

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia

Análise conformacional de derivados  
*N*-acilidrazona em solvente aquoso

Clóvis Woicickoski Júnior

Porto Alegre, Julho de 2008.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia

## Análise conformacional de derivados *N*-acilidrazona em solvente aquoso

Trabalho de Conclusão da Disciplina  
de Estágio Curricular em Farmácia  
apresentado por Clóvis Woicickoski  
Júnior

Orientador:

Prof. Dr. Hugo Verli

Porto Alegre, Julho de 2008.

Agradeço a Deus, que me carregou em seus braços, permitindo que o fardo sobre meus ombros fosse muito mais leve.

Agradeço à minha mãe, Matilde, que sempre me incentivou a continuar estudando, progredindo e sempre acreditou que a melhor herança é a formação acadêmica. Sem seu apoio eu não seria nada. Tudo o que sou devo a esta valorosa mulher. Newton disse “sou grande por que me apoiei nos ombros de gigantes”. Fazendo um paralelo, posso considerar minha mãe como a gigante que sempre ofereceu seus ombros para que eu me apoiasse.

Agradeço a meu pai, Clóvis, e minha irmã, Maria, que estiveram comigo durante toda a jornada e me apoiaram a cada instante do percurso, não permitindo que eu esmorecesse em nenhum momento.

Agradeço aos amigos Ana Cláudia, Eduardo, Cris e Rubens, que mesmo à distância foram cruciais em um dos momentos mais difíceis de minha vida. O apoio destes valorosos amigos me deu forças para chegar onde estou hoje e seus conselhos jamais serão esquecidos. E a Alexandre que me ensinou que “a cordialidade não compromete a valentia”.

Agradeço aos colegas Enio, Fernanda Lopez, Gabriela, Ramon, cujos conselhos valiosos, ajudaram a moldar minha visão crítica do mundo auxiliando em meu crescimento pessoal, profissional, ético e moral.

Agradeço ao professor Hugo Verli, muito mais do que um orientador, um Mestre no sentido mais amplo que esta palavra pode ter. Um verdadeiro pilar que sustenta meu crescimento científico.

Aos colegas do Laboratório de Bioinformática Estrutural desta universidade, pelo auxílio sempre valoroso, e por comporem um ambiente propício ao desenvolvimento da ciência.

A todos os demais locais onde fiz estágio, HCPA, UBS-SC, e a todos os colegas, desde os estagiários mais iniciantes até os farmacêuticos chefes, que de alguma forma contribuíram para que eu chegasse aqui.

***“A coisa mais indispensável a um homem é reconhecer o uso que deve fazer do seu próprio conhecimento.”***

**Platão**

Artigo a ser submetido á Revista *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, cujas regras estão em anexo, com as devidas adequações à língua inglesa.

Alem disso, para tornar a leitura deste trabalho mais agradável, algumas alterações foram feitas, as quais não serão incluídas na versão a ser submetida. Por exemplo, a metodologia foi apresentada antes dos resultados, as figuras foram inseridas ao longo do texto com suas respectivas legendas, entre outras.

# Análise conformacional de derivados *N*-acilidrazona em solvente aquoso

Woicickoski, C.<sup>1</sup>; Pol-Fachin, L.<sup>1</sup>; Fraga, C. A. M.<sup>2</sup>; Barreiro, E. J.<sup>2</sup> e Verli, H.<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, Brasil;

<sup>2</sup>LASSBio, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil;

<sup>3</sup>Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, Brasil

The *N*-acylhydrazone moiety constitutes a pharmacophoric group due to its relation to several biological activities, such as cardiotropic, anti-inflammatory and analgesic ones. So, this work aims to evaluate the conformational preferences of *N*-acylhydrazone (NAH) derivatives through a series of 0.1 μs molecular dynamics (MD) simulations in explicit solvent, and therefore obtain further insights into the influence of bioisosteric replacements on the conformational ensemble. The influence of the presence of substituents over the NAH conformation is remarkable. Additionally it was observed that the solvent has great importance in the conformational analysis of derivatives increasing the flexibility of all molecules in solution.

**Keywords:** Molecular dynamics, *N*-acylhydrazone, bioisosteric replacements, conformational ensemble, anti-inflammatory.

O grupamento *N*-acilidrazona (NAH) constitui um grupo farmacofórico devido sua relação com uma série de atividades biológicas dentre as quais se destacam, mas não se limitam a estas, as atividades cardioativa, antiinflamatória e analgésica. Com base nessa relevância biológica este trabalho versará sobre a avaliação do perfil conformacional de alguns derivados desta família de moléculas, através de simulações de dinâmica molecular (DM) em solvente explícito por 0,1 μs. Pretendemos obter informações sobre a influência da presença de substituintes e de substituições bioisostéricas sobre o perfil conformacional desta família. Observamos a importância do solvente pra a correta análise do perfil populacional, uma vez que este eleva a flexibilidade dos derivados.

**Palavras Chave:** Dinâmica molecular, *N*-acilidrazonas, bioisosterismo, perfil populacional, antiinflamatório.

\*Faculdade de Farmácia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
Av Ipiranga 2752, Porto Alegre, 90610-000, Brasil.  
Tel.: +55 51 3308 7770;  
fax: +55 51 3308 7309.  
E-mail: hverli@cbiot.ufrgs.br

## 1. INTRODUÇÃO

A inflamação crônica pode ser tratada por diferentes abordagens terapêuticas, visto a complexidade e a diversidade de mediadores fisiológicos envolvidos. A forma clássica de combate à inflamação inclui a inibição da produção de prostaglandinas (PGs), a partir do ácido araquidônico, com o uso de agentes antiinflamatórios não-esteróides (AINE) não-seletivos em relação às isoformas 1 e 2 da ciclooxigenase (COX) ou, mais recentemente, fármacos seletivos à isoforma 2 desta enzima<sup>1</sup>. Na década de 80, alguns compostos que apresentam a subunidade hidrazona (C=N-N) (fig 1), como por exemplo, BW-755c<sup>2</sup> (1) e CBS-1108<sup>3</sup> (2) foram descritos como agentes antiinflamatórios e analgésicos com ação inibitória sobre as enzimas ciclooxigenase (COX) e 5-lipooxigenase (5-LO)<sup>4</sup>. Com o intuito de avaliar a contribuição deste grupamento para a inibição de ambas as enzimas, várias séries de moléculas foram sintetizadas e avaliadas quanto aos seus perfis de atividades biológicas no Laboratório de Avaliação e Síntese de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Faculdade de Farmácia da UFRJ<sup>1</sup>. Neste processo de avaliação farmacofórica e otimização estrutural de derivados, observou-se que a introdução de um grupamento carbonila ligado à subunidade hidrazona levou a um aumento no espectro de atividade dos derivados. Esta introdução levou à criação da série *N*-acilidrazona (NAH, tabela 1).

O padrão estrutural característico da família das *N*-acilidrazonas também é observado em inibidores da fosfodiesterase PDE3, constituídos, entre outros, por diversos derivados sintéticos<sup>9</sup>, e.g. imazodam (3) e pimobedam (4). Estes compostos poderiam ser utilizados no combate à insuficiência cardíaca congestiva (ICC), a qual se caracteriza pelo infarto do miocárdio com edema e congestão periférica. A terapia geralmente empregada no tratamento de tais quadros congestivos inclui o uso de fármacos capazes de aumentarem a contratilidade do miocárdio com efeitos inotrópicos positivos, e.g. glicosídeos cardioativos<sup>6</sup>. Porém, estes fármacos apresentam baixo índice terapêutico<sup>7</sup>. Em contrapartida, o envolvimento do Ca<sup>+2</sup> miofibrilar e da isoforma cardíaca da fosfodiesterase PDE3, que apresenta a mesma afinidade para os nucleotídeos cAMP e cGMP, têm antecipado a possibilidade de se tratar ICC com inibidores desta isoforma, capazes de promover efeitos combinados vasodilatadores e inotrópicos positivos<sup>8</sup>. Neste contexto o uso de derivados NAH se torna ainda mais promissor, uma vez que além de atividades antiinflamatória e analgésica, os compostos derivados do grupamento NAH possuem ação sobre o músculo cardíaco atuando, provavelmente, sobre a regulação do cálcio intracelular.

A regulação dos canais de cálcio intracelular também é mecanismo de ação de alguns derivados do grupamento NAH como por exemplo, o dantroleno (5), cujo grupamento NAH está parcialmente inserido no anel da molécula. Este fármaco, introduzido na terapêutica em 1986 como miorelaxante esquelético, é o único agente medicamentoso efetivamente indicado no combate da hipertermia maligna<sup>9</sup>. Esta idiosincrasia é causada por uma mutação nos canais de cálcio do coração, levando a intenso espasmo muscular e drástica elevação da temperatura

corpórea. Esta patologia é desencadeada pelo uso de alguns anestésicos, e.g. halotano<sup>10</sup>.

Apesar da classe das *N*-acilidrazonas ser utilizada clinicamente há mais de duas décadas e apresentar vários padrões de atividades biológicas, envolvendo uma série de mediadores fisiológicos, as conformações de seus derivados, assim como as interações realizadas junto ao solvente não são bem compreendidas. Neste contexto, o presente trabalho pretende avaliar as preferências conformacionais dos derivados NAH através de simulações de dinâmica molecular (DM) em solvente explícito e avaliar as contribuições individuais de cada substituinte para o delineamento do perfil populacional desta série de moléculas. Os dados obtidos poderão contribuir com o desenho racional de candidatos a protótipos de novos compostos bioativos derivados desta série, assim como fornecer informações que possam ser utilizadas no refinamento da relação estrutura-atividade desta classe.

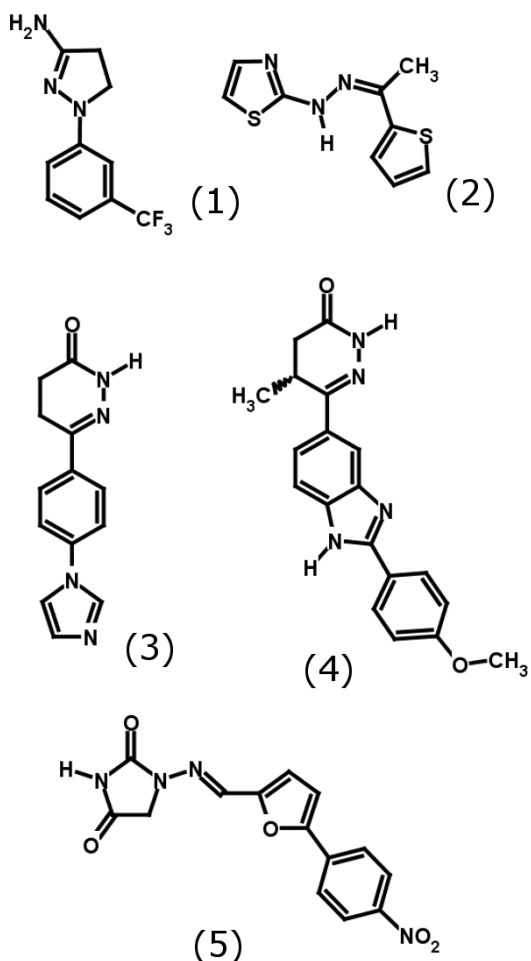


Figura 1: Derivados hidrazonicos: BW-755c (1); CBS-1108 (2); e derivados *N*-acilidrazonicos: imazodam (3); pimobendamide (4) e dantroleno (5).



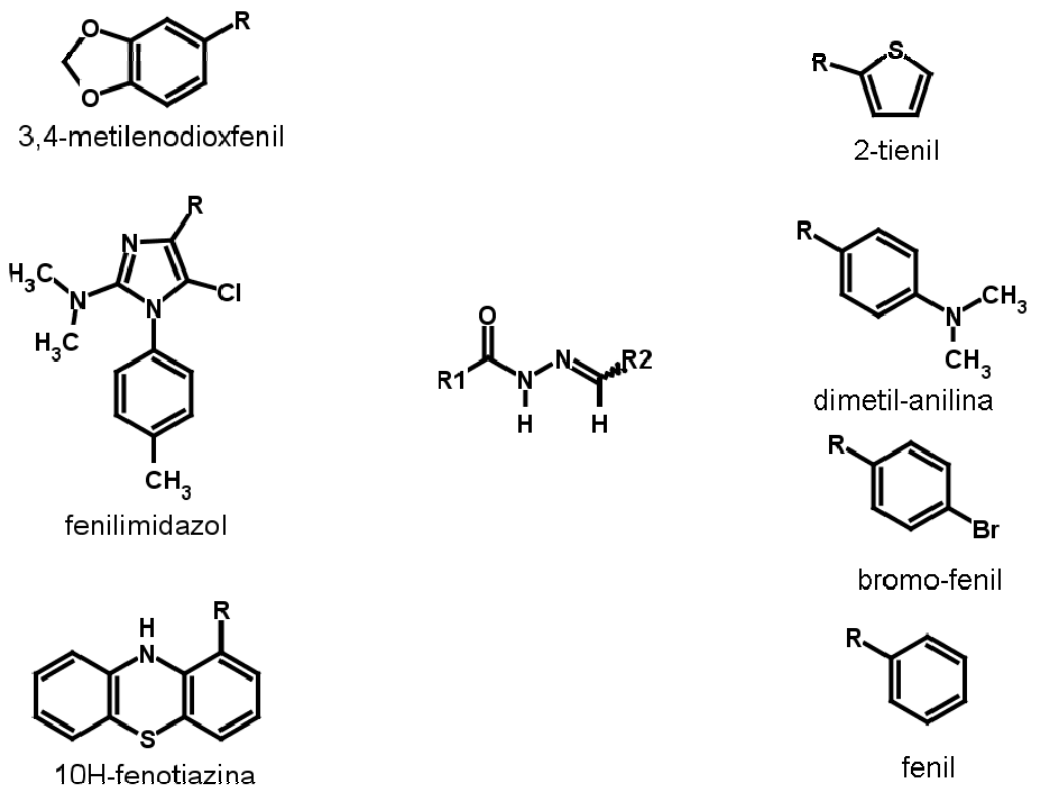
## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Metodologia Geral

Para proceder aos cálculos semi-empíricos, foi adicionado a cada um dos substituintes da posição R1 um grupamento amida na posição onde estaria substituído o esqueleto NAH, mimetizando este grupo e, ao mesmo tempo, obteve-se uma molécula simplificada que possui todos os átomos constituintes do diedro 3 (fig 2) e demonstra menor potencial de ser alvo de impedimento estérico durante as simulações no vácuo, o que permite a utilização dos dados obtidos em uma gama maior de situações.

Dentre os compostos derivados do esqueleto NAH já sintetizados e avaliados biologicamente no LASSBio<sup>1</sup>, foram escolhidos aqueles nos quais fosse possível correlacionar cada substituinte na posição R1 com a presença dos mesmos grupamentos em R2, permitindo a avaliação das contribuições individuais de cada substituinte sobre a conformação dos derivados em solução aquosa. Desta forma, foram selecionadas as moléculas presentes na tabela 1, onde se vislumbram os 3 substituintes da posição R1 e os 4 da posição R2, se inter-relacionando para formar as 12 moléculas selecionadas. As análises dos derivados foram efetuadas em nível crescente de complexidade empregando-se a metodologia de *building blocks*. Ou seja, as moléculas foram divididas em blocos com diferentes níveis de complexidade possibilitando usar os resultados da análise de um bloco como base para as análises do bloco seguinte, obtendo-se uma sistematização do processo analítico.

Tabela 1. Compostos selecionados.



COMPOSTO	R1	R2
1	3,4-metilenodioxfenil	2-tienil
2	3,4-metilenodioxfenil	fenil
3	3,4-metilenodioxfenil	<i>p</i> -bromo-fenil
4	3,4-metilenodioxfenil	dimetil-anilina
5	fenilimidazol	2-tienil
6	fenilimidazol	fenil
7	fenilimidazol	<i>p</i> -bromofenil
8	fenilimidazol	dimetil-anilina
9	10 <i>H</i> -fenotiazina	2-tienil
10	10 <i>H</i> -fenotiazina	fenil
11	10 <i>H</i> -fenotiazina	<i>p</i> -bromofenil
12	10 <i>H</i> -fenotiazina	dimetil-anilina

## 2.2 Métodos Computacionais

### 2.2.1 Nomenclatura E Software

As estruturas dos derivados foram construídas e manipuladas com o auxílio do programa **MOLDEN**<sup>12</sup>. Os cálculos semi-empíricos foram realizados na base **RM1** (Recife Model 1)<sup>13</sup> do programa **MOPAC**<sup>24</sup>. As topologias dos compostos foram obtidas através do programa **PRODRG**<sup>14,15</sup>. Os cálculos *ab initio* foram realizados no **GAMESS**<sup>16</sup>. Todas as simulações de Dinâmica Molecular (DM) foram realizadas no pacote de simulação **GROMACS** com o uso do campo de força do **GROMOS96**<sup>17,18</sup>.

### 2.2.2 Calculos Semi-empírico

Com o objetivo de determinar a geometria inicial mais conveniente para servir como ponto inicial para as simulações de DM, as moléculas foram submetidas à minimização de energia no vácuo. O esqueleto NAH teve o seu diedro 1 (fig. 2) girado em passos de 30°, gerando 12 confôrmeros. E sobre cada um destes, foi girado o diedro 2, também em passos de 30° gerando 144 confôrmeros no total. Estes foram submetidos a cálculos semi-empíricos com uso dos parâmetros externos da base RM1, a fim de obter os calores de formação deste derivados e avaliar a estabilidade relativa destes confôrmeros no vácuo.

Com o mesmo objetivo, cada um dos três substituintes selecionados para substituir os esqueleto NAH na posição R1 (tabela 1) foi adicionado de uma amida, construindo-se uma molécula simplificada onde estão presentes todos os átomos que compõem o diedro 3 evitando-se, desta forma, a possibilidade de ocorrência de eventos interferentes no calculo semi-empírico, por exemplo, impedimento estérico. Isto permite a utilização dos dados obtidos em uma gama maior de situações. Procedeu-se a rotação deste ângulo de diedro em passos de 10°, e o subseqüente cálculo do calor de formação por método semi-empírico RM1 para cada confôrmero.

### 2.2.3 Cargas Atômicas

As estruturas provenientes dos cálculos semi-empíricos foram submetidas a cálculos *ab initio* para proceder a minimização de energia e obtenção das cargas atômicas de Löwdin para os compostos a serem utilizadas nas simulações de DM.

As geometrias provenientes do método semi-empírico foram submetidas a cálculos na base HF/3-21G e as geometrias provenientes deste método foram posteriormente minimizadas na base HF/6-31G\*\*, ambas do GAMESS. O esquema de cargas atômicas de Löwdin no nível HartreeFock HF/6-31G\*\* foi escolhido em detrimento do esquema usual de cargas de Mulliken devido à tendência deste último de concentrar a carga atômica sobre os elementos de maior eletronegatividade como, por exemplo, o oxigênio<sup>11,19</sup>. Tal distribuição de cargas de forma errônea poderia levar a uma distorção no padrão dos dipolos das moléculas e, conseqüentemente, na interação destas com o meio circundante.

### 2.2.4 Dinâmica Molecular

Os confôrmeros de menor energia obtidas dos cálculos semi-empíricos para o esqueleto NAH e que se mantiveram estáveis durante as simulações de dinâmica molecular associados a todas as geometrias de baixa energia obtidas para o diedro 3 dos substituintes na posição R1, foram usadas como ponto de partida para simulações de DM. As moléculas foram submetidas ao **PRODRG**<sup>14</sup> para obtenção das topologias, as quais foram ajustadas com as cargas atômicas de Löwdin obtidas por método *ab initio*. Procedeu-se, posteriormente, usando as ferramentas disponíveis no pacote de simulação do GROMACS, a solvatação destas moléculas em uma caixa retangular, com água explícita do tipo SPC, mantendo-se temperatura e pressão constantes, respectivamente em 310K e 1ATM. Os sistemas (molécula e solvente) foram submetidos a minimização de energia seguidos de simulação por DM durante 0,1 $\mu$ s.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 ANÁLISE POR BLOCOS

As análises dos derivados foram efetuadas em nível crescente de complexidade usando-se a metodologia de *building blocks*. Ou seja, as moléculas foram divididas em blocos com diferentes níveis de complexidade possibilitando usar os resultados da análise de um bloco como base para as análises do bloco seguinte, obtendo-se uma sistematização do processo analítico. Os derivados foram divididos em 3 blocos (fig 2). O primeiro bloco, composto pelo grupamento NAH, apresenta dois diedros livres, aos quais nomeamos arbitrariamente como D1 e D2. O bloco 2 é constituído do grupamento NAH e cada um dos grupamentos substituintes da posição R1. Neste bloco nos interessa, além dos diedros do grupamento NAH, o ângulo formado entre o plano da amida e o plano do anel aromático de cada um dos substituintes em R1 ligado diretamente a carbonila do esqueleto NAH. Para avaliar este grau de liberdade, foi definido o diedro 3. O bloco 3, por sua vez, é constituído do esqueleto NAH e dos substituintes nas posições R1 e R2. Neste terceiro bloco nos focaremos na análise dos diedros 1,2 e 3 e na avaliação do ângulo formado entre os planos do anel aromático do substituinte em R2 e o plano da insaturação da imina. O diedro 4 foi definido para satisfazer a este propósito.

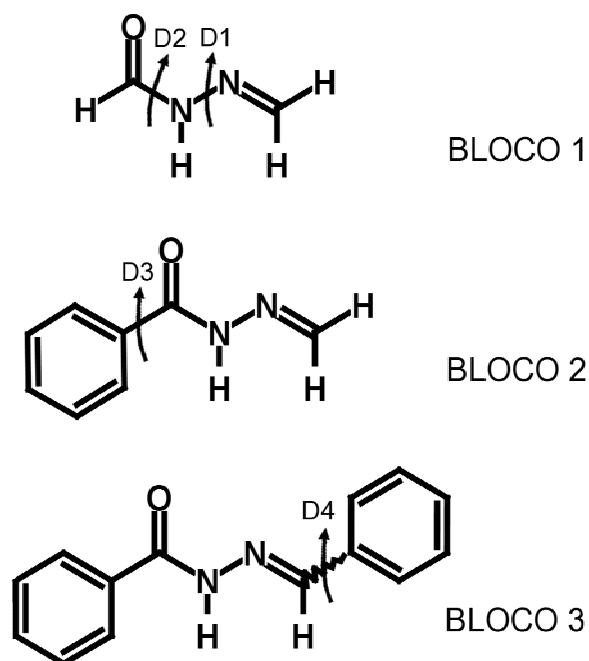
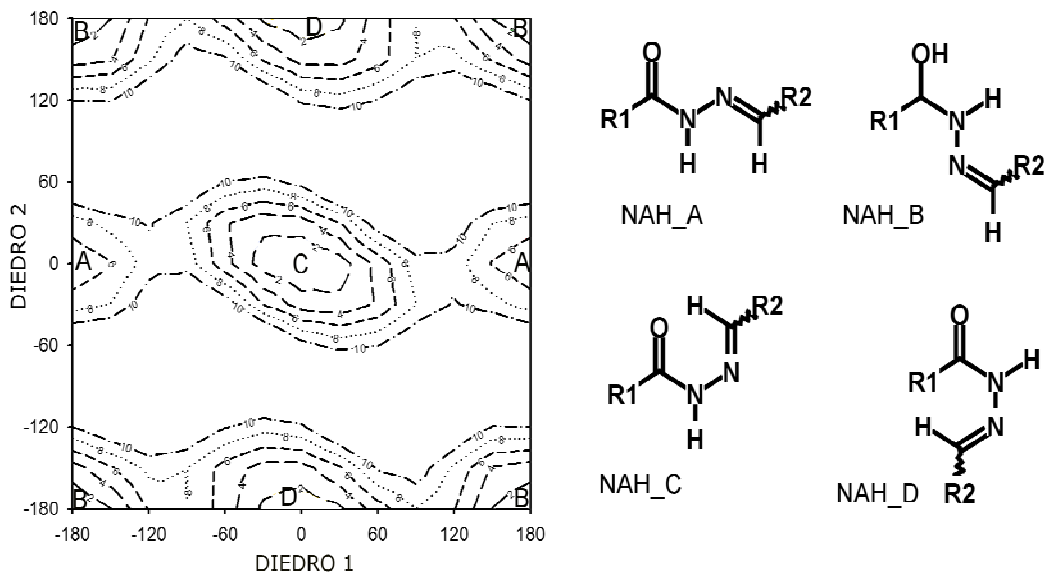
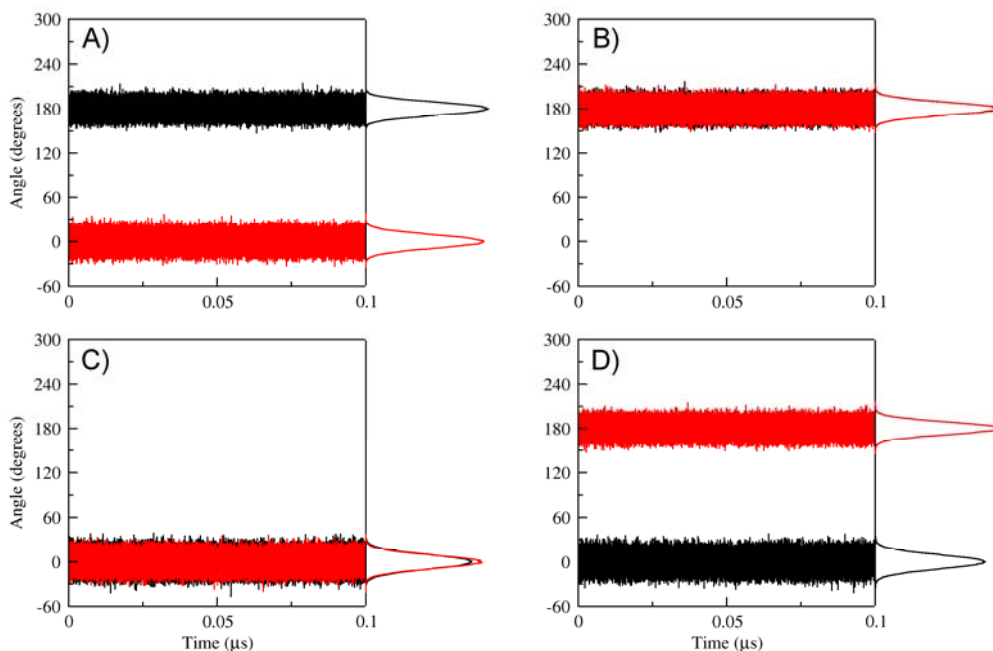


Figura 2: Os derivados *N*-acilidrazona foram divididos em 3 blocos com complexidade crescente. O bloco 1, composto apenas pelo grupo NAH, apresenta os diedros 1 (D1) e 2 (D2). O bloco 2 apresenta além destes, o diedro 3 (D3). O terceiro bloco, constituído dos três diedros já citados e do diedro 4 (D4), pode apresentar o anel aromático substituinte da posição R2, a direita nesta representação, nas conformações E ou Z.



**Figura 3:** Descrição conformacional do esqueleto NAH obtida a partir de cálculo semi-empíricos RM1 do bloco 1: no mapa, à esquerda, as linhas delimitam áreas de mesmo calor de formação relativo para os valores oriundos de cada um dos 144 conformêros do esqueleto NAH obtidos por giro dos diedros 1 e 2 em passos de 30°. As regiões assinaladas representam os quatro conformêros de baixa energia para o esqueleto NAH, e as letras representam a nomenclatura que receberam arbitrariamente. À direita, a geometria dos conformêros destacados no gráfico.



**Figura 4:** Distribuição e flutuação dos ângulos de diedro 1 (preto) e 2 (vermelho) obtido após 0,1μs de simulação de dinâmica molecular do esqueleto NAH usando como ponto de partida os conformêros A, B, C e D. Todos os ângulos mantiveram sua geometria inicial.

### 3.2 Bloco 1

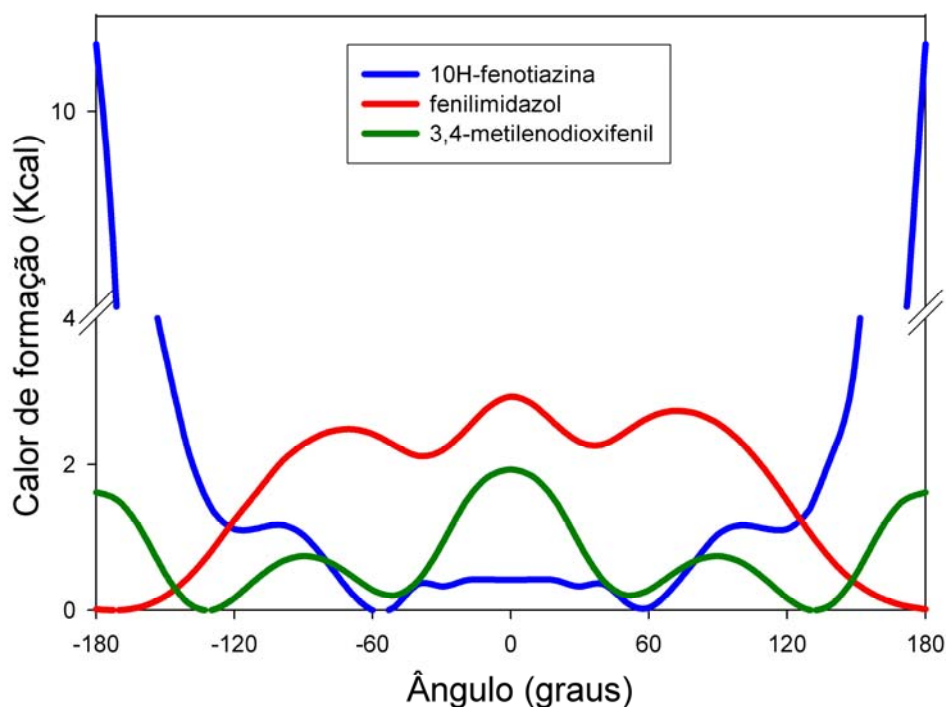
A análise do primeiro bloco, constituído apenas do esqueleto NAH, teve como objetivo final, assim como nos demais blocos, encontrar as conformações mais abundantes deste grupo em solução para servir de base para a análise dos blocos seguintes. Para tanto, inicialmente, procederam-se análises no vácuo a fim de compreender o papel do solvente na conformação desta unidade da molécula através do confronto entre os resultados obtidos no vácuo e em solução. Neste sentido, cada um dos 144 confôrmeros obtidos da rotação dos diedros D1 e D2 foram submetidos a cálculos semi-empíricos RM1 a fim de se obter as geometrias mais estáveis. Os calores de formação oriundos desta análise, cujos valores relativos são mostrados na figura 3, evidenciaram quatro regiões de mínimo de energia relativa, representando as conformações mais estáveis no vácuo para o esqueleto NAH. Denominamos arbitrariamente estas conformações como A (diedros 1 e 2 em 180° e 0°, respectivamente), B (ambos os diedros em 180°), C (ambos os diedros em 0°) e D (diedros 1 e 2 em 0° e 180°, respectivamente) (fig 3). Adicionalmente, as análises mostraram que as barreiras de interconversão entre estes compostos são da ordem de 8 kcal entre os confôrmeros B e D (rotação do diedro 1) e aproximadamente de 10 kcal entre os confôrmeros A e C (rotação do diedro 1). As interconversões envolvendo rotações do diedro 2 necessitam de energias superiores a 10 kcal. Levando-se em consideração as limitações presentes no método semi-empírico\* os quatro confôrmeros resultantes desta metodologia foram submetidos a cálculos *ab initio* para proceder a minimização de energia e obtenção das cargas atômicas de Löwdin as quais, posteriormente, foram usadas nas simulações de dinâmica molecular em solvente explícito por 0,1  $\mu$ s, a 310K. Nenhuma interconversão foi observada demonstrando a estabilidade destes confôrmeros em solução aquosa. A avaliação da estabilidade deste grupamento ainda envolveu simulações a 400, 500, 600 e 700K, obtendo-se como resultado a manutenção das geometrias iniciais dos dois diedros livres em todas as simulações. Isto sugere que o esqueleto NAH mantém quatro estados conformacionais co-existindo simultaneamente em solução aquosa.

\* Nos métodos *ab initio*, a equação de Schrödinger é resolvida sem a aplicação de parâmetros empíricos. No entanto, os cálculos com esses métodos são extremamente lentos e a sua aplicação rotineira para sistemas muito complexos, com muitos átomos, é inviável. Em comparação, simplificações introduzidas nos métodos semi-empíricos tornam viável o cálculo, em computadores de baixo custo, de sistemas moleculares com várias centenas de orbitais<sup>23</sup>. Estas simplificações incluem a consideração apenas dos elétrons de valência, a restrição do conjunto de bases à representação mínima e a negligência, em graus variáveis, do recobrimento dos orbitais atômicos localizados em átomos diferentes<sup>24</sup>.

### 3.3 BLOCO 2

A análise do bloco 2, que inclui o grupamento NAH ligado ao substituinte na posição R1, utilizou os dados obtidos durante a análise do bloco 1, promovendo-se a comparação entre as geometrias do esqueleto NAH antes e depois da inclusão dos substituintes em R1, podendo assim inferir o papel destes substituintes na conformação da unidade acilidrazônica.

Cada um dos substituintes da posição R1 acrescido de um grupamento amida na posição de ligação ao grupo NAH, teve seu diedro 3 girado em passos de  $10^\circ$ , obtendo-se 36 conformêmeros para cada substituinte da posição R1, os quais foram submetidos a cálculos semi-empíricos RM1 para obtenção dos mínimos de energia para cada derivado. Os calores de formação foram normalizados em relação ao valor mais baixo de cada curva. A análise destes dados leva à identificação de quatro conformações de mínimos de energia para o derivado 3,4-metilenodioxifenil [ $50^\circ$ ,  $130^\circ$ ,  $230^\circ$  ( $-130^\circ$ ) e  $310^\circ$  ( $-50^\circ$ )] representadas pelas regiões do gráfico que se aproximam do eixo das abscissas. Dois mínimos foram encontrados para o derivado 10H-fenotiazina [ $60^\circ$  e  $300^\circ$  ( $-60^\circ$ )] e um para o derivado fenilimidazólico [ $190^\circ$  ( $-170^\circ$ )]. Cada uma destas 7 geometrias associadas com as quatro conformações mais estáveis do esqueleto NAH foram usadas como ponto de partida para as simulações de DM, totalizando 28 simulações por um tempo de  $0,1\mu\text{s}$  cada.



**Figura 5:** Análise conformacional do diedro 3 (bloco 2) dos substituintes do esqueleto NAH na posição R1. As curvas representam o calor de formação relativo de cada molécula, cujas geometrias de menor energia são usadas como ponto de partida para as simulações de DM.



As quatro conformações do esqueleto NAH que se mantiveram estáveis durante nossas simulações foram usadas para a construção das moléculas a serem simuladas de forma que em cada uma das quatro conformações, fossem ligados os substituintes previamente selecionados na posição R1 em uma das geometrias mais estáveis no vácuo para cada substituinte, gerando um total de 28 confômeros: 16 do derivado 3,4 metilenodioxifenil (cada um das quatro conformações de mínimos de energia obtidas para este grupamento por cálculo semi-empírico foi simulado com as quatro conformações obtidas para o esqueleto NAH), 8 do derivado 10*H*-fenotiazina, e 4 do derivado fenilimidazólico. Todas as moléculas foram solvatadas e simuladas por 0,1 $\mu$ s, obtendo-se as curvas de distribuição presentes nas figura 6 e 7.

Ao simular o derivado 10*H*-fenotiazina com o diedro 3 na geometria de 60° como ponto de partida ocorreu uma interconversão do esqueleto NAH do confômero D para o B, ou seja, o diedro 1 sofreu uma alteração em sua geometria de 0° para 180°, mantendo-se intacta a geometria do diedro 2. Quando a simulação do mesmo grupamento tem seu início em 300° (-60°) nenhuma interconversão é percebida.

Os derivados fenilimidazólicos resultantes da combinação com os confômeros A e C do esqueleto NAH, apresentam uma extensa distribuição de conformações para o diedro 3, a qual ocupa praticamente a totalidade do espectro conformacional possível (360°). Os mesmo confômeros quando associados ao grupo 3,4-metilenodioxifenil apresentam inúmeras interconversões da geometria do diedro 3. Na contra-mão disto, os derivados fenotiazínicos não apresentaram nenhum destes efeitos sobre a conformação do diedro 3, porém, houve interconversão na geometria do diedro 1.

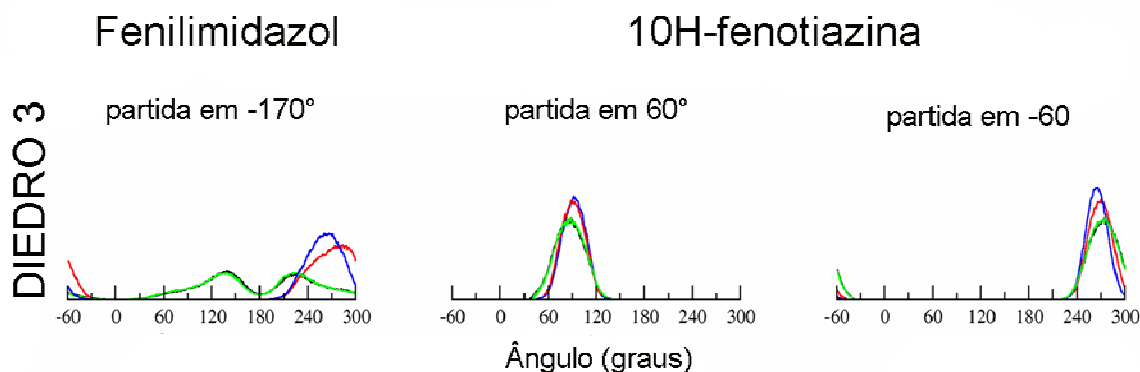


Figura 6. Curvas de distribuição das conformações dos derivados NAH, com os grupos fenilimidazol ou 10*H*-fenotiazina na posição R1 após 0,1 $\mu$ s de simulação de DM em solvente explícito, usando como ponto de partida as geometrias mais estáveis segundo cálculos semi-empírico. Em cada quadro há as curvas para as simulações com cada um dos quatro confômeros mais estáveis do esqueleto NAH. A curva referente ao confômero A do grupamento NAH está representada em preto; B em vermelho; C em verde; D em azul. Algumas curvas estão sobrepostas (p.ex. as curvas verde e preta).

Nas simulações dos derivados do grupamento 3,4-metilenodioxfenil com os confôrmeros A e C do esqueleto NAH, a conformação do diedro 3 está em equilíbrio entre as geometrias de  $90^\circ$  e  $270^\circ$  ( $-90^\circ$ ), independentemente da geometria de partida do diedro 3. A mesma alternância seqüencial entre  $90^\circ$  e  $270^\circ$  ( $-90^\circ$ ) foi observada quando a simulação envolveu o confôrmero B apenas para a geometria de partida do diedro 3 em  $50^\circ$ , não se observando para as demais geometrias de partida deste diedro. Os derivados fenilimidazólicos quando associados aos confôrmeros A e C também possuem um par de conformações preferenciais em solução, em  $130^\circ$  e em  $230^\circ$ , porém para estes derivados não se observa nítida interconversão e tampouco estabilidade prolongada de uma das conformações apesar da prevalência destas duas geometrias ao longo do tempo.

### 3,4-metilenodioxfenil

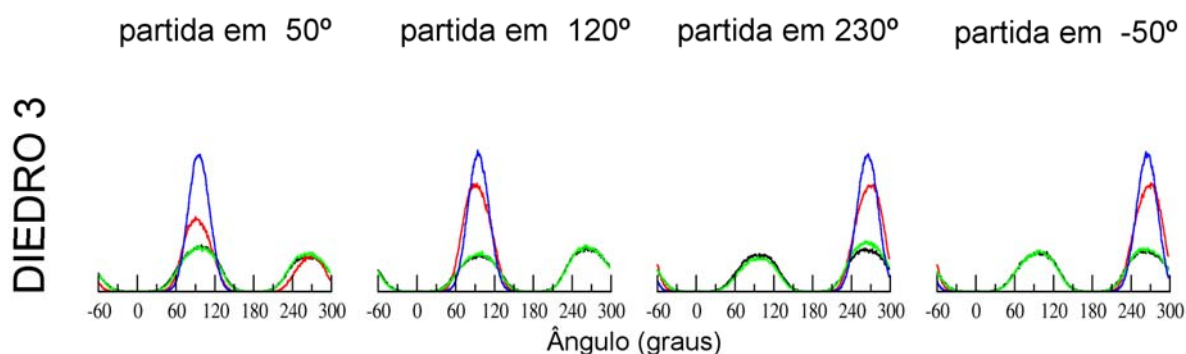


Figura 7. Curvas de distribuição das conformações dos derivados NAH, com o grupo 3,4-metilenodioxifenil na posição R1, após  $0,1\mu\text{s}$  de simulação de DM em solvente explícito, usando como ponto de partida as geometrias mais estáveis segundo cálculos semi-empírico. Em cada quadro há as curvas para as simulações com cada um dos quatro confôrmeros mais estáveis do esqueleto NAH. A curva referente ao confôrmero A está representada em preto; B em vermelho; C em verde; D em azul. As curvas verde e preta estão sobrepostas.

Independente do substituinte em R1 ou da geometria de partida destes nas simulações, as curvas de distribuição para o diedro 3 dos confôrmeros A (diedro 1 em  $180^\circ$  e diedro 2 em  $0^\circ$ ) e C (diedros 1 e 2 em  $0^\circ$ ) estão praticamente sobrepostas, demonstrando uma grande similaridade entre os derivados destes confôrmeros do esqueleto NAH no que tange o perfil populacional do diedro 3 em solução aquosa. Adicionalmente, na maioria das simulações realizadas, as curvas de distribuição para o diedro 3 destes dois confôrmeros (A e C) foram mais largas do que aquelas apresentadas pelos demais confôrmeros, denotando uma maior flexibilidade em solução.

A flexibilização do diedro 1, levando-o à interconversão, assim como as elevadas flexibilidades encontradas para o diedro 3 de alguns derivados, demonstram a importância da inclusão do solvente nas simulações de dinâmica molecular, e de considerar-se a influência deste para a obtenção de uma análise conformacional, não apenas mais ampla e completa, como também, mais próxima à realidade.

### 3.4 Implicações para a relação estrutura-atividade

Conhecer a conformação, ou conjunto de conformações, em solução de uma molécula é crucial para a correta determinação da relação estrutura-atividade (SAR) para ela e seus derivados. Ao basear-se em dados conformacionais incorretos as SARs e mapas farmacofóricos propostos terão baixa qualidade e sua capacidade preditiva das reais interações entre a molécula e seu receptor alvo serão deficientes. As moléculas usadas neste trabalho apresentam séries de elétrons  $\pi$  conjugados, os quais em uma primeira análise seriam correlacionados a um sistema ressonante que manteria todos os anéis coplanares e, por conseguinte, a exceção alguns poucos grupamentos, e.g. dimetil-anilina, toda a molécula planar. A SAR proveniente da interpretação de dados biológicos cruzados com esta conformação planar dos derivados NAH tende a levar a uma interpretação errônea das reais interações que ocorrem entre as moléculas e seus receptores biológicos, uma vez que com os dados apresentados neste trabalho até o presente momento, vislumbra-se uma conformação não co-planar entre os grupos das moléculas estudadas e portanto uma não-planaridade dos derivados. Desta forma, vislumbram-se a possibilidade de refinamento das correlações de estrutura-atividade para esta família de moléculas.

## 4. CONCLUSÃO

É possível notar a influência da adição dos substituintes sobre a conformação do esqueleto NAH, uma vez que a análise conformacional no vácuo apresentou quatro conformações de maior estabilidade, as quais se mantiveram estáveis após simulações de dinâmica molecular em solução. A inclusão do substituinte 10*H*-fenotiazina na posição R1 propiciou a interconversão do confômero D do esqueleto NAH para B, evento que não havia sido possível visualizar nem quando o grupamento isolado foi submetido a simulações à 700K em solução.

As geometrias de 90° e 270° (-90°) são as mais abundantes em solução para o diedro 3 quando o grupo NAH é simulado substituído em R1 pelos grupos 10*H*-fenotiazina ou 3,4-metilenodioxifenil. As geometrias iniciais para o diedro 3 de cada derivado convertem para aquela geometria, dentre estas duas, mais próxima de seu ponto de partida. Alguns confômeros conseguem vencer as barreiras energéticas e popular ambas as geometrias.

A influência do solvente sobre a conformação dos compostos estudados é visível nos casos de interconversões entre confômeros do esqueleto NAH e na elevada flexibilidade para o diedro 3 observada durante as análises conformacionais.

## 5. PERSPECTIVAS

Como perspectivas, objetivando enriquecer os dados obtidos neste trabalho, pode-se incluir a conclusão das análises dos dados referentes ao diedro 3 e ao bloco 2 como um todo. Além disso, pode-se incluir a realização das simulações para o bloco 3, que inclui os substituintes na posição R2, e realizar as análises pertinentes aos dados obtidos. Adicionalmente, se necessário, podem ser realizadas simulações complementares para ajudar na compreensão da influência de cada elemento no estabelecimento do equilíbrio conformacional observado.

## 6. AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer a CAPES, FAPERGS, CNPq IM-INOFAR (nº 420015/05-1), e CNPq Universal (nº 472174/2007-0) pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

1. Barreiro, E. J.; Fraga, C. A. M.; Miranda, A. L. P.; Rodrigues C. R., *Quim. Nova.* **2002**, 25, 129.
2. Ghiglieri-Bertez, C.; Coquelet, C.; Alazet, A.; Bonne, C.; *Eur. J. Med. Chem.* **1987**, 22, 147.
3. Sincholle, D.; Bertez, C.; Legrand, A.; Conduzorgues, J.P.; Bonne, C.; *Arzneim.-Forsch.* **1985**, 35, 1260.
4. Lima, C. L.; Lima, L. M.; Léda, P. H. O.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J; *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 187.
5. Silva, G. A.; Costa, L. M. M.; Brito, F. C. F.; Miranda, A. L. P.; Barreiro, E. J; Fraga, C. A. M.; *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 3149.
6. Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; *Quim. Nova.* **1996**, 19, 182.
7. Rang H. P.; Dale M. M.; Ritter, J. M.; Moore, P. K.; *Farmacología*, 5ed. Editora Elsevier, Cap 10, Pag. 317.
8. Kagimoto, K.; Hagiwara, N.; Kasanuki, H.; Hosoda, S.; *Br. J. Pharmacol.* **1997**, 121, 1549.
9. Barreiro, E. J.; *Quim. Nova.* **2002**, 25, 1172.
10. Rang H. P.; Dale M. M.; Ritter, J. M.; Moore, P. K.; *Farmacología*, 5ed. Editora Elsevier. Cap 10, Pag. 173.
11. Verli, H.; Guimarães, J. A. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 281.
12. MOLDEN. Schaftenaar, G. CAOS/CAMM Center, University of Nijmegen, Toernooiveld 1, 6525 ED Nijmegen, The Netherlands, **1997**.
13. Simas, A. M.; Rocha, G. B.; Stewart J. P. *J. Comput. Chem.* **2006**, 27, 1101.
14. van Aalten, D. M. F.; Bywater, B.; Findlay, J. B. C.; *et al. Comput. Aided Mol. Des.* **1996**, 10, 255.
15. [http://davapc1.bioch.dundee.ac.uk/cgi-bin/prodrg\\_beta](http://davapc1.bioch.dundee.ac.uk/cgi-bin/prodrg_beta)
16. Schmidt, M. W.; Baldrige, K. K.; Boatz, J. A.; *et al. J. Comput. Chem.* **1993**, 14, 1347.

17. Berendsen, H. J. C.; van der Spoel, D.; van Drunen, R. *Comput. Phys. Commun.* **1995**, 91, 43.

18. van der Spoel, D.; van Buuren, A. R.; Apol, E.; *et al.* GROMACS User Manual Version 3.0, Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands, **2001**.

19 Becker, C. F.; Guimarães, J. A.; Verli, H. *Carbohydr. Res.* **2005**, 340 1499.

20. Cunha, A.C.; Tributino, J. L. M.; Miranda, A. L. P.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E.J. *Il Farmaco*, **2002**, 57, 999.

21 Silva, C. L. M.; Noel, F.; Barreiro, E. J. *Br. J. Pharm.*, **2002**, 135, 293.

22. Gonzalez-Serratos, H; Chang, R; Pereira et al. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **2001**, 299, 558.

23. Clark, T. A.; A Handbook of Computational Chemistry, Wiley: New York, 1985; Hirst, D. M.; A Computational Approach to Chemistry, Blackwell Scientific: Oxford, **1990**.

24. Stewart, J. J. P., *J. Mol. Modeling*, **2007**, 1173.



# BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY

The Tetrahedron Journal for Research at the Interface of Chemistry and Biology

## Guide for Authors

### [Summary of Instructions to Authors](#)

*Bioorganic & Medicinal Chemistry* seeks to publish research results of outstanding significance and timeliness and review articles in the fields of medicinal chemistry, chemical biology, bioorganic chemistry, bioinorganic chemistry, and related disciplines.

*Articles* should describe original research of high quality and timeliness.

*Reviews* of topical importance and current relevance are specially commissioned in appropriate fields. Authors wishing to submit a non-solicited review article are requested to first contact the Editor-in-Chief, Professor C.-H. Wong.

*Perspectives* briefly review (in 1-4 printed pages) specific subjects that already have or are likely to have major impact in areas related to chemical biology and drug discovery. Authors of perspectives are those who have made the original contribution or have extended the original research to new breakthroughs. Perspectives are generally specially commissioned by the editors; however, suggestions for topics and authors are welcomed. Individuals interested in contributing should contact the Editor-in-Chief, Professor C.-H. Wong.

*Symposia-in-Print* comprise collections of original research papers (including experimental sections) covering specific topics. Topics for forthcoming symposia are announced in the journal from time to time. A guest editor will invite authors active in the field to submit papers, which are then reviewed and processed for publication by the guest editor under the usual refereeing system. Opportunity is also provided for other active investigators to submit contributions.

## Manuscript submission

**Online submission:** Authors should submit their manuscripts to the appropriate regional editor (see below) via the online submission page of this journal at <http://ees.elsevier.com/bmc>. Authors will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. The system automatically converts source files to a single Adobe Acrobat PDF version of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail and via the author's home page. A printed copy of the manuscript is



not required at any stage of the process.

The following items should be supplied at first submission:

- *Manuscript*. It is not necessary to embed graphics in the text, but if you do so please note that separate graphic files will always be required for proof production when a manuscript is accepted for publication. Graphics should be submitted as separate, high-resolution artwork files. These will be automatically incorporated into the single PDF that the system creates for review.
- *Graphical abstract* for the contents list (submitted as a separate document).
- *Cover letter*: (i) highlighting the novelty, significance, and urgency of the submitted work, which merits rapid publication; (ii) providing details of other relevant information, e.g., submitted or in press manuscripts.
- *Names of potential referees*.

Manuscripts should be addressed to the appropriate regional editor:

*Submissions from Europe:*

Professor H. Waldmann, Department of Chemical Biology, Max-Planck-Institut für Molekulare Physiologie, Dortmund, Germany

*Submissions from USA, Canada, and all others:*

Professor B. Imperiali, Department of Chemistry, Massachusetts Institute of Technology, 77 Massachusetts Avenue, Cambridge, MA 02139, USA

All manuscripts will be centrally handled by the journal editorial office, which will forward manuscripts to the regional editors:

Editorial Office

Bioorganic & Medicinal Chemistry  
525 B Street, Suite 1900  
San Diego, CA 92101-4495, USA  
Fax: (1) 619-699-6801  
E-mail: [bmc-eo@elsevier.com](mailto:bmc-eo@elsevier.com)

Authors who are unable to submit their paper online should contact the editorial office prior to submission at the above address.

**Language:** Articles must be written in clear, concise, grammatical English. Any author who is not fluent in idiomatic English is urged to gain assistance with manuscript preparation. Reviewers are not expected to correct grammatical errors and any deficiency in this area may detract from the scientific content of the paper.

**Language editing:** International Science Editing and Asia Science Editing can provide English language and copyediting services to authors who want to publish in scientific, technical, and medical journals and need assistance before they submit their article or before it is accepted for publication. Authors can contact these services directly:

International Science Editing (<http://www.internationalscienceediting.com>) and Asia Science Editing (<http://www.asiascienceediting.com>) or, for more information about language editing services, authors may contact [authorsupport@elsevier.com](mailto:authorsupport@elsevier.com) who will be happy to deal with any questions. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods, or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our terms and conditions (☞ <http://www.elsevier.com/termsandconditions>).

**Journal policy:** Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the publisher. Authors accept full responsibility for the factual accuracy of the data presented and should obtain any authorization necessary for publication. As such the contents of the papers are the sole responsibility of the authors and publication shall not imply the concurrence of the editors or publisher.

All papers are submitted to referees who advise the editor on the matter of acceptance in accordance with the high standards required, on the understanding that the subject matter has not been previously published and is not under consideration elsewhere. Referees will be asked to distinguish contributions meeting the above requirements and having an element of novelty, timeliness, and urgency that merits publication in the journal. We ask referees to help in the selection of articles that have this breadth and suggest that papers covering narrower aspects of the field be sent to journals specializing in those areas. Referee names are not disclosed, but their views are forwarded by the editor to the authors for consideration. Authors are encouraged to suggest names of several experts in the field when papers are first submitted or at any time in the evaluation process.

Upon acceptance of an article, authors will be asked to transfer copyright (for more information on copyright see ☞ <http://www.elsevier.com/locate/authorsrights>). This transfer will ensure the widest possible dissemination of information. A letter will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript. A form facilitating transfer of copyright will be provided. If material from other copyrighted works is included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases, which can be obtained at ☞ <http://www.elsevier.com/authorsrights>; see under "Copyright information".

### **Manuscript preparation**

**General requirements:** The corresponding author's full mailing address, including mail codes, phone number, fax number, and e-mail address should be included. Authors are asked to provide four keywords, which will be used for indexing purposes. The manuscript should be compiled in the following order: Graphical Abstract, Title, Authors, Affiliations, Abstract, Keywords, Introduction, Results, Discussion, Conclusion, Experimental, References and Notes, Tables, Legends, Figures, and Schemes.

**Graphical abstracts:** Authors must supply a graphical abstract at the time the paper is first submitted. The abstract should summarise the contents of the paper in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership and for compilation of databases. Carefully drawn chemical structures that serve to illustrate the theme of the paper are desired. Authors may also provide appropriate text, not exceeding 30 words. The content of the graphical abstract will be typeset and should be kept within an area of 5 cm by 17 cm. Authors must supply the graphic separately as an electronic file. For examples of graphical abstracts, please consult a recent issue of the journal or visit the journal home page on ScienceDirect at <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09680896> and click 'Sample Issue Online'.

**Title:** The title should be brief, specific, and rich in informative words; it should not contain any literature references or compound numbers.

**Authors and affiliations:** Where possible, supply given names, middle Initials, and family names for complete identification. Use superscript lowercase letters to indicate different addresses, which should be as detailed as possible and must include the country name. The corresponding author should be indicated with an asterisk, and contact details (fax, e-mail) should be placed in a footnote. Information relating to other authors (e.g., present addresses) should be placed in footnotes indicated by the appropriate symbols (see below).

**Abstracts:** Authors must include a short abstract of approximately four to six lines that states briefly the purpose of the research, the principal results, and major conclusion(s). References and compound numbers should not be mentioned in the abstract unless full details are given.

**Text** should be subdivided in the simplest possible way consistent with clarity. Headings and subheadings should reflect the relative importance of the sections, and all headings should be numbered. In the introductory section of the manuscript, the author should strive to define the significance of the work and the justification for its publication. Any background discussion should be brief and restricted to pertinent material. Ensure that all tables, figures, and schemes are cited in the text in numerical order. The preferred position for chemical structures should be indicated. Trade names should have an initial capital letter. All measurements and data should be given in SI units where possible, or in other internationally accepted units. Abbreviations should be used consistently throughout the text, and all nonstandard abbreviations should be defined on first usage. Authors are requested to draw attention to hazardous materials or procedures by adding the word CAUTION followed by a brief descriptive phrase and literature references if appropriate.

**Reviews:** When submitting a review article, authors should include biographical information for each author as well as a black-and-white photograph. Each biography should be one paragraph (approximately 150-200 words) and should include date and place of birth, universities attended, degrees obtained, principal professional posts held, present title, a line or two about the major research interests, and anything else professionally relevant that is of special interest.

**Experimental section:** Authors should be as concise as possible in experimental descriptions. The Experimental section must contain all the information necessary to guarantee reproducibility. An introductory paragraph containing information concerning solvents, sources of less common starting materials, special equipment, etc., should be provided. The procedures should be written in the past tense and include the weight, mmol, volume, etc., in parentheses after the names of the substances or solvents. General reaction conditions should be given only once. The title of an experiment should include the chemical name and compound number of the product prepared; subsequently, this compound should be identified by its number. Details of the workup procedure must be included. Physical and spectroscopic data, including NMR, high-resolution mass analysis, and elemental analysis, can be included in the experimental section or presented in tables.

**Acknowledgments:** An acknowledgment section may be included. It should be placed after the manuscript text and before the references.

Abbreviations: Standard ACS abbreviations should be used throughout the manuscript and are employed without periods. The preferred forms for some of the more commonly used abbreviations are mp, bp, °C, K, min, h, mL, µL, g, mg, µg, cm, mm, nm, mol, mmol, µmol, M, mM, µM, ppm, HPLC, TLC, GC, <sup>1</sup>H NMR, GC-MS, HRMS, FABHRMS, UV, IR, EPR, ESR, DNase, ED<sub>50</sub>, ID<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub>, LD<sub>50</sub>, im, ip, iv, mRNA, RNase, rRNA, tRNA, cpm, Ci, dpm,  $V_{max}$ ,  $K_m$ ,  $k$ ,  $t_{1/2}$ . All non-standard abbreviations should be defined following the first use of the abbreviation. For a detailed listing of standard abbreviations, see The ACS Style Guide; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.

**References and notes:** In the text, references should be indicated by superscript Arabic numerals which run consecutively through the paper and appear after any punctuation. Please ensure that all references are cited in the text and vice versa. The reference list should preferably contain only literature references, although other information (e.g., experimental details) can be placed in this section. Preferably, each reference should contain only one literature citation. Authors are expected to check the original source reference for accuracy. Journal titles should be abbreviated according to American Chemical Society guidelines (The ACS Style Guide; Dodd, J. S., Ed.: American Chemical Society: Washington DC, 1997) A list of currently accepted journal abbreviations may be found the journal home page at [www.elsevier.com/locate/bmc](http://www.elsevier.com/locate/bmc). Formatting for common references are shown below.

Scientific articles:

1. Barton, D. H. R.; Yadav-Bhatnagar, N.; Finet, J.-P.; Khamsi, J. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 3111.

Books:

2. Doe, J. S.; Smith, J. In *Medicinal Chemistry*; Roe, P., Ed.; Pergamon Press: Oxford, 1990; Vol. 1, pp 301-383.

Patent/Chem. abstract:

3. Lyle, F. R. U.S. Patent 6,973,257, 1995; *Chem. Abstr.* **1995**, 123, 2870.

Meeting abstract:

4. Prasad, A.; Jackson, P. *Abstracts of Papers*, Part 2, 212th National Meeting of the American Chemical Society, Orlando, FL, Aug 25-29, 1996; American Chemical Society: Washington, DC, 1996; PMSE 189.

**Footnotes:** Footnotes should appear at the bottom of the appropriate page and be indicated by the following symbols: asterisk, dagger, double dagger, section sign, paragraph, parallels.

**Tables:** All tables should be cited in the text, and numbered in order of appearance with Arabic numerals. All table columns should have a brief explanatory heading and, where appropriate, units of measurement. Vertical lines should not be used. Footnotes to tables should be typed below the table and should be referred to by superscript letters. Each table should have a descriptive heading, which, together with the individual column headings, should make the table, as nearly as possible, self-explanatory. In setting up tabulations, authors are requested to keep in mind the column widths (8.4 cm and 17.7 cm), and to make the table conform to the limitations of these dimensions.

**Legends:** Legends for figures and schemes should be grouped together separately.

**Artwork:** Figures, schemes, and equations must be cited in the text and numbered in order of appearance with Arabic numerals. Other graphics, such as structures, do not need to be numbered, but please indicate in the text where these are to appear. All graphics (including chemical structures) must be provided at the actual size that they are to appear (single-column width is 8.4 cm, double-column width is 17.7 cm). Please arrange schematics so that they fill the column space (either single or double), so as not to leave a lot of unused white space. Please ensure that all illustrations within a paper are consistent in type, quality, and size. Legends should not be included as part of the graphic; instead all legends should be supplied at the end of the text.

To help authors provide actual size graphics, it is suggested that the following settings be used with CSC ChemDraw and ISIS Draw: font 10 pt Helvetica, chain angle 120°, bond spacing 18% of length, fixed length 10.08 pt (0.354 cm), bold width 1.4 pt (0.049 cm), line width 0.42 pt (0.015 cm), margin width 1.12 pt (0.040 cm), and hash spacing 1.75 pt (0.062 cm). Compound numbers should be in boldface. In order to accurately design schematics to print out at the proper width, the original drawing cannot exceed a column width of 8.4 cm (for single column) and 17.7 cm (for double column). Layout design is facilitated if authors submit their original artwork in the actual size to be published. Please save graphics as an Encapsulated PostScript file (EPS) or a Tagged Image File Format (TIFF), as well as the program the graphic was originally drawn in. For more details on the preparation and submission of artwork, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

**Color:** Color figures should be supplied in electronic format as JPEG files (minimum 300 dots per inch).

- *In print:* Color figures may be printed in the journal at no charge to the author, provided that the editor considers the colour necessary to convey scientific information.

- *On the Web*: Any figure can appear free of charge in color in the Web version of your article (e.g., on ScienceDirect), regardless of whether or not this is reproduced in color in the printed version. Please note that if you do not opt for color in print, you should submit relevant figures in both color (for the Web) and black and white (for print).

### Journal conventions

**Nomenclature:** It is the responsibility of the authors to provide correct nomenclature. Chemical names for drugs are preferred. If these are not practical, generic names, names approved by the U.S. Adopted Names Council, or those approved by the World Health Organization may be used. If a generic name is used, its chemical name or structure should be provided at the point of first citation. Authors will find the following as useful reference books for recommended nomenclature.

*IUPAC Nomenclature of Organic Chemistry*; Rigaudy, J.; Klesney, S. P., Eds; Pergamon: Oxford, 1979.

*Enzyme Nomenclature*; Webb, E. C., Ed.; Academic Press; Orlando, 1992.

*Biochemical Nomenclature and Related Documents*; The Biochemistry Society; London, 1978.

*The ACS Style Guide*; Dodd, J. S., Ed.; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.

**X-ray crystallographic data:** Prior to submission of the manuscript, the author should deposit crystallographic data for organic and metalorganic structures with the Cambridge Crystallographic Data Centre. The data, without structure factors, should be sent by e-mail to [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk), as an ASCII file, preferably in CIF format. Hard copy data should be sent to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ. A checklist of data items for deposition can be obtained from the CCDC Home Page on the World Wide Web (<http://www.ccdc.cam.ac.uk>) or by e-mail to: [fileserv@ccdc.cam.ac.uk](mailto:fileserv@ccdc.cam.ac.uk), with the one-line message, send me checklist. The data will be acknowledged, within three working days, with one CCDC deposition number per structure deposited. These numbers should be included with the following standard text in the manuscript: Crystallographic data (excluding structure factors) for the structures in this paper have been deposited with the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication nos. CCDC.....Copies of the data can be obtained, free of charge, on application to CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK, (fax: +44-(0)1223-336033 or e-mail: [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk)). Deposited data may be accessed by the journal and checked as part of the refereeing process. If data are revised prior to publication, a replacement file should be sent to CCDC.

**Characterization of new compounds:** All new compounds should be fully characterized with relevant spectroscopic data. Microanalyses should be included whenever possible. Under appropriate circumstances, high-resolution mass spectra may serve in lieu of microanalysis, if accompanied by suitable NMR criteria for sample homogeneity.

**Biological data:** Biological test methods must be referenced or described in sufficient detail to permit the experiments to be repeated by others. Standard compounds and

established drugs/agents should be tested in the same system for comparison. Statistical limits (statistical significance) for the biological data are usually required. If statistical limits cannot be provided, the number of determinations and an indication of the variability and reliability of the results should be given. References to statistical methods of calculation should be included. Doses and concentrations should be expressed in molar quantities when comparisons of potencies are made with compounds having substantial differences in molecular weights. For inactive agents, the highest concentration or dose level tested should be indicated. Detailed descriptions of biological methods should be placed in the Experimental section.

**Structural data:** Atomic coordinates for structures of biological macromolecules determined by X-ray, NMR, or other methods should be deposited with the RCSB Protein Data Bank (PDB). It is the responsibility of the author to obtain a file name for the macromolecule; the file name must be referenced in the manuscript. Deposition (deposit.pdb.org) and release information are available at <http://deposit.pdb.org/depoinfo/depofaq.html>. Manuscripts will be sent out for review only after receiving a written statement from the author that the coordinates will be deposited. If a manuscript is accepted for publication and the PDB file name has not yet been obtained, it must be added in the proof prior to publication. Upon written request by the author the PDB will refer requests for coordinates to the originating author, but one year after publication, they will be made generally available upon request. Please address all inquiries about depositing to the PDB.

**GenBank/DNA sequence linking:** Authors wishing to enable other scientists to use the accession numbers cited in their papers via links to these sources, should type this information in the following manner:

For each and every accession number cited in an article, authors should type the accession number in bold, underlined text. Letters in the accession number should always be capitalized (see example below.) This combination of letters and format will enable the typesetter to recognize the relevant texts as accession numbers and add the required link to GenBank's sequences.

*Example:* GenBank accession nos. **AI631510**, **AI631511**, **AI632198**, and **BF223228**), a B-cell tumor from a chronic lymphatic leukemia (GenBank accession no. **BE675048**), and a T-cell lymphoma (GenBank accession no. **AA361117**).

Authors are encouraged to check accession numbers used very carefully. An error in a letter or number can result in a dead link.

In the final version of the *printed article*, the accession number text will not appear bold or underlined. In the final version of the *electronic copy*, the accession number text will be linked to the appropriate source in the NCBI databases, enabling readers to go directly to that source from the article.

**Software:** Software used as part of computer-aided drug/agent design (*e.g.*, molecular modeling, QSAR, conformational analysis, molecular dynamics) should be readily

available from accepted sources and the authors may specify where the software can be obtained. Assurance of the quality of the parameters employed for the relevant potential functions should be detailed in the manuscript.

**Supplementary material:** Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips, and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier web products, including ScienceDirect: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com).

To ensure that your submitted material is directly usable, please provide data in one of our recommended file formats. Supplementary data must be saved in files separate from those for the manuscript and figures, and all file names must be supplied. Supplementary files should either be referred to from within the text of your manuscript in the same way as for figures or tables, or their presence be indicated by adding a paragraph entitled 'Supplementary data' at the end of the manuscript, detailing which data are supplied. In addition, authors should also provide a concise and descriptive caption for each file.

When supplying supplementary data, authors must state whether the data files are either (i) for online publication or (ii) to be used as an aid for the refereeing of the paper only. All supplementary data will be subject to peer review. For more detailed instructions, please visit <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

## Proofs

Proofs will be despatched via e-mail and should be returned with corrections as quickly as possible, normally within 48 hours of receipt. Authors should ensure that corrections are returned in one communication and are complete, as subsequent corrections will not be possible. Any amendments will be incorporated and the final article will then be published online as an Article in Press on ScienceDirect ([www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)).

Articles in Press take full advantage of the enhanced ScienceDirect functionality, including the ability to be cited. This is possible due the innovative use of the DOI article identifier, which enables the citation of a paper before volume, issue and page numbers are allocated. The Article in Press will be removed once the paper has been assigned to an issue and the issue has been compiled.

## Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively, with twenty-five free paper offprints. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use.



