [16] Ibrahim, M. T.; Fobbe, R.; Nolte, J. *Bulletin of the Faculty of Pharmacy* **2004**, 42, 289.
- [17] Mohsen, Z. H.; Al-Chalabi, B. M.; Kassir, J. T. *J. Appl. Entomol.* **1989**, 108, 107.
- [18] Cheng, S. S.; Chang, H. T.; Chang, S. T.; Tsai, K. H.; Chen, W. J. *Biores. Technol.* **2003**, 89, 99.
- [19] Cheng, S. S.; Chua, M. T.; Tsai, K. H.; Chen, W. J.; Chang, S. T. *Int. Forest Ver.* **2005**, 7, 389.
- [20] Prates, H. T.; Santos, J. P. In: *Armazenagem de grãos*. Lorini, I.; Miike, L. I.; Scussel, V. M., orgs. Campinas: IBG, 2002.
- [21] Corrêa, A. G.; Vieira, P. C. *Produtos naturais no controle de insetos*, 2ª. ed. São Paulo: EdUFSCar, 2007.
- [22] Viegas Junior, C. *Quím. Nova* **2003**, 26, 390.

- [23] Oliveira, A. C. A. X.; Pinto, L. F. R.; Paumgartten, F. J. R. *Toxicology Letters* **1997**, 92, 39.
- [24] Dewar, M. J.; Zoebisch, E. G.; Healy, E. F.; Stewart, J. J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 3902.
- [25] Stewart, J. J. P. *J. Comp. Chem.* **1989**, 10, 209.
- [26] Jolliffe, I. T. *Principal Component Analysis*, New York: Springer-Verlag, 1986.
- [27] Johnson, R. A.; Wichern, D.W. *Applied Multivariate Statistical Analysis*, New Jersey: Prentice-Hall, 1992.
- [28] Lima, E. C.; Simas, N. K.; Kuster, R. M.; Oliveira Filho, A. M.; Lage, C. L. S.; Conceição, S. R. *Quím. Nova* **2004**, 27, 46.
- [29] Hocquet, A.; Langgard, M. *J. Mol. Model.* **1998**, 4, 94.
- [30] HiperChem 6.01 (HyperCube, Inc.), 2000.
- [31] WinMopac 7.21, Shchepin, R.; Litvinov, D., 2000.
http://www.psu.ru/science/soft/winmopac/index_e.html
- [32] Minitab® Statistical Software, Release 14, Minitab Inc., 2003, State College, Pennsylvania.
- [33] Camargo, A. J.; Honório, K. M.; Mercadante, M.; Molfetta, F. A.; Alves, C. N.; Silva, A. B. F. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14, 809.