

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – IQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA – PPGQB

JOSÉ ATALVANO DA SILVA

**Estudos de relação estrutura-atividade para derivados naftoimidazólicos com
atividade tripanocida: cálculos de descritores físico-químicos, aplicação
quimiométrica multivariada e estudos de ancoramento molecular**

Maceió

2014

JOSÉ ATALVANO DA SILVA

Estudos de relação estrutura-atividade para derivados naftoimidazólicos com atividade tripanocida: cálculos de descritores físico-químicos, aplicação quimiométrica multivariada e estudos de ancoramento molecular

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Valéria Rodrigues dos Santos Malta.

Maceió
2014

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Dilma Maria dos Santos Cunha

- S586e Silva, José Atalvanio da.
Estudos de relação estrutura-atividade para derivados naftoimidazólicos com atividade tripanocida : cálculos de descritores físico-químicos, aplicação quimiométrica multivariada e estudos de ancoramento molecular, 2014.
128 f. : il., gráfs. e tabs.
- Orientadora: Valéria Rodrigues dos Santos Malta.
Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2014.
- Bibliografia: f.102-116.
Apêndices: f. [117]-128.
1. Naftoimidazóis. 2. Atividade biológica. 3. Austin Model 1.
4. Ancoramento molecular. I. Título.
- CDU: 544.016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA




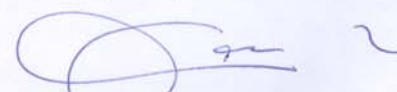
BR 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

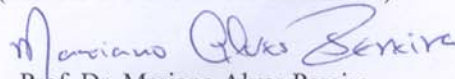
FOLHA DE APROVAÇÃO

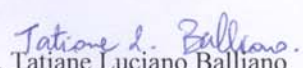
Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese do Doutorando **José Atalvanio da Silva**, intitulada: **“Estudos de relação estrutura-atividade (SAR) para derivados naftoimidazólicos com atividade tripanocida: cálculos de descritores físico-químicos, aplicação quimiométrica multivariada e estudos de ancoramento molecular”**, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 08 de outubro de 2014, às 13h, na Sala de Reuniões do IQB/UFAL.

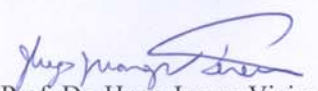
COMISSÃO JULGADORA


Prof.^a. Dr.^a. Valéria Rodrigues dos Santos Malta
Orientadora (PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Carlos Alberto de Simone
(Instituto de Física de São Carlos/USP)


Prof. Dr. Mariano Alves Pereira
(PPGQB/IQB/UFAL)


Prof.^a. Dr.^a. Tatiane Luciano Balliano
(PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Hugo Juarez Vieira Pereira
(PMBqBM/UFAL)

Para o grande amor de minha vida: mamãe!

AGRADECIMENTOS

Ao término de mais uma, de muitas relevantes conquistas, necessito fazer agradecimentos às pessoas que passaram por minha vida e contribuíram cada um de sua maneira, em minha formação, seja pessoal como profissional:

Primeiramente, e sempre, a Deus que a cada dia, mostra que estou no caminho certo, com as pessoas que necessitava estar, cumprindo as tarefas que necessito realizar. Aos seus ensinamentos, que me fazem ver, que sua presença encontra-se nas coisas mais simples e singelas; que o encontro tanto dentro de mim, quanto em cada um que cruza meu caminho, permitindo que nos tornemos melhores um com a presença do outro. Que me faz sempre pensar e agir, me colocando no lugar do outro, fazendo pelo outro o que gostaria que me fosse feito.

Aos meus pais (*in memoriam*), Maria Rosa e José João, que pelas suas atitudes, sempre mostraram que pela fé, venceremos todos os obstáculos que possam surgir em nossa vida. Pelo amor infinito que me doaram. De legado, deixaram-me a educação, que para eles, analfabetos, sempre foi o maior recurso que poderia possuir. De minha mãe, admiro sua delicadeza, firmeza e atitude de quem sabia o lugar que eu sempre chegaria e fez de seus sonhos os meus.

Ao meu irmão, Maurício, que assumiu posição de meu pai, abrindo mão de seus sonhos, para que eu conseguisse alcançar os meus. Um homem que aprendi a admirar e respeitar, como irmão e ser humano.

A minha sobrinha, Lara, que me fez conhecer outro tipo de amor, que não imaginava existir. Um pequeno ser, que ocupa um grande espaço na minha vida.

A minha cunhada Kelly, que se tornou um novo membro da família. Tornou-se extremamente relevante em minha vida, a partir do momento que faz meu irmão feliz e principalmente, por me presentear com o sorriso de Lara.

Aos companheiros do Laboratório de Cristalografia e Modelagem Molecular Giva, Jumelice, Alan, Galileu, Lucas e Cláudia, pela convivência, aprendizado, colaboração, descontração dentre outros momentos relevantes.

Aos professores do Laboratório de Cristalografia e Modelagem Molecular Valéria, Mariano e Tatiane pela convivência durante os seis anos de pós-graduação, onde adquirei novos conhecimentos, tanto pessoal como profissional.

À professora Nely Targino do Valle Cerqueira e o Núcleo de Pesquisa em Química da UNEAL, pela liberação e uso dos softwares ChemOffice e HyperChem.

À Sheyla e Ana Paula, pela amizade sincera e verdadeira que construímos ao longo destes anos e com toda certeza são relações ímpares em minha vida.

A todos os professores que tive durante estes longos anos de aprendizado, desde a educação infantil, ensino fundamental e médio, graduação e pós-graduação. A minha formação teve a contribuição de cada um de vocês, que contribuíram de forma única para meu crescimento pessoal e profissional. Muitos serviram de espelho, de guias, de exemplos que sigo e seguirei em minha carreira docente.

Agradeço ao professor Wander G. Botero pela contribuição na análise dos dados quimiométricos multivariados.

Agradeço ainda ao professor Fernando F. Fernandes pela sua gentileza e primorosa contribuição no tratamento dos dados quimiométricos multivariados.

Agradeço as pessoas que passaram por minha vida, que de todas as formas, cada uma teve uma contribuição, direta e/ou indireta, tanto profissional quanto pessoalmente, pois na vida, não conseguimos nada sozinho!

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo calcular descritores físico-químicos para uma classe de 22 compostos de derivados naftoimidazólicos que possuem atividade microbicida, bactericida, fungicida, tripanocida dentre outras. Os descritores também foram calculados para o benzonidazol, fármaco usado no tratamento da doença de Chagas e para o ravuconazol, fármaco que se mostra efetivo em todas as cepas do parasito. Após o cálculo dos descritores verificou-se quais destes seriam responsáveis pela separação destes compostos em ativos e inativos. Para tanto, as estruturas foram pré-otimizadas através de cálculos químicos da mecânica molecular e otimizadas em cálculos semi-empíricos, na base Austin Model 1. Após a otimização molecular, foram realizados cálculos quimiométricos multivariados para fazer a separação dos compostos em ativos e inativos e, verificar quais dos descritores calculados foram relevantes para a separação da classe de compostos. Foram efetuadas 4 análises quimiométricas de análise de componentes principais e análise hierárquica de agrupamentos, onde foi possível obter informações dos agrupamentos e das similaridades formadas para os compostos e para os descritores. Na última análise quimiométrica foi verificado que os compostos mais ativos foram FSE-1, FSE-2, FSE-13 e FSE-14 e que o descritor responsável pela atividade observada seria o ELUMO enquanto que aquele responsável pela inatividade seria o AE. Através dos cálculos dos orbitais de fronteira LUMO, foi possível verificar que o anel benzênico e o anel imidazol são regiões nas estruturas que favorecem a formação de interação molecular. Para o benzeno do naftaleno, observou-se que as posições *para* e *orto*, também são regiões de provável formação de interação molecular. Os mapas de potencial eletrostático calculados mostraram que agrupamentos com concentração de cargas negativas, não favorecem a atividade biológica dos derivados naftoimidazólicos. Para o cálculo do ancoramento molecular foi utilizada a enzima cruzaina de *T. cruzi*, devido sua importância em todos os estágios do ciclo de vida do parasito. Realizado o ancoramento molecular verificou-se que as interações mais relevantes são as de empilhamento, as interações com anel imidazol e interações nas posições *orto* e *para* do anel naftaleno para os derivados FSE.

Palavras-chave: Naftoimidazóis. Atividade biológica. Austin Model 1. Ancoramento Molecular.

ABSTRACT

This study aimed to calculate physicochemical descriptors for a class of 22 naphthimidazolic derived compounds that possess microbicidal, bactericidal, fungicidal, trypanocidal activity and so on. The descriptors were also calculated for benznidazole, a drug used in the treatment of Chagas disease and the ravuconazole, which shows itself effective in all strains of the parasite. After calculation of the descriptors found at which of these would be responsible for the separation of compounds into active and inactive. To do so, the structures were pre-optimized through chemical calculations of molecular mechanics and optimized by semi-empirical calculations, based on Austin Model 1. After the molecular optimization, multivariate chemometric calculations to make the separation of active and inactive compounds were performed and verify which of descriptors were calculated for separating the relevant class of compounds. Were made 4 chemometric analysis of principal component analysis and hierarchical cluster analysis, where information was available and the similarities of groups formed for the compounds and the descriptors. In the last chemometric analysis it was found that the most active compounds were FSE-1, FSE-2, FSE-13 and FSE-14 and the descriptor responsible for the observed activity would be ELUMO while that would be responsible for the inactivity was AE. Through calculations of the LUMO frontier orbitals, we found that the benzene ring and the imidazole ring are regions in structures that favor the formation of molecular interaction. For benzene of naphthalene, it was observed that the *para* and *ortho* positions are also regions of probable formation of molecular interaction. The electrostatic potential maps calculated showed that clusters with concentration of negative charges do not encourage biological activity of naphthimidazolic derivatives. To calculate the molecular anchoring it was used the cruzain enzyme from *T. cruzi* due its importance in all stages of the parasite life cycle. Realized molecular anchoring it was found that the most relevant interactions are stacking interactions and interactions with the imidazole ring in the *ortho* and *para* positions of the naphthalene ring of FSE derivatives.

Keywords: Naphthimidazoles. Biological activity. Austin Model 1. Molecular Docking.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Rotas de imigração a partir da América Latina e estimativa dos números de pessoas infectadas.....	19
Figura 2 –	Formas evolutivas do <i>T. cruzi</i> : a) forma epimastigota; b) forma amastigota e c) forma tripomastigota.....	20
Figura 3 –	Ciclo reprodutivo do <i>T. cruzi</i>	21
Figura 4 –	Estrutura química plana do benzonidazol.....	22
Figura 5 –	Estrutura química plana do ravuconazol.....	23
Figura 6 –	Mudanças bioisostéricas na estrutura química do benzonidazol.....	24
Figura 7 –	Representação da enzima cruzaina destacando a tríade catalítica: Cys25/His159/Asn175.....	26
Figura 8 –	Exemplos de alguns derivados de quinonas: (a) ubiquinona, (b) vitamina K e (c) tectoquinona.....	27
Figura 9 –	Estrutura química plana do lapachol.....	28
Figura 10 –	Alguns tipos de interações ligante-receptor.....	30
Figura 11 –	Estrutura de derivados da β -lapachona e cristal violeta. a) β -lapachona, b) fenazina derivada da β -lapachona e c) cristal violeta.	32
Figura 12 –	Estruturas de naftoimidazóis com ação tripanocida significativa.....	33
Figura 13 –	Fenazinas obtidas da β - lapachona.....	33
Figura 14 –	Fórmulas estruturais planas dos compostos FSE estudados.....	58
Figura 14 –	Fórmulas estruturais planas dos compostos estudados (continuação).....	59
Figura 14 –	Fórmulas estruturais planas dos compostos estudados (continuação)	60
Figura 15 –	Gráfico de escores para a primeira análise quimiométrica.....	65
Figura 16 –	Dendrograma de similaridade para os compostos na primeira análise quimiométrica	65
Figura 17 –	Gráfico dos loadings para a primeira análise quimiométrica.....	66
Figura 18 –	Gráfico de similaridade entre os descritores para a primeira análise quimiométrica.....	67

Figura 19 –	Gráfico de escores para a segunda análise quimiométrica	67
Figura 20 –	Dendrograma de similaridade para os compostos na segunda análise quimiométrica.....	69
Figura 21 –	Gráfico dos loadings para a segunda análise quimiométrica	69
Figura 22 –	Gráfico de similaridade entre os descritores para a segunda análise quimiométrica.....	70
Figura 23 –	Gráfico de escores para a terceira análise quimiométrica.....	71
Figura 24 –	Dendrograma de similaridade para os compostos na terceira análise quimiométrica	73
Figura 25 –	Gráfico dos loadings para a terceira análise quimiométrica	73
Figura 26 –	Gráfico de similaridade entre os descritores para a terceira análise quimiométrica.....	74
Figura 27 –	Gráfico de escores para a quarta análise quimiométrica.....	78
Figura 28 –	Dendrograma de similaridade para os compostos na quarta análise quimiométrica.....	79
Figura 29 –	Gráfico dos loadings para a quarta análise quimiométrica.....	80
Figura 30 –	Gráfico de similaridade entre os descritores para a quarta análise quimiométrica.....	80
Figura 31 –	Ancoramento molecular para o benzonidazol com a cruzaína	83
Figura 32 –	Ancoramento molecular para o ravuconazol com a cruzaína	85
Figura 33 –	Ancoramento molecular para a estrutura FSE-1 com a cruzaína.....	87
Figura 34 –	Ancoramento molecular para as estrutura FSE-2 com a cruzaína.....	89
Figura 35 –	Ancoramento molecular para a estrutura FSE-13 com a cruzaína....	91
Figura 36 –	Ancoramento molecular para a estrutura FSE-14 com a cruzaína....	93
Figura 37 –	Regiões de formação das interações de empilhamento.....	95
Figura 38 –	Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para alguns dos compostos inativos	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Resultados dos testes de atividade biológica para os derivados naftoimidazólicos frente às amostras sanguíneas de <i>T. cruzi</i>	57
Tabela 2 –	Porcentagens da variância de cada CP e da variância acumulada para a primeira análise quimiométrica	64
Tabela 3 –	Porcentagens da variância de cada CP e da variância acumulada para a segunda análise quimiométrica	68
Tabela 4 –	Porcentagens da variância de cada CP e da variância acumulada para a terceira análise quimiométrica.....	71
Tabela 5 –	Contribuição de cada componente principal para a equação dos descritores físico-químicos.....	74
Tabela 6 –	Valores de ΔG e K_i para os compostos mais ativos.....	82
Tabela 7 –	Estruturas, tipos de interação e comprimentos de interação para o benzonidazol.....	83
Tabela 8 –	Estruturas, tipos de interação e comprimentos de interação para o ravuconazol.....	85
Tabela 9 –	Estruturas, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE1.....	87
Tabela 10 –	Estruturas, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE-2.....	89
Tabela 11 –	Estruturas, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE-13.....	91
Tabela 12 –	Estruturas, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE-14.....	93
Tabela A1 –	Descritores físico-químicos calculados para os compostos estudados.....	118
Tabela A1 –	Descritores físico-químicos calculados para os compostos estudados (continuação).....	119
Tabela A1 –	Descritores físico-químicos calculados para os compostos estudados (continuação).....	120
Tabela B1 –	Orbitais de fronteira LUMO para os compostos estudados.....	122

Tabela B1 – Orbitais de fronteira LUMO para os compostos estudados (continuação).....	123
Tabela B1 – Orbitais de fronteira LUMO para os compostos estudados (continuação).....	124
Tabela C1 – Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para os compostos estudados.....	126
Tabela C1 – Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para os compostos estudados (continuação).....	127
Tabela C1 – Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para os compostos estudados (continuação).....	128

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Å	Angstrom
A	Área
AE	Afinidade eletrônica
AHA	Análise Hierárquica de Agrupamentos (Hierarchical Cluster Analysis)
AIDS	<i>Acquired Immuno Deficiency Syndrome</i> (Síndrome da Imunodeficiência adquirida)
AM1	Austin Model 1
Asn175	Asparagina 175
CDL	Comprimento de Ligação em Å
Cys25	Cisteína 25
D	Dureza
E	Eletronegatividade
EE	Energia eletrônica
E _{HIDRAT}	Energia de hidratação
E _{HOMO}	Energia do HOMO
E _{LUMO}	Energia do LUMO
ET	Energia total
Gln19	Glutamina 19
Gln21	Glutamina 21
Gly23	Glicina 23
His159	Histidina 159
IRL	Interação Resíduo Ligante
LogP	Logaritmo de partição
MM	Massa molecular
Mm	Modelagem molecular
MD	Momento Dipolar
MET142	Metionina 142
MQ	Mecânica Quântica
P	Coeficiente de partição
PCA	Principal Component Analysis (Análise de Componentes Principais)
PI	Potencial de ionização

PM3	Parametric Model 3
POLAR	Polarizabilidade
RA	Relative activity (atividade relativa)
RM	Refratividade Molar
S	Moleza
SAR	Structure-Activity Relationships (Relações estrutura-atividade)
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanossoma cruzi</i>
Trp177	Triptofano 177
V	Volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 DOENÇA DE CHAGAS	18
2.1 Ciclo biológico do <i>T. cruzi</i>	21
2.1.1 Tratamento e prevenção da doença de Chagas	22
2.1.2 A enzima cruzaina	25
2.2 Quinonas e seus derivados	27
2.3 Aplicação da Química Medicinal na busca de novos fármacos	29
2.3.1 Contribuição de Grupos de pesquisas na busca de novos fármacos	31
2.3.2 Fases farmacodinâmica e farmacocinética.....	34
2.3.2.1 Fase farmacocinética.....	35
2.3.2.2 Fase farmacodinâmica.....	36
3 QUÍMICA COMPUTACIONAL NO DESENHO DE FÁRMACOS	38
3.1 Modelagem Molecular	38
3.2 Métodos de química computacional	38
3.2.1 Método da Mecânica Clássica	39
3.2.2 Métodos da Mecânica Quântica	40
3.2.2.1 Método <i>ab initio</i> e Método <i>semi-empírico</i>	41
3.3 Ancoragem molecular ou método de docking	42
3.4 Propriedades físico-químicas relevantes em estudos de relação estrutura-atividade (SAR)	45
3.4.1 Cálculos Teóricos para obtenção das propriedades físico-químicas	45
3.4.1.1 Parâmetros eletrônicos empíricos	45
3.4.1.2 Parâmetros eletrônicos semi-empíricos	47
3.4.1.3 Parâmetro de lipofilicidade	50
3.4.1.4 Parâmetros estéricos e geométricos	51
3.5 Quimiometria	53
3.5.1 Cálculos quimiométricos	53
3.5.1.1 Análise de Componentes Principais – PCA.....	53
3.5.1.2 Análise por Agrupamentos Hierárquicos – HCA.....	55

4 METODOLOGIA	57
4.1 Estruturas dos compostos estudados	57
4.2 Obtenção das propriedades físico-químicas	61
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	64
5.1 Resultados e Discussões das análises quimiométricas	64
5.1.1 Primeira análise quimiométrica	64
5.1.2 Segunda análise quimiométrica	67
5.1.3 Terceira análise quimiométrica	70
5.2 Análise e discussão do ancoramento molecular	81
5.2.1 Ancoramento molecular	76
6 CONCLUSÕES	99
REFERÊNCIAS	102
APÊNDICE A – Descritores Físico-Químicos	117
APÊNDICE B – Orbitais de fronteira LUMO	121
APÊNDICE C – Mapa de potenciais eletrostáticos	125

1 INTRODUÇÃO

Apesar do grande avanço na ciência, nos últimos anos, ainda nota-se nos países desenvolvidos, um grande número de pessoas acometidas de diversas doenças, algumas sem cura até o momento. Dentre estas enfermidades, destaca-se a doença de Chagas, transmitida através da picada do besouro barbeiro. Atualmente, alguns centros de pesquisas, inclusive centros no Brasil, vêm desenvolvendo trabalhos na área de química sintética e/ou computacional, com o intuito de encontrar substâncias químicas que possam ser usadas para o tratamento da doença de Chagas.

Esta necessidade surge, tendo em vista que, os fármacos atualmente empregados no controle desta doença, o benzonidazol e mais recentemente, o ravuconazol, não são tão eficazes e apresentam efeitos colaterais indesejáveis quando administrados. Compartilhando do mesmo ensejo, de auxiliar pesquisas sobre desenvolvimento de novos fármacos, este trabalho teve por objetivo, contribuir com a investigação de substâncias químicas, excepcionalmente derivados naftoimidazólicos, que possam ser usados no tratamento da doença de Chagas, fazendo-se uso de métodos de cálculos de química computacional.

Sendo assim, a primeira etapa deste trabalho consistiu em realizar cálculos computacionais para os derivados naftoimidazólicos, levando-se em conta os conceitos da mecânica molecular, uma vez que não foi possível obter dados cristalográficos devido à indisponibilidade de amostras, e desta forma foram calculados ângulos e distâncias interatômicos teóricos para cada uma das estruturas. Em seguida, foram efetuados cálculos semi-empíricos, baseados na mecânica quântica, para obtenção dos descritores físico-químicos, relevantes em estudos de relação estrutura-atividade (SAR). Tais descritores são classificados como eletrônicos empíricos e eletrônicos semi-empíricos, descritor de lipofilicidade e descritores estéricos.

Após a obtenção dos descritores físico-químicos, foi aplicada a técnica quimiométrica multivariada para análise de componentes principais e análise

hierárquica de agrupamentos. Sendo que, a análise de componentes principais teve como objetivo fazer a separação dos compostos em ativos e inativos, enquanto que a análise de hierárquica de agrupamentos forneceu a similaridade entre os compostos.

Finalmente, depois de feita a classificação dos compostos, em ativos e inativos, foram realizadas investigações de ancoramento molecular para os compostos mais ativos, frente à enzima cruzaina de *Trypanosoma cruzi*. Esta enzima desempenha um papel vital em todos os estágios do ciclo de vida do parasito, como degradação da proteína para nutrição, remodelamento da célula do hospedeiro e evasão dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Através do ancoramento molecular, foi possível verificar quais interações formadas, entre cada estrutura e o sítio ativo da enzima, favorecendo a sua inibição e contribuindo para o uso em estudos posteriores de síntese de novos fármacos sem uso de animais.

2 DOENÇA DE CHAGAS

As doenças infecciosas, provocadas por parasitos, afetam milhões de pessoas, nas regiões geográficas mais pobres do planeta e, representam uma ameaça mundial crescente. Enfermidades, como por exemplo, a doença de Chagas, a leishmaniose, malária e doença do sono são responsáveis por incapacitarem, anualmente, uma fração significativa da população dos vários países em desenvolvimento onde estas doenças se encontram (KETTER e MARJANOVIC, 2004).

Tais enfermidades são um obstáculo para o desenvolvimento social e econômico dos países mais pobres, sendo frequentemente chamadas de “doenças negligenciadas”, “doenças órfãs” ou ainda “doenças tropicais” (NWAKA e RIDLEY, 2003). Dentre as enfermidades citadas, foi feita neste trabalho uma abordagem sobre a doença de Chagas, uma vez que os compostos estudados apresentam possivelmente atividade frente à enzima cruzaina do protozoário *T. cruzi*.

Na classificação biológica, o sub-reino *Protozoa* possui membros de grande importância médica, veterinária e agropecuária. Pertencem a este grupo protozoários causadores de doenças humanas, de gado e animais domésticos, além de algumas espécies patogênicas para os vegetais. Este grupo constitui a família *Trypanosomatidae*, da ordem *Kinetoplastida* (DO CAMPO et al., 2005).

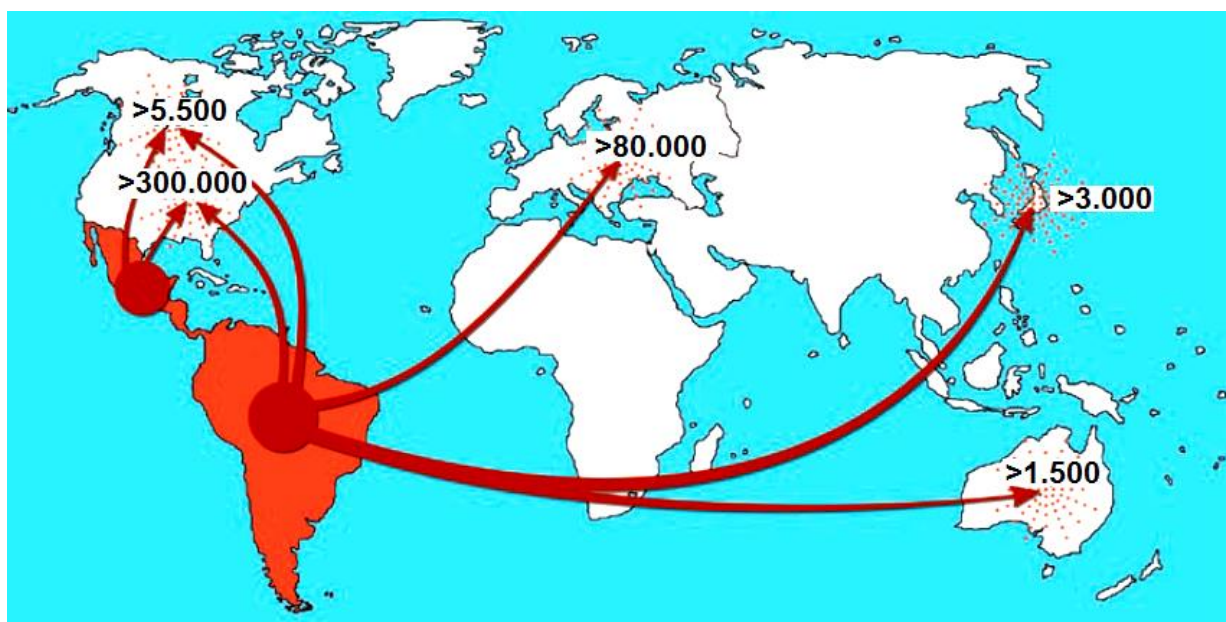
Dos nove gêneros de tripanossomatídeos, são reconhecidos os gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma*, que apresentam espécies de grande importância médica e econômica. Os membros do gênero *Trypanosoma* parasitam todas as classes de vertebrados, ou seja, peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos. A grande maioria vive no sangue e outros fluidos corpóreos do hospedeiro, mas algumas espécies, como o *Trypanosoma cruzi*, podem invadir e se replicar no interior das células (SATOSKAR et al., 2009).

A tripanosomíase americana ou doença de Chagas, descoberta em 1909 pelo médico brasileiro Carlos Chagas, é causada pelo protozoário parasita

Trypanosoma cruzi. No início estava associada às populações pobres e rurais, porém, a partir da década de 1940 quando o processo de urbanização iniciou-se, esta passou a ser um problema urbano de importância médica e social (ENGELS e SAVIOLI, 2006). Atualmente, é um dos principais problemas socioeconômicos enfrentados na América Latina, sendo a terceira parasitologia de maior incidência depois da malária e esquistossomose (CAROD-ARTAL e GASCON, 2010).

Esta enfermidade afeta cerca de 18 milhões de pessoas, num total de 20 países acometidos nas Américas, causando aproximadamente 50 mil mortes por ano, sendo que, outros 100 milhões de indivíduos vivem em áreas de risco de contaminação (DIAS et al., 2009). Através da migração das pessoas, seja por melhores condições de trabalho ou apenas turismo, a doença de Chagas já é diagnosticada em diferentes regiões da Terra (Figura 1): Estados Unidos (> 300.000 infectados), Canadá (> 5.500), Japão (> 3.000), Austrália (> 1.500) e em mais de dez países da Europa (> 80.000), incluindo Reino Unido, França e Portugal (COURA e VIÑAS, 2010).

Figura 1 – Rotas de imigração a partir da América Latina e estimativa dos números de pessoas infectadas.






Fonte: COURA e VIÑAS, 2010

A doença de Chagas é transmitida, na maior parte dos casos, por insetos hematófagos (parasita invertebrado), conhecidos por barbeiros, da família *Reduviidae*. A contaminação se dá após a picada do inseto. No momento que ele suga o sangue, libera junto com as fezes, as espécies infectantes do parasito que penetram na pele do hospedeiro vertebrado (WHO, 2012).

O local da picada, chamado de chagoma, torna-se avermelhado e com inchaço dolorido; quando a infecção ocorre na conjuntiva é denominada de romanã. O *T. cruzi* apresenta um complexo ciclo biológico, caracterizado por três estágios evolutivos observados nos hospedeiros vertebrados e invertebrados (Figura 2).

Figura 2 – Formas evolutivas do *T. cruzi*: a) forma epimastigota; b) forma amastigota e c) forma tripomastigota.

	<p>a) Forma epimastigota: presente no intestino do vetor apresenta cinetoplasto localizado lateral ao núcleo, e o flagelo emerge lateralmente ao corpo celular (COURA e CASTRO, 2002).</p>
	<p>b) Forma amastigota: forma de replicação intracelular caracterizada por apresentar pequenas dimensões, corpo arredondado, praticamente imóvel, localizada no interior da célula hospedeira. Possui um núcleo relativamente grande, redondo e excêntrico e um flagelo curto, visível apenas por microscopia eletrônica.</p>
	<p>c) Forma tripomastigota: característica das formas sanguícolas (hospedeiro vertebrado) e metacíclicas (hospedeiro invertebrado). Possui cinetoplasto localizado na região posterior ao núcleo, por onde emerge o flagelo, que se encontra ligado ao corpo celular, por quase todo o corpo do parasito, responsável por sua locomoção.</p>

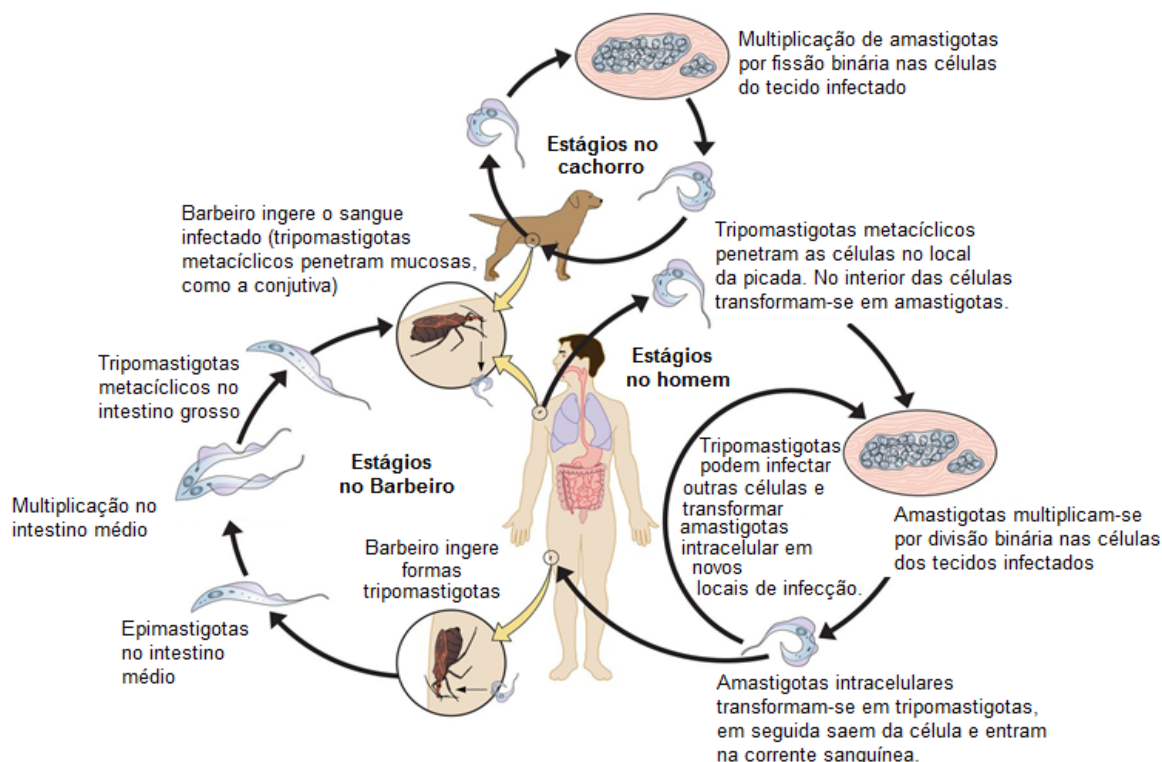
Fonte: DIAS et al., 2009

Estas três formas de diferenciação do parasito e suas formas de replicação são vistas no seu ciclo biológico, visto a seguir.

2.1 Ciclo biológico do *T. cruzi*

O ciclo biológico do *T. cruzi* (Figura 3), no hospedeiro invertebrado, inicia-se quando os triatomíneos vetores alimentam-se do sangue do hospedeiro vertebrado, neste ciclo o animal é cachorro. Formas tripomastigotas, presentes na corrente circulatória do hospedeiro vertebrado, são ingeridas pelo inseto. Chegando ao estômago do inseto, as formas tripomastigotas diferenciam-se em formas epimastigotas. As formas epimastigotas dirigem-se ao intestino, onde se multiplicam repetidamente por divisão binária (KOLLIEN e SCHAUB, 2000; ANDRADE e ANDREWS, 2002).

Figura 3 – Ciclo reprodutivo do *T. cruzi*.



Fonte: ESCH e PETERSEN, 2013.

No reto, certa proporção de epimastigotas diferencia-se em tripomastigotas metacíclicos, que são eliminados pelas fezes e urina, quando o besouro pica o

hospedeiro vertebrado (DI NOIA et al., 2002). Os parasitos, depositados na pele do hospedeiro vertebrado, podem ter acesso às células do sangue e, posteriormente, aos demais tecidos, através de lesão pré-existente na pele ou de lesão ocorrida durante a picada do inseto (SOUZA, 2002b; ATWOOD, 2005).

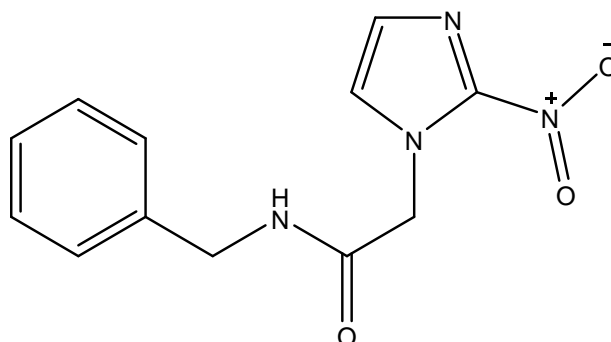
As formas tripomastigotas metacíclicas diferenciam-se em amastigotas que são responsáveis pela proliferação intracelular do parasito; as formas amastigotas após várias replicações diferenciam-se novamente em tripomastigotas, que são liberados na corrente sanguínea (YOSHIDA et al., 2006; TYLER, 2001).

Após o período de infecção, são observados os seguintes sintomas: febre, mal-estar, falta de apetite, aumento do fígado e do baço e inchaço ocular, no caso em que as fezes entrarem em contato com os olhos (TYLER e ENGMAN, 2001). Na fase crônica, o mal de Chagas pode destruir a musculatura dos órgãos atingidos (principalmente a do coração e do cérebro), provocando o aumento destes, de forma irreversível e, é neste caso, onde ocorrem os casos de morte (REY, 2002).

2.1.1 Tratamento e prevenção da doença de Chagas

Atualmente, o único medicamento usado para o tratamento da doença de Chagas é o benzonidazol (Figura 4), produzido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE, que obteve os direitos de produção cedidos pela Roche, desde 2008. Entretanto, este fármaco apresenta baixa eficácia frente ao parasito além de apresentar efeitos colaterais indesejáveis (GIORDANENGO et al., 2002, DINIZ, 2010).

Figura 4 – Estrutura química plana do benzonidazol.

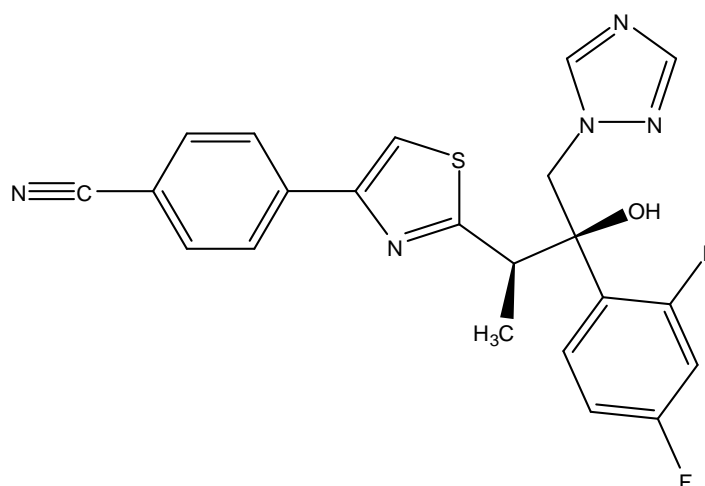


Fonte: DIAS et al., 2009.

Dentre os efeitos colaterais do benzonidazol pode-se citar: anorexia, vômitos e dermatite alérgica, provavelmente como consequência dos danos oxidativos ou redutivos no tecido do hospedeiro (OLIVEIRA, 2008). Vale ressaltar que o nifurtimox, outra alternativa de fármaco, deixou de ser utilizado no tratamento do mal de Chagas desde 2008 no Brasil, Uruguai e Paraguai, devido sua incapacidade em tratar os pacientes chagásicos, devido a altos efeitos colaterais (CERECETTO e GONZÁLEZ, 2010; OLIVEIRA et al., 2010; DINIZ et al., 2010).

A partir do ano de 2010, um novo medicamento começou a ser testado em pacientes chagásicos, o ravuconazol (Figura 5). O novo fármaco mostrou-se bastante eficaz impedindo a multiplicação e invasão das células pelo protozoário de *T. cruzi*. O ravuconazol foi ativo na fase crônica da doença, o que não acontece com o benzonidazol. Este medicamento foi produzido pela indústria farmacêutica japonesa Eisai em parceria com a DNDi (*Drugs for Neglected Diseases initiative*) (OSAKABE, 2010).

Figura 5 – Estrutura química plana do ravuconazol.



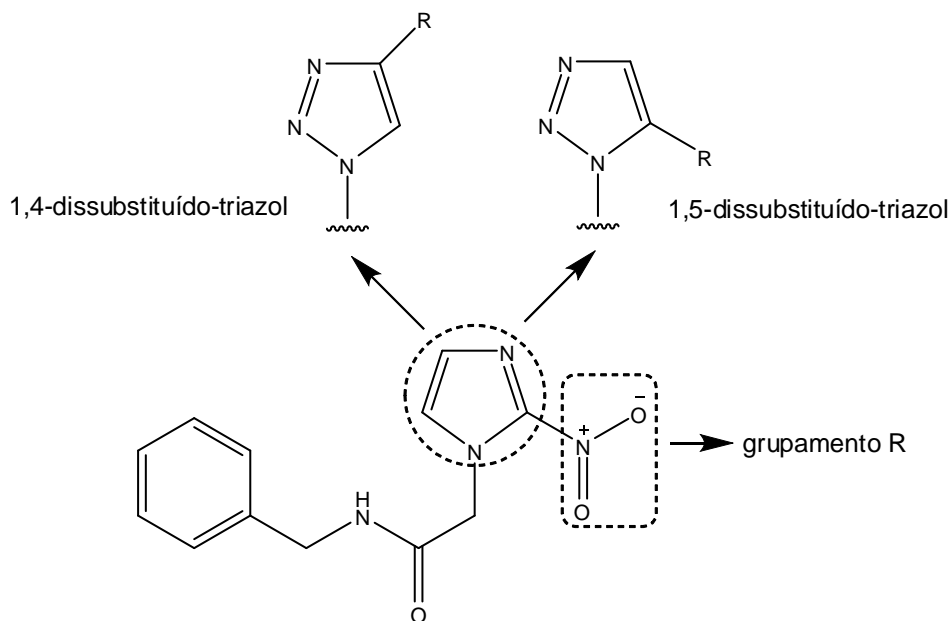
Fonte: OSAKABE, 2010.

Os direitos de testes em seres humanos foram cedidos à DNDi e envolve sete entidades: Fundação Oswaldo Cruz, Conselho Indiano de Pesquisa Médica, Instituto de Pesquisa Médica do Quênia, Ministério de Saúde da Malásia, Instituto Pasteur da França, Médicos sem Fronteira e Programa Especial para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais (OSAKABE, 2010).

Recentemente, os pesquisadores João Santana da Silva e Carla Duque Lopes, da Universidade de São Paulo, verificaram que uma nova molécula, derivada do benzonidazol, é capaz de matar o parasito, sem ser tóxica às células humanas. O próximo passo serão os testes em camundogos para posteriormente iniciarem testes em pacientes chagásicos. A nova molécula foi obtida por modificações bioisostéricas na estrutura química do benzonidazol (OLIVEIRA, 2014).

As modificações consistiram em substituir o anel imidazol por anel triazol (C_2N_3H) e o grupo nitro ($-NOO^-$) por cadeias laterais alquilas, anéis aromáticos e grupos funcionais diversos (Figura 6). A nova molécula mostrou-se eficaz nos testes *in vitro* realizados, sendo capaz de matar o parasito na fase tripomastigota metacíclica, o que não acontece com o benzonidazol na fase crônica da doença de Chagas (GONÇALVES, 2014).

Figura 6 – Mudanças bioisostéricas na estrutura química do benzonidazol.



R = cadeias laterais alquilas, anéis aromáticos e grupos funcionais diversos.

Fonte: OLIVEIRA, 2014.

Como o ravuconazol e este novo protótipo ainda estão em fases de testes, a procura por outros medicamentos não cessa. Tentando obter fármacos mais ativos frente ao *T. cruzi* e com menos efeitos colaterais, a química medicinal faz uso das mais variadas ferramentas para o planejamento de novos fármacos anti-chagásicos.

Assim, tem-se a contribuição da bioquímica/biologia molecular, química computacional, farmacologia, química orgânica e inorgânica, cristalografia de raios X etc.

Para a prevenção da doença de Chagas deve-se limitar a exposição a insetos ou animais silvestres infectados com *T. cruzi*. Evitar moradias precárias, como casas de barro, as quais são ambientes favoráveis à proliferação dos insetos triatomíneos. O uso de mosquiteiros e repelentes também é recomendado para pessoas que moram ou visitam as áreas com insetos transmissores. Barreiras de proteção para aqueles que trabalham com o *T. cruzi* no ambiente de laboratório, tais como roupas de proteção, luvas e óculos de segurança é uma obrigatoriedade (REY, 2002; CERECETTO e GONZÁLEZ, 2010).

Outra prática que está sendo muito comum, não só no Brasil, mas nos Estados Unidos e Europa (regiões não endêmicas para esta patologia), é a triagem sorológica de sangue doado, cujo objetivo é diminuir o número de pessoas que podem receber sangue contaminado (CASTRO et al., 2006).

Após uma breve descrição sobre a doença de chagas, o ciclo biológico do *T. cruzi*, seu tratamento e prevenção, passaremos a descrever a enzima cruzaina presente no ciclo do parasito.

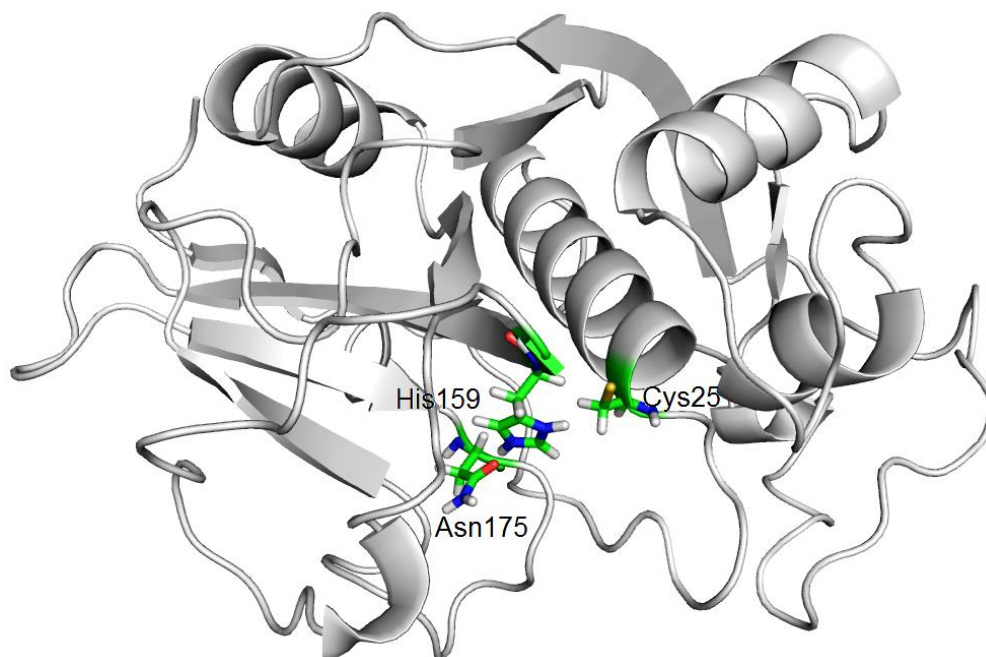
2.1.2 A enzima cruzaina

A enzima cruzaina é uma cisteíno protease. O interesse nas cisteíno proteinases deriva de seu reconhecimento como espécies relevantes no ciclo de vida de muitos parasitos dentre estes, o parasito da doença de Chagas, o *T. cruzi* (STEMPIN et al., 2004).

As cisteíno proteases são enzimas proteolíticas que possuem os resíduos de cisteína e histidina em seu sítio catalítico; entretanto algumas destas enzimas apresentam outros dois resíduos importantes para a catálise que incluem um glutamato e uma asparagina (RZYCHON et al., 2004). No sítio catalítico dessas enzimas encontram-se os aminoácidos cisteína e histidina auxiliados por uma

glutamina e uma asparagina (na seguinte ordem: Glutamina 19 (Gln19), Cisteína 25 (Cys25), Histidina 159 (His159) e Asparagina 175 (Asn175), que é a numeração da papaína) (Figura 7).

Figura 7 – Representação da enzima cruzaina destacando a tríade catalítica: Cys25/His159/Asn175.



Fonte: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>, 2014.

Estudos realizados sugerem que a enzima cruzaina seria a responsável pela resistência do *T. cruzi* aos fármacos testados e a baixa atividade do benzonidazol, em testes *in vitro* frente às formas epimastigota e tripomastigota, no tratamento da doença de Chagas (FILHO et al., 2009; SCHARFSTEIN, 2012). Em todos os estágios de desenvolvimento do parasito suspeita-se que a cruzaina apresenta atuação relevante (BONALDO et al., 1991; TOMAS, MILES e KELLY, 1997; BRAK, 2010). É provável sua atuação também na invasão celular (SANTOS et al., 2005), e multiplicação do parasito nas células do hospedeiro. Além disso, também tem sido proposto que a enzima exerça papel relevante no sistema imune do hospedeiro (GIORDANENGO et al., 2002; WIEDERANDERS, 2003).

Esta enzima apresenta a tríade catalítica formada pelos resíduos Cys25, His159 e Asn175. O grupo tiol (-SH) do resíduo de Cys25 é um bom nucleófilo e sua atividade é aumentada quando este grupamento está próximo do resíduo de His159,

que age como um doador de prótons. O grupo -SH da cadeia lateral da Cys25 e o grupo imidazol (-C₃H₃N₂) da His159 formam a díade catalítica tiolatoimidazol, par-iônico responsável pela atividade catalítica da enzima (SAJID e McKERROW, 2002).

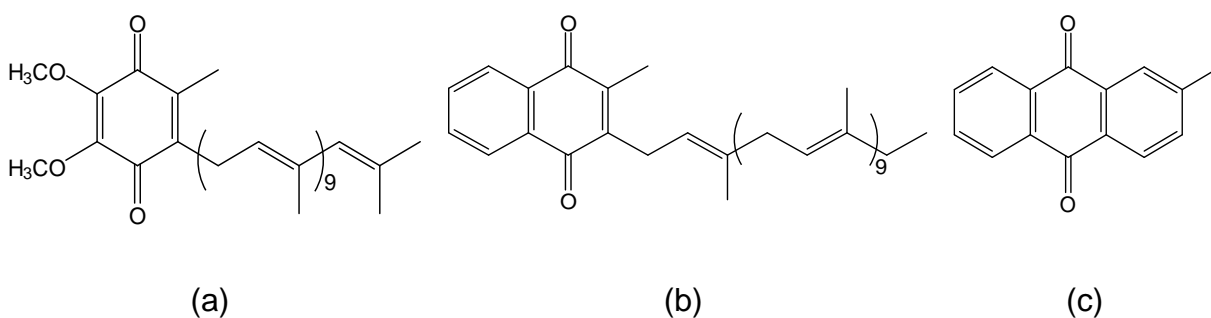
Devido à sua abundância e grande expressão em todos os estágios do ciclo de vida do parasito de *T. cruzi*, a cruzaina vem sendo extremamente estudada e utilizada como modelo para o desenho de novos fármacos com o objetivo de inibir sua atividade e, conseqüentemente, evitar a proliferação do parasito no organismo humano (MAYA et al., 2003; SANTOS et al., 2005).

Tendo em vista a baixa atividade e os efeitos colaterais do benzonidazol, já citados, e as pesquisas ainda iniciais para o ravuconazol, novas classes de compostos estão sendo sintetizadas e testadas para verificação de sua possível atividade frente à enzima cruzaina (ROMANHA et al., 2002; MAYA et al., 2007). Uma classe destes compostos é a de derivados da β -lapachona: naftoquinonas e fenazinas (CERECETTO e GONZÁLEZ, 2010). Desta forma será apresentado um breve comentário sobre esta classe das quinonas.

2.2 Quinonas e seus derivados

As quinonas, divididas em diferentes grupos (Figura 8), representam uma diversificada classe de metabólitos naturais da família das *Bignoneáceas*, abundantes em florestas tropicais. No Brasil, há mais de 46 tipos destas árvores conhecidas popularmente como ipê-roxo, pau-d'arco, lapacho etc. (*Tabebuia sp*) (MOURA et al., 2001, MOREIRA et al., 2006):

Figura 8 – Exemplos de alguns derivados de quinonas: (a) ubiquinona, (b) vitamina K e (c) tectoquinona.



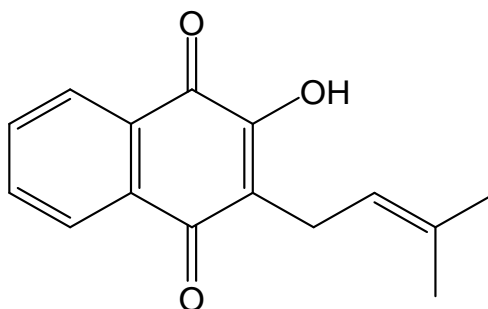
Fonte: MOREIRA et al., 2006

Nos últimos anos, intensificou-se o interesse nesta classe de substâncias, não só devido à sua importância nos processos bioquímicos vitais, como também ao destaque, cada vez maior, que apresentam em variados estudos farmacológicos de atividade anticâncer e antiparasitária (CAVALCANTE et al., 2008; COSTA, 2009). Em estudos farmacológicos, as quinonas mostram variadas biodinamicidades, destacando-se, dentre muitas, as propriedades microbicidas, tripanossomicidas (MOURA et al., 2001), viruscidas, antitumorais e inibidoras de sistemas celulares reparadores, processos nos quais atuam de diferentes formas (MATÉS e SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, 2000).

As naftoquinonas são substâncias naturais de extensa distribuição em diferentes famílias de plantas, fungos e alguns animais (MAHAPATRA et al., 2007). Muitas das naftoquinonas desempenham importantes funções em processos bioquímicos, como por exemplo, a vitamina K, que atua na coagulação sanguínea (SILVA et al., 2003). Devido este envolvimento no metabolismo, esta classe de substância tem sido extensivamente estudada com respeito a suas várias propriedades biológicas (FRANCO et al., 2011).

Dentre as naftoquinonas naturais destaca-se o lapachol (Figura 9), que pode ser considerado um dos principais representantes do grupo de quinonas das tabebuias. Juntamente com seus derivados apresenta atividades tais como: antimicrobiana e antifúngica (GAFNER, 1996); cercaricida (SANTOS et al., 2000); ação moluscicida (SANTOS et al., 2001); leishmanicida (TEIXEIRA et al., 2001; KAYSER et al., 2000); tripanossomicida (MATÉS e SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, 2000; PINTO et al., 2000; MOURA et al., 2004).

Figura 9 – Estrutura química plana do lapachol.



Fonte: SANTOS et al., 2000.

O conhecimento destas atividades farmacológicas foi o responsável pelas inúmeras iniciativas de diversos grupos de pesquisas, em realizar trabalhos utilizando substâncias derivadas das quinonas frente às doenças negligenciadas. Estes estudos juntamente com pesquisas na área computacional auxiliam grandemente a área de química medicinal, como será abordado no item seguinte.

2.3 Aplicação da Química Medicinal na busca de novos fármacos

De acordo com a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), a química medicinal é uma área de pesquisa com base em química, envolvendo a criação, a descoberta, o planejamento, a identificação, a preparação e a interpretação do mecanismo de ação molecular de compostos biologicamente ativos (VERLI e BARREIRO, 2005). Assim, fica claro o estabelecimento de interfaces fundamentais entre as ciências químicas, biológicas, farmacêuticas, médicas, físicas e computacionais (WERMUTH, 2003).

O processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos é complexo, longo (8 a 10 anos) e de alto custo, estando sua origem ligada às inovações científicas e tecnológicas. Nos estágios iniciais da fase de descoberta de um novo fármaco, as pesquisas se concentram, geralmente, na identificação e otimização de moléculas pequenas, com potencial de desenvolvimento clínico (GUIDO e ANDRICOPULO 2008; MACHADO, 2011).

O alvo biológico selecionado pode ter a sua estrutura tridimensional conhecida ou não, fato que determina a priorização de estratégias de planejamento (GUIDO e ANDRICOPULO, 2008) obtenção destes alvos, onde os avanços da genômica aliados à evolução das técnicas de cristalografia de raios X e ressonância magnética nuclear (RMN) proporcionam um aumento significativo no número de alvos moleculares com estruturas 3D para estudos de *in silico* na busca de novos fármacos (THOMAS, 2003).

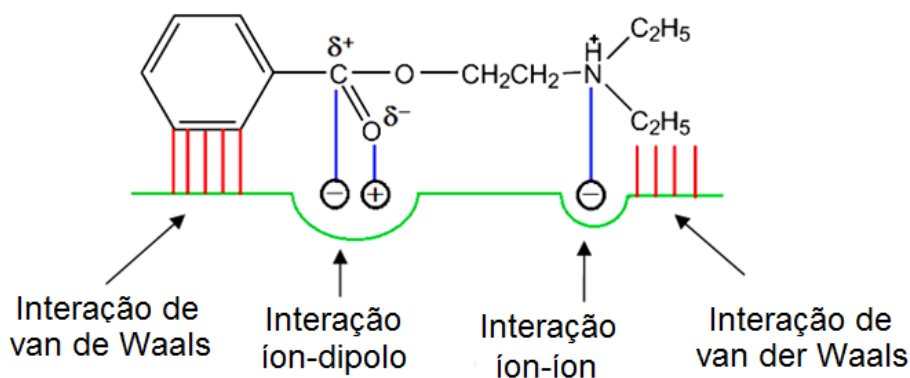
A etapa de criação de novo fármaco pode e deve ser auxiliada com a aplicação de estudos de relação estrutura-atividade. O termo “relação estrutura-atividade” compreende o estudo dos efeitos que a estrutura química de um

composto pode causar durante sua interação com uma macromolécula (proteína), e conseqüentemente, racionalizar os principais fatores que governam esta interação (ARROIO, HONÓRIO e SILVA, 2010).

Nestes estudos, as propriedades dos compostos bioativos, que são reflexo de sua estrutura química, podem ser descritas quantitativamente por descritores físico-químicos tais como: energia do orbital molecular HOMO e orbital molecular LUMO, relevantes em reações nas quais atuam como nucleófilo e eletrófilo, respectivamente. Outros descritores são afinidade eletrônica (importante quando o fármaco é ativo na forma aniônica), potencial de ionização (importante quando o fármaco é ativo na forma catiônica) e logaritmo de partição com o qual verifica-se a solubilidade da molécula em meio aquoso ou meio orgânico (ARROIO, 2004; TAVARES, 2004).

Para que as interações ocorram, entre o ligante e a macromolécula, é necessária uma complementaridade entre ambos, permitindo o estabelecimento de interações como: dipolo-dipolo, íon-íon, ligações de hidrogênio e forças de *van der Waals* (Figura 10) (SANT'ANNA, 2009).

Figura 10 – Alguns tipos de interações ligante-receptor.



Fonte: Adaptado de ARROIO, 2010.

Estudos de SAR são de grande importância na química e bioquímica modernas, cujo objetivo é planejar compostos com propriedades desejadas, utilizando intuição e experiência química de uma forma matematicamente quantificada e computadorizada (VERLI e BARREIRO, 2005; ARROIO, HONÓRIO e

SILVA, 2010). Mais detalhes sobre as propriedades físico-químicas ou parâmetros físico-químicos em estudos de relação estrutura-atividade serão vistos no tópico 4 que aborda a metodologia.

A seguir, serão vistos alguns compostos derivados das quinonas, especialmente derivados do lapachol e/ou da β -lapachona, sintetizados por grupos de pesquisa brasileiros, através da aplicação dos conhecimentos e técnicas em química medicinal, bioisosterismo e estudos de relação estrutura-atividade.

2.3.1 Contribuição de Grupos de pesquisas na busca de novos fármacos

O conhecimento das propriedades químicas das quinonas e seus derivados frente à parasitos humanos, foi o ponto de partida para que, grupos de pesquisas brasileiros, fizessem uso da flora do nosso extenso país para a obtenção e síntese de derivados destes compostos.

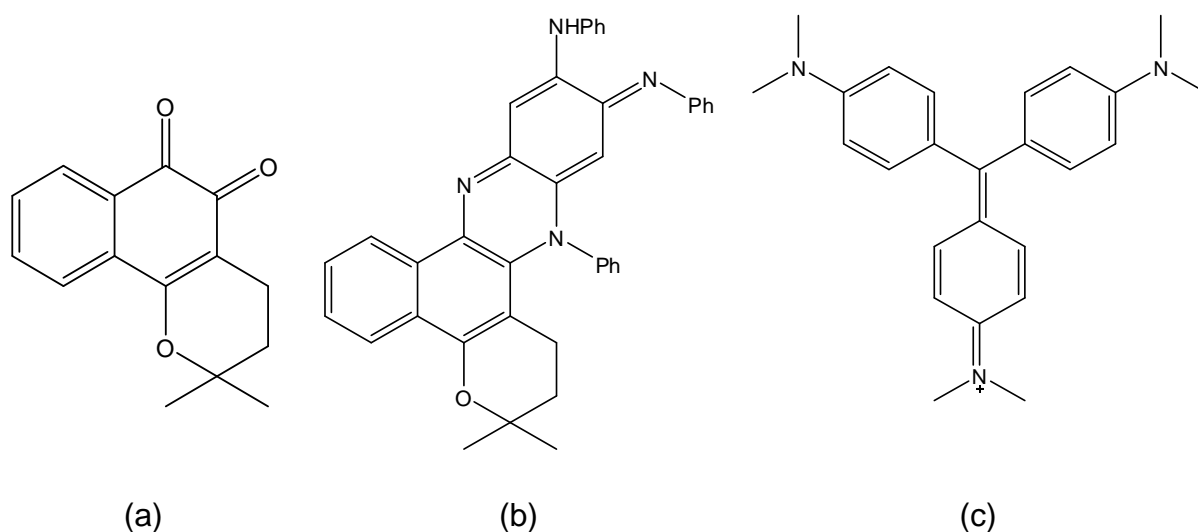
Estes estudos farmacológicos no Brasil tiveram início com O. G. de Lima da Universidade Federal de Pernambuco, nos anos de 1960 e por B. Gilberto da Universidade Federal do Rio de Janeiro, na década de 1970. Desde então, vários outros pesquisadores, como o prof. A. V. Pinto (*in memoriam*), do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais (NPPN) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), desenvolveram pesquisas com este grupo de naftoquinonas e seus derivados semi-sintéticos, em estudos farmacológicos e químicos de diversos tipos (SILVA, et al., 2006).

Dentre os derivados naftoquinônicos, a β -lapachona (Figura 11a) e seus derivados são os que apresentam maior atividade frente ao *T. cruzi* (TEIXEIRA et al., 2001; SILVA et al., 2003). Da reação da β -lapachona com excesso de anilina leva à uma fenazina (Figura 11b), nove vezes mais ativa que o cristal violeta ou violeta genciana (Figura 11c) frente à forma infecciosa tripomastigota de *T. cruzi* (NEVES-PINTO et al., 2002; PITA e PASCUTTI, 2011).

Outros derivados heterocíclicos da β -lapachona apresentam maior atividade tripanossomicida *in vitro* que as naftoquinonas correspondentes (SILVA et al., 2007),

destacando aqueles com anel imidazólico (Figura 12c) (CERECETTO e GONZÁLEZ, 2010). Trabalhos recentes mostraram que a fenazina (Figura 11b) apresentou uma atividade superior ao do naftoimidazol (Figura 12c) em testes contra o *T. cruzi* (FERREIRA et al., 2011).

Figura 11 – Estrutura de derivados da β -lapachona e cristal violeta. a) β -lapachona, b) fenazina derivada da β -lapachona e c) cristal violeta.

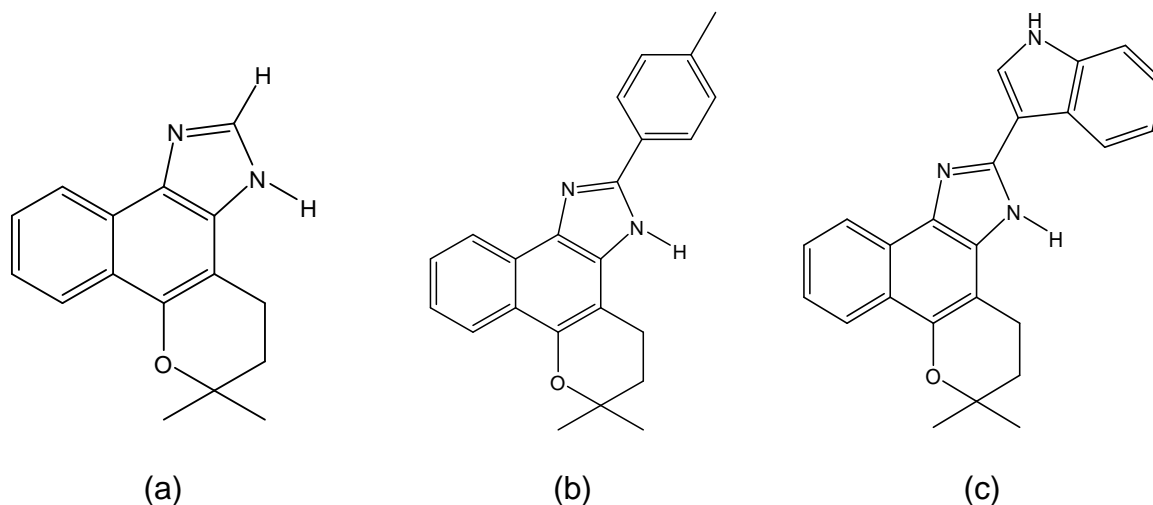


Fonte: CERECETTO e GONZÁLEZ, 2010.

O grupo do pesquisador A. V. Pinto e colaboradores foi o que mais explorou reações de formação de heterociclos no sistema quinonóidico da β -lapachona. Diversos derivados contendo os sistemas imidazólico, oxazólico, fenoxazínico, indólico, dipirânico e ciclopentênico foram sintetizados e avaliados frente a alguns alvos farmacológicos (SILVA et al., 2005; BENITES et al., 2008; FERREIRA et al., 2010).

Dentre os derivados sintetizados, três (Figura 12) apresentaram alta atividade tripanocida frente às três formas do *T. cruzi*. O composto 12a é 10,6 vezes mais ativo do que a β -lapachona frente às formas tripomastigotas, epimastigotas e amastigotas. Sugere-se que a alta atividade dos naftoimidazóis contra o *T. cruzi*, especialmente de 12a, pode estar relacionada com o anel imidazol, grupo também presente em várias substâncias com atividade tripanocida, como o benzonidazol (MENNA-BARRETO et al., 2005).

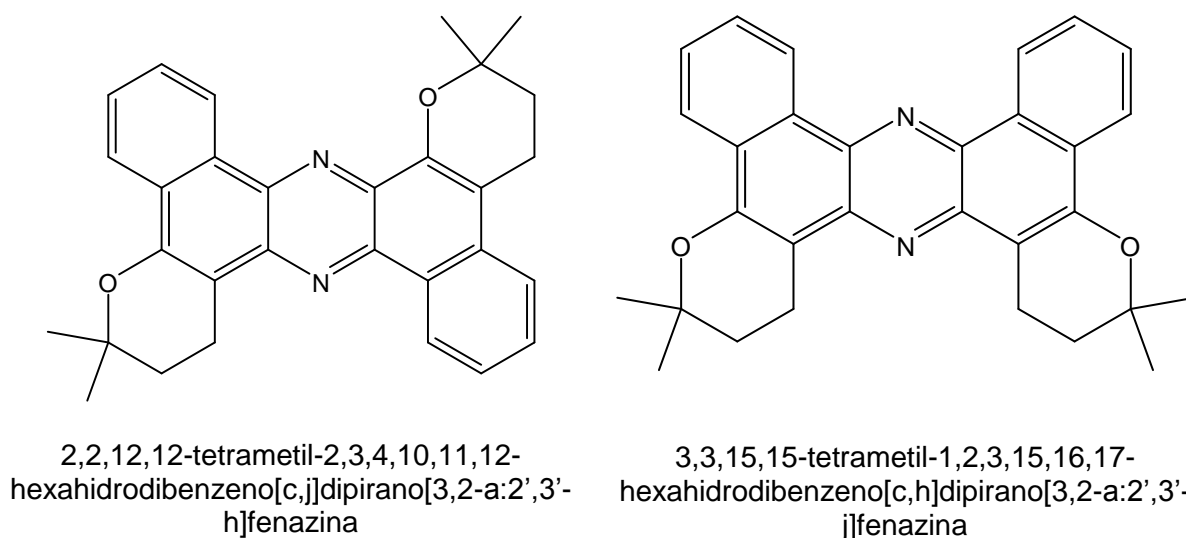
Figura 12 – Estruturas de naftoimidazóis com ação tripanocida significativa.



Fonte: MENNA-BARRETO et al., 2005

Destacam-se também, como derivados da β -lapachona, as fenazinas que são substâncias heterocíclicas aromáticas, sintéticas ou naturais (LAURSEN e NILSEN, 2004) que apresentam atividade antibiótica, tripanocida, antitumoral, antimalárica e antiparasitária (KERR, 2000). Duas fenazinas (Figura 13) com provável atividade tripanocida foram sintetizadas no Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais da UFRJ (CARVALHO et al., 2000; CARVALHO et al., 2006).

Figura 13 – Fenazinas obtidas da β -lapachona.



Fonte: CARVALHO et al., 2006

Como pôde ser visto, estes são apenas alguns exemplos, dos inúmeros compostos derivados de quinonas, que apresentam largo espectro de atividades biológicas, especialmente atividade antichagásica. Vale ressaltar que, todo este esforço tem por objetivo primordial desenvolver fármacos para doenças órfãs que ainda não apresentam cura, principalmente aquelas parasitologias encontradas na América Latina.

Quando um composto é estudado e verificado que este pode atuar como provável fármaco no combate a alguma doença, é necessário nesta etapa, conhecer e entender os efeitos deste fármaco no organismo, seus mecanismos de ação e a relação entre a concentração deste fármaco com seu efeito (NOGRADY e WEAVER, 2005), bem como saber qual o caminho que o fármaco realiza desde sua administração até sua excreção. Daí surge à necessidade de se estudar a farmacodinâmica e a farmacocinética deste composto, que atuará como um provável fármaco no organismo (MAKRIYANNIS e BIEGEL, 2003).

2.3.2 Fases farmacodinâmica e farmacocinética

O século XX terminou com pesquisas relacionadas à atividade genética e células-tronco; o século XXI será conhecido como o “Século das Pesquisas Biomédicas”. Tem-se testemunhado nos últimos anos a síndrome respiratória aguda severa; a AIDS (*Acquired Immunodeficiency Syndrome: síndrome da imunodeficiência adquirida*) e as doenças relacionadas à obesidade ainda não desapareceram, pelo contrário, aumentam em incidência e prevalência (GAD, 2005).

Para as moléculas que são sintetizadas e testadas em laboratório somente uma pequena fração é considerada como candidatos a fármacos podendo chegar às farmácias como medicamento (Henriques et al., 2005). Para isto, a química medicinal desenha novas moléculas, sintetiza, determina como interagem com macromoléculas biológicas, elucidada a relação entre sua estrutura e atividades biológicas, determina sua absorção e distribuição no corpo e avalia suas transformações metabólicas (LEMKE e WILLIAMS, 2008). Dentre estas fases, no

desenvolvimento dos fármacos, pode-se destacar a fase farmacocinética e fase farmacodinâmica.

Os fatores que afetam a concentração do fármaco no sistema biológico estão relacionados com a *fase farmacocinética*, que consiste no estudo do trajeto do fármaco desde sua administração até seu ponto de ação e, *fase farmacodinâmica* que diz respeito à natureza química da relação entre o fármaco e seu alvo, ou seja, o efeito do fármaco no corpo (YAN, 2010).

2.3.2.1 Fase farmacocinética

A fase farmacocinética de um fármaco inclui a absorção, a distribuição, o metabolismo e a eliminação deste fármaco. Muitos fatores que influenciam a ação de um fármaco também influenciam na sua fase farmacocinética (MAISTO, GALIZIO e CONNORS, 2011). A seguir serão descritos os parâmetros que controlam o trajeto do fármaco no organismo.

a) *Absorção*: a absorção envolve a passagem do fármaco através de membranas apropriadas, depois de sua administração. Uma boa absorção normalmente requer que o fármaco tenha o balanço adequado entre seus grupos hidrofílicos e hidrofóbicos. Fármacos muito polares tendem a permanecer na corrente sanguínea enquanto aqueles muito apolares são absorvidos e mantidos no interior das membranas lipídicas. Vale ressaltar que o grau de absorção pode está relacionado com fatores tais como: coeficiente de partição, solubilidade, tamanho da molécula etc. (NOGRADY e WEAVER, 2005).

b) *Distribuição*: o processo de distribuição do fármaco é o transporte do medicamento desde seu ponto de administração ou absorção até seu ponto de ação. O caminho principal é o sistema circulatório, onde o fármaco é absorvido e rapidamente distribuído pelo corpo. Neste transporte, os fármacos estão dissolvidos no meio aquoso do sangue ou em uma “forma livre” ou ainda ligado reversivelmente às proteínas plasmáticas. Os principais fatores que influenciam na distribuição são a

solubilidade e a estabilidade dos fármacos no ambiente biológico do sangue (THOMAS, 2003).

c) *Metabolismo*: no metabolismo ocorre a biotransformação do fármaco em outros compostos referidos como metabólitos. Estas biotransformações ocorrem principalmente no fígado, mas podem ocorrer também no sangue e em outros órgãos. O metabolismo normalmente reduz a concentração de um fármaco na circulação sistêmica, diminuindo ou inibindo a ação farmacológica e os efeitos tóxicos deste fármaco (MAISTO, GALIZIO e CONNORS, 2011; YAN, 2010).

O metabolismo geralmente envolve mais de uma rota e resulta na formação de uma sucessão de metabólitos, os quais podem ter atividade similar ou diferente da do fármaco original. Estes metabólitos são frequentemente mais solúveis em água do que seu fármaco de origem, sendo normalmente excretados pela urina (COLEMAN, 2005).

d) *Eliminação*: a eliminação representa os processos metabólicos e de excreção que removem, irreversivelmente, um fármaco do corpo durante seu trajeto do ponto de ação, reduzindo sua concentração. Uma eliminação lenta beneficia o paciente, visto que a dose necessária para manter o efeito terapêutico pode ser reduzida, minimizando os efeitos colaterais indesejáveis. Já a eliminação rápida significa que o paciente deve receber doses maiores do medicamento aumentando os efeitos colaterais e risco de superdosagem. Como dito anteriormente, os fármacos podem ser eliminados pela urina, outros podem ser eliminados pelas fezes (LEMKE e WILLIAMS, 2008).

2.3.2.2 Fase farmacodinâmica

A fase farmacodinâmica estuda o resultado da interação e ação do fármaco no organismo, especificamente, no ponto de ação. O papel da química medicinal é desenhar e sintetizar uma estrutura de fármaco que tenha efeitos benéficos máximos com mínimos efeitos colaterais. Este desenho deve levar em conta as características estereoeletrônicas do alvo ou do sítio do receptor e também fatores

como estabilidade do fármaco *in situ*, sua polaridade e relativa solubilidade em meio aquoso ou lipídico. A estereoquímica do fármaco também é particularmente importante, visto que estereoisômeros, frequentemente, apresentam diferentes efeitos biológicos que variam de inativos para altamente tóxicos (PRATT e CORNELLY, 2004).

Partindo deste princípio, estudos preliminares sobre os compostos FSE estudados, mostram que aqueles que apresentam grupamentos imidazólicos na estrutura, apresentam atividades biológicas interessantes, enquanto que aqueles compostos com átomos de halogênios, geralmente, mas nem sempre, são inativos nos testes de atividade biológica.

Após esses comentários sobre a aplicação da química medicinal na busca de novos fármacos e da relevante contribuição dos grupos de pesquisas brasileiros na busca de novos fármacos, será feita uma abordagem sobre aplicação da química computacional no desenho de fármacos, descrevendo os métodos de cálculos químico-quânticos mais usados bem como a importância de estudos de ancoramento molecular. Será feita também uma breve descrição sobre a técnica quimiométrica multivariada, também importante nestes estudos de desenho de novos fármacos.

3 QUÍMICA COMPUTACIONAL NO DESENHO DE FÁRMACOS

3.1 Modelagem Molecular

A modelagem molecular estuda a função e estrutura molecular através da construção de modelos utilizando computadores. As raízes da modelagem molecular iniciaram-se com a noção de que geometria molecular, energia e várias propriedades moleculares, podem ser calculadas a partir da mecânica – como modelos sujeitos às forças físicas básicas. A molécula então, rotaciona, vibra e translada para assumir conformações favoráveis, no espaço, como uma resposta coletiva das forças *inter* e *intramoleculares* que atuam sobre esta molécula (SCHLICK, 2010).

Desde seu surgimento, a química computacional tem crescido sendo imensamente beneficiada com os avanços de *hardware* e *software*. Com o surgimento de computadores mais potentes, com algoritmos mais rápidos e eficientes, a química computacional pode ser muito útil na resolução de problemas químicos complexos e biológicos (RAMACHANDRAN, DEEPA e NAMBOORI, 2008; MARTINS, 2010).

Dentre os diversos campos de atuação da pesquisa em química, que fazem largo uso dos métodos químicos computacionais, pode-se citar a química medicinal, já citada neste trabalho. Cada pesquisador adota uma abordagem e métodos de cálculos adequados ao seu objetivo de trabalho. Assim, aqui será feita uma abordagem dos métodos químicos adotados para execução deste trabalho.

3.2 Métodos de química computacional

Atualmente, a química computacional oferece uma variedade de métodos para o cálculo de propriedades de interesse químico. Em tais métodos, o custo computacional cresce proporcionalmente com o rigor teórico. Metodologias mais rigorosas são somente aplicáveis a sistemas relativamente simples e pequenos, mas seus resultados são altamente confiáveis (REPASKY, CHANDRASEKHAR e JORGENSEN, 2002). Por outro lado, as metodologias computacionalmente mais

baratas produzem resultados aproximados, embora úteis e adequados para determinadas finalidades (YOUNG, 2001).

As duas aproximações usadas em estudos de modelagem molecular são aquelas que fazem uso dos métodos da mecânica molecular e as que utilizam as aproximações da mecânica quântica, incluindo os métodos *ab initio* e *semi-empíricos*. A escolha entre estas aproximações depende das propriedades que se deseja avaliar, da precisão desejada e da capacidade computacional disponível (SANT'ANNA, 2009). Das abordagens de cálculos aplicados na pesquisa em química, a seguir, serão descritos os fundamentos da mecânica clássica e da mecânica quântica.

3.2.1 Método da Mecânica Clássica

As teorias da mecânica clássica estudam os corpos macroscópicos, descrevendo como objetos físicos que se movem, como mudam suas posições com o tempo etc. Esta teoria considera uma molécula como um conjunto de partículas unidas entre si por forças elásticas. Cada força pode ser definida por uma função de potencial empírico que é constituído de diversos potenciais individuais, cada um referindo-se a um tipo de interação dos átomos constituintes (GREGORY, 2006).

A mecânica molecular, não leva em consideração os elétrons da molécula analisada, sendo assim, aplica as leis e os conceitos da física clássica a núcleos moleculares. Para calcular geometrias e energias conformacionais das moléculas, faz uso de uma combinação de campos de força empíricos. O campo de força é um conjunto de funções capazes de descrever o comportamento de um dado sistema molecular (SANT'ANNA, 2009).

A vantagem em se fazer uso da mecânica molecular é o tempo relativamente curto para realização dos cálculos e a geometria otimizada, por isso este método, é um bom ponto de partida para a realização dos cálculos quânticos de orbitais moleculares. Sua limitação está em executar cálculos que levem em consideração a natureza eletrônica da molécula (CRAMER, 2004; KIBBLE e BERKSHIRE, 2004).

3.2.2 Métodos da Mecânica Quântica

No início do século XX, os físicos descobriram que os conceitos e princípios da mecânica clássica, não podiam ser aplicados aos elétrons, e desta forma, os cálculos precisavam de ajustes para este novo tipo de abordagem eletrônica da matéria. Para uma melhor elucidação de algumas destas abordagens eletrônicas, não solucionadas pela mecânica clássica, foram aplicadas as equações desenvolvidas pelo físico austríaco Erwin Schrödinger (PHILLIPS, 2007). Esta abordagem fundamental é atraente já que estruturas 3D, energias moleculares, e muitas propriedades associadas podem ser calculadas com base nos princípios físicos fundamentais, ou seja, estruturas eletrônica e nuclear de átomos e moléculas (SCHLICK, 2010).

A Mecânica Quântica (MQ) é a descrição matemática correta do comportamento dos elétrons. Na teoria, a MQ pode descrever qualquer propriedade de um átomo individual ou molécula. Na prática, as equações da MQ são resolvidas exatamente apenas para sistemas monoelétrônicos (ÁLCACER, 2007). Existem métodos de aproximações para solução de sistemas com múltiplos elétrons, como aproximações de Schrödinger (HOLLAUER, 2008).

Para os cálculos da MQ os elétrons são considerados terem um comportamento ondulatório. A função de onda, ψ , que é o resultado das resoluções das equações de Schrödinger é uma função das posições angular e eletrônica do elétron. Isto é uma descrição probabilística do comportamento eletrônico (PERES, 2002). Tal como se pode descrever a probabilidade dos elétrons estarem em certa localização, mas não se pode prever exatamente onde os elétrons estão localizados (COX, 2002).

Uma vez determinada a função de onda, qualquer propriedade da molécula individual pode ser determinada (YOUNG, 2001). Dentre os métodos de cálculos químico-quânticos, que fazem uso destas abordagens, destacam-se os métodos *ab initio* e *semi-empírico*, descritos a seguir.

3.2.2.1 Método *ab initio* e Método *semi-empírico*

A palavra *ab initio* é de origem latina, significando “a partir do início”. Este nome é dado a cálculos que são derivados diretamente de princípios teóricos sem incluir nenhum dado experimental. Os cálculos do método *ab initio* levam em consideração todos os elétrons da molécula (SANT’ANNA, 2002; MAGNASCO, 2009).

Nos métodos *ab initio*, os orbitais moleculares são aproximados pela combinação de orbitais atômicos sendo definidos por um conjunto de bases, frequentemente funções Gaussianas. Os coeficientes que descrevem esta combinação linear são calculados por um princípio variacional, ou seja, pela minimização da energia eletrônica do sistema molecular para um dado conjunto de orbitais escolhidos (MAGNASCO, 2009). A qualidade dos orbitais moleculares usados e, conseqüentemente, a precisão das propriedades moleculares calculadas, depende do número de orbitais atômicos e da qualidade do conjunto de base (SCHLICK, 2010).

Para o método *semi-empírico*, os primeiros estudos tiveram início em 1931 por M. Polanyi e H. Eyring, em suas tentativas de combinarem termodinâmica, cinética química, mecânica quântica e a teoria da ligação de elétrons de valência. O objetivo era mesclar teoria com resultados experimentais, surgindo à denominação *semi-empírico* (MORGON e COUTINHO, 2007).

Assim, estes cálculos apresentam uma parte na fundamentação do método *ab initio*, e a outra parte pode ser empiricamente determinada, parâmetros pré-determinados. Estes parâmetros definem as formas e as energias dos orbitais atômicos de modo a apresentar uma relação razoável com os dados experimentais (SCHLICK, 2010; HÖLTJE e FOLKERS, 1997).

Os métodos *semi-empíricos* podem ser aplicados para moléculas com até 200 átomos. Apresentam sucesso relativo para o cálculo das geometrias de equilíbrio, incluindo as geometrias de compostos orgânicos e inorgânicos, contendo metais de transição e sucesso moderado para o cálculo de geometrias de estado de transição.

Calculam-se ainda momentos de dipolo, calores de reação e potenciais de ionização. Entretanto, os métodos *semi-empíricos* não apresentam resultados satisfatórios para cálculos cinéticos ou termoquímicos (ROGERS, 2003).

A vantagem dos cálculos *semi-empíricos* é que são mais rápidos que os cálculos *ab initio* e mais lentos que os da MM. Uma desvantagem é que os resultados podem não ser corretos e, pouquíssimas propriedades podem ser preditas de forma confiável (MORGON e COUTINHO, 2007; DUMITRICA, 2010).

Dentre os métodos semi-empíricos atuais, mais usados para o cálculo de propriedades físico-químicas, pode-se destacar: o método AM1 (Austin Model 1), que calcula propriedades termodinâmicas e mecanismos de reação, e ainda prediz ligações de hidrogênio, principalmente para a maioria de sistemas biológicos (MAHESHWARY et al., 2001; STEWART, 2007).

Com o intuito de aprimorar alguns parâmetros do método AM1, surgiu o método PM3 (*Parametric Model 3*), no qual todos os parâmetros são ajustados de forma a reproduzirem dados experimentais, enquanto que no método AM1, alguns parâmetros são derivados diretamente de dados experimentais e outros baseados apenas na comparação química (MORGON e COUTINHO, 2007).

Após um breve estudo sobre os métodos de cálculos computacionais aplicados a química computacional, no próximo item será feita uma abordagem sobre o método de ancoramento molecular ou método de docking molecular. Com o uso de tal método será possível observar a interação entre a estrutura química dos compostos em estudo com a proteína cruzaina.

3.3 Ancoragem molecular ou método de docking

A pesquisa contemporânea em química medicinal, biologia molecular, farmacologia, dentre outras áreas da ciência, está fortemente apoiada nos recursos computacionais (JAIN, 2006). O processo para desenvolvimento de novos

candidatos a fármacos é iniciado por experimentos *in silico*, para posteriormente, realizarem-se os experimentos em *in vivo* ou *in vitro* (SCHWEDE e PEITSCH, 2008).

O *docking* molecular ou ancoragem molecular é uma técnica utilizada para prever se uma molécula ligar-se-á a outra, geralmente uma proteína à outra ou uma proteína a uma substância ligante. O *docking* molecular proteína-ligante é feito modelando-se a interação entre a proteína e o ligante, através de diversos critérios disponíveis em programas computacionais, e através dos resultados obtidos *in silico* (JORGENSEN, 2004; BRITO, 2011), a substância ligante, *provavelmente*, se ligará potencialmente a proteína *in vitro* ou *in vivo* (KOUROUNAKIS e REKKA, 2005; BRITO, 2007).

Os estudos de *docking* molecular desempenham um papel de extrema importância em pesquisas que buscam a descoberta de novos fármacos. Desta forma, inúmeros programas estão sendo amplamente usados e novos estão sempre surgindo, para o auxílio deste tipo de estudo (BURSULAYA et al., 2003; ONODERA, SATOU e HIROTA, 2007).

O primeiro programa de docking, DOCK (ERICKSON et al., 2004), foi desenvolvido no laboratório de Tack Kuntz, na Universidade da Califórnia, no início de 1980. No entanto, atualmente, há uma gama de programas de docagem disponíveis como: FlexX, GOLD (NISSINK et al., 2002), e Glide (FRIESNER et al., 2004, 2006; HALGREN, 2004), que são usados na academia e nas indústrias farmacêuticas com grande frequência. Outros programas também são usados para estudos de ancoragem molecular, dentre estes: Surflex (JAIN, 2003, 2006, 2007), MolDock (THOMSEN e CHRISTENSEN, 2006), LigandFit (VENKATACHALAM, 2003), eHiTS (ZSOLDOS et al., 2006), ICM, AutoDock, e FRED.

Dos programas citados, o AutoDock, o qual será usado neste trabalho, para realizar o ancoramento molecular, faz uso de um campo de força de energia livre, baseada em métodos de cálculo semi-empírico para avaliar as conformações nas simulações de ancoramento. O campo de força é parametrizado usando um grande número de complexos proteína-inibidores para os quais as constantes de inibição são conhecidas.

O campo de força avalia a ligação em dois passos. O ligante e a proteína iniciam-se com uma conformação não-ligante. No primeiro passo, as energias intramoleculares são estimadas para a transição a partir destes estados não-ligantes para uma conformação do ligante e da proteína no estado ligante. O segundo passo avalia a energia intermolecular de combinação do ligante e da proteína em suas conformações ligantes. O campo de força utilizado, Amber, faz uso de interações de dispersão e repulsão, ligações de hidrogênio, cargas eletrostáticas de Coulomb etc.

Atualmente, muitos grupos de pesquisa que trabalham com modelagem molecular, também fazem uso da ancoragem molecular no estudo de desenho de novos fármacos. Visto que, estes estudos têm por objetivo a interação de um bioligante com uma proteína, a qual geralmente desempenha papel essencial em alguns mecanismos de desenvolvimento de certos parasitos, que causam doenças nos seres humanos, a ancoragem molecular apresenta papel relevante em estudos de novos inibidores destas macromoléculas.

Dentre os trabalhos, desenvolvidos com a utilização de *docking* molecular, podem ser citados: estudos de inibição da neuramidase humana 3, responsável por infecções através viroses do tipo influenza (ZOU et al., 2010), utilizando derivados de ácido 2,3-didehidro-N-acetil-neuramínico; estudos dos inibidores da acetilcolinesterase, responsável pelo mal de *Alzheimer* (DANUELLO, 2012); estudo racional no desenho de novas estruturas com alta atividade inibitória do complexo multienzimático piruvato desidrogenase 1, componente da *Escherichia coli* e atividade microbicida e herbicida (REN, 2011).

Estudos de docking em catepsina B (relevante em processos de transferência de elétrons) com variação do ambiente de coordenação em complexos de telúrio (CARACELLI et al., 2010), é outra aplicação, muito importante, destes programas de ancoragem molecular iniciada na Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, no curso de farmácia, na disciplina de Química medicinal (BRITO, 2011). Os artigos citados são, evidentemente, apenas alguns exemplos da aplicação dos programas de *docking* molecular na pesquisa em química, especialmente, na pesquisa de novos fármacos para o tratamento de doenças órfãs.

Após o conhecimento dos métodos de cálculos químico-quânticos aplicados no estudo de moléculas candidatas a novos fármacos, bem como da abordagem sobre ancoramento molecular, serão descritas as propriedades ou descritores ou ainda variáveis físico-químicas calculadas através desses métodos. Vale ressaltar que estas propriedades são fundamentais nos estudos de relação estrutura e atividade biológica.

3.4 Propriedades físico-químicas relevantes em estudos de relação estrutura-atividade (SAR)

3.4.1 Cálculos Teóricos para obtenção das propriedades físico-químicas

A ação terapêutica de fármacos resulta de interações destes com sistemas biológicos, sendo dependente de fatores relacionados com sua estrutura química e, conseqüentemente, de suas propriedades físico-químicas. Estes fatores sejam eles de caráter eletrônico, hidrofóbico ou estérico, influenciam a interação do fármaco com a biofase e a sua distribuição nos compartimentos que compõem o sistema biológico (TAVARES, 2004).

As propriedades físico-químicas de compostos bioativos, reflexo de sua estrutura química, podem ser descritas, quantitativamente, se forem expressas por meio de parâmetros físico-químicos ou descritores estruturais adequados. As propriedades físico-químicas, para os derivados naftoimidazólicos estudados, serão obtidas através do pacote de programas do *HyperChem Release 7.5 for Windows* (HYPERCHEM, 2002).

3.4.1.1 Parâmetros eletrônicos empíricos

Os parâmetros eletrônicos empíricos medem o efeito eletrônico de um substituinte em relação à energia livre no momento da interação fármaco-receptor. Com estes parâmetros, têm-se informações de como eventuais modificações nos substituintes de uma molécula podem alterar a distribuição das cargas. Dentre estes descritores pode-se citar: momento dipolar ($\vec{\mu}$), polarizabilidade (α) e refratividade molar (RM) (ARROIO, 2004).

a) Momento Dipolar (MD)

A magnitude da polaridade, de uma molécula, é expressa, quantitativamente, pelo momento dipolar ($\vec{\mu}$), o qual é igual à quantidade de carga (q) de uma das extremidades da molécula multiplicada pela distância (r) entre as cargas (Eq. 1). A presença de substituintes, com eletronegatividades diferentes, influencia as propriedades químicas de um composto como, acidez e basicidade, de forma que o momento dipolar pode esclarecer dúvidas sobre a reatividade deste composto (EBBING e GAMMON, 2009).

$$\vec{\mu} = q \times r \quad (1)$$

b) Polarizabilidade (POLAR)

Propriedade que representa a facilidade com que a nuvem eletrônica de uma molécula se deforma em um campo elétrico. Quanto maior o número de elétrons presentes nesta molécula, mais polarizável ela será, ou seja, maior sua tendência a unir-se a outras moléculas. Logo, maior a atração de van der Waals entre elas (SOUZA et al., 2002a). A polarizabilidade é definida matematicamente como (Eq. 2) (MILLER, 1990):

$$\alpha = \left(\frac{4}{N}\right) \left[\sum_A \tau_A\right]^2 \quad (2)$$

Sendo:

τ_A = componente híbrida atômica para cada átomo A, em um estado de hibridação;

N = número total de elétrons.

c) Refratividade Molar (RM)

Parâmetro físico-químico extremamente dependente da estrutura do composto químico, podendo expressar o caráter lipofílico de grupos substituintes. Os valores da RM costumam ter correlação com a lipofilicidade e o volume molar. Se a refratividade apresentar valor positivo sugere-se que a estrutura do composto farmacológico pode interagir com regiões polares do sítio ativo de macromolécula estudada (TAVARES, 2004). A refratividade pode ser obtida pela Eq. 3:

$$RM = [(n^2-1) / (n^2+2)].(mm / d) \quad (3)$$

Sendo:

n = índice de refração do composto a 20 °C;

d = densidade a 20 °C;

mm = massa molecular do composto.

3.4.1.2 Parâmetros eletrônicos semi-empíricos

Os descritores eletrônicos semi-empíricos baseiam-se nos cálculos dos orbitais de fronteira, sendo provenientes de parâmetros eletrônicos, tendo como objetivo descrever o comportamento das propriedades eletrônicas das moléculas, influenciadas pela presença de certos grupos funcionais na densidade de distribuição de cargas (SILVA, 2009). Estes parâmetros dão informação específica sobre: energia eletrônica (EE), energia total (ET), energia do HOMO (EHOMO), energia do LUMO (ELUMO), dureza (D), moleza (S), eletronegatividade (E), potencial de ionização (PI) etc. (HONÓRIO e SILVA, 2002).

a) Energia eletrônica (EE)

Para calcular a energia eletrônica de uma molécula, faz-se uso de aproximações e simplificações, tendo em vista que a equação de Schrödinger não possui solução analítica para sistemas moleculares. A aproximação de Born-Oppenheimer é uma aproximação que faz uma separação entre o movimento nuclear e o movimento eletrônico (FORESMAN e FRISCH, 2012). Assim, ao invés de resolver a equação de Schrödinger para todas as partículas simultaneamente, resolve-se primeiro a parte eletrônica para cada posição fixa dos núcleos e depois se resolve o movimento nuclear (ALCÁCER, 2012).

b) Energia Total (ET)

A energia total é o somatório das energias de repulsão internuclear e energias eletrônicas das moléculas. As posições dos núcleos são modificadas por meio de algoritmos, resolvendo-se a equação de Schrödinger para os elétrons a cada conjunto de posições nucleares. Assim, as energias totais, correspondentes a cada

conjunto são comparadas, até que a energia não varie entre duas estruturas consecutivas dentro de um limite pré-determinado (FORESMAN e FRISCH, 2012).

c) Energia dos orbitais HOMO e LUMO

No estudo das propriedades físico-químicas de substâncias orgânicas e também inorgânicas, há duas propriedades eletrônicas, de extrema importância, que são a energia do *HOMO* (“*Highest Occupied Molecular Orbital*” – Orbital Molecular Ocupado de Mais Alta Energia) e a energia do *LUMO* (“*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*” – Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia) (FLEMING, 2009). O HOMO e o LUMO estão diretamente relacionados com as transições eletrônicas de um estado fundamental para um estado excitado, assim, a partir destes orbitais de fronteira, pode-se determinar o caráter eletrodoador e eletroaceptor de determinados compostos (RAUK, 2001; ANH, 2011).

Assim, quanto maior a energia calculada para o HOMO, maior sua tendência em doar elétrons, isto é, maior seu caráter nucleofílico, e também menor a energia necessária para retirar elétrons deste orbital molecular. O inverso vale para o LUMO, ou seja, quanto mais baixo seu nível energético, maior sua afinidade eletrônica, atuando assim, como eletrófilo, e menor a energia necessária para adicionar elétrons a este orbital (ANH, 2011).

d) Potencial de ionização (PI)

O potencial de ionização representa a força com que um elétron está ligado a um átomo. Logo, representa a energia ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) necessária para remover um elétron de um átomo, gasoso no seu estado fundamental, do orbital molecular mais alto ocupado (HOMO). Este parâmetro é calculado segundo o teorema de Koopmans, como sendo o valor negativo da energia do HOMO (E_{HOMO}) (CHANG e OVERBY, 2011) como mostra a Eq. 4:

$$\text{PI} = - E_{\text{HOMO}} \quad (4)$$

Este parâmetro é importante no caso em que o composto é ativo em sua forma iônica, ocorrendo desta forma, um aumento da atividade quando se aumenta o grau de ionização. Por outro lado, se a molécula é ativa na forma não-dissociada,

o aumento do grau de ionização reduzirá a atividade biológica (JESPERSEN et al., 2012).

e) Afinidade eletrônica (AE)

Outra propriedade que influencia, grandemente, no comportamento químico dos átomos é a sua habilidade de aceitar um ou mais elétrons. Esta propriedade, chamada de afinidade eletrônica, é a energia liberada quando um elétron é adicionado em um átomo no seu estado gasoso e fundamental (JESPERSEN et al., 2012). Representa a energia necessária para adicionar elétron ao orbital molecular mais baixo desocupado (LUMO), sendo assim, o valor negativo da energia deste (Eq. 5):

$$AE = - E_{LUMO} \quad (5)$$

f) Eletronegatividade (E)

É um parâmetro usado para estimar a capacidade que uma molécula tem de atrair elétrons de outra molécula, quando as duas se aproximam. Desta forma, ela está relacionada com o potencial de ionização e a afinidade eletrônica, que por sua vez, estão relacionadas com as energias do HOMO e do LUMO (SILBERBERG, 2007), como pode ser visto pela Eq. 6:

$$E = \frac{1}{2} (PI + AE) = \frac{1}{2} [- E_{HOMO} + (- E_{LUMO})] \quad (6)$$

g) Dureza absoluta (D) e moleza absoluta (S)

A dureza (Eq. 7) absoluta representa a resistência de uma molécula à deformação, e moleza representa a facilidade com que uma molécula se deforma. Para se trabalhar com estes conceitos, utilizam-se os valores de potencial de ionização (PI) e afinidade eletrônica (AE) ou ainda as energias do HOMO e do LUMO. Sendo assim, moléculas que apresentam alto potencial de ionização e alta eletronegatividade (baixa afinidade eletrônica), terão alta dureza, e a moleza (Eq. 8) é o inverso da dureza (PEARSON, 1986).

$$D = \frac{1}{2}(PI - AE) = \frac{1}{2}[-E_{HOMO} - (-E_{LUMO})] \quad (7)$$

$$S = \frac{1}{D} \quad (8)$$

h) Energia de hidratação (E_{HIDRAT})

Esta é uma propriedade energética importante relacionada ao transporte da molécula em solução aquosa. Compostos que apresentam valores positivos para a energia de hidratação, absorvem maior quantidade de energia ao entrarem em contato com moléculas de água, ou seja, é uma reação endotérmica (ARROIO et al., 2010). Compostos que apresentam valores menores de energia de hidratação, quando entram em contato com moléculas de água, liberam certa quantidade de energia, ocorrendo uma reação exotérmica.

3.4.1.3 Parâmetro de lipofilicidade

A lipofilicidade é uma propriedade molecular vastamente explorada na química farmacêutica, sendo um composto classificado como lipofílico quando se dissolve mais facilmente em lipídeos do que em água (KOUROUNAKIS e REKKA, 2005). A lipofilicidade representa a afinidade de uma molécula por ambiente lipofílico, sendo comumente medida pelo coeficiente de partição, P (MANNHOLD, KUBINYI e FOLKERS, 2008).

O coeficiente de partição é uma medida do modo como um composto distribui-se entre dois solventes imiscíveis e assim, tenta-se fazer uma correlação (Eq. 9) das atividades dos fármacos com seus coeficientes de partição lipídeo/água (NAG e DEY, 2011).

$$P = \frac{[\text{fármaco na fase orgânica}]}{[\text{fármaco na fase aquosa}]} \quad (9)$$

Estas correlações apresentam grande sucesso para predizer as atividades de compostos candidatos a fármacos (MANNHOLD, KUBINYI e FOLKERS, 2008).

Entretanto, estes resultados são somente válidos em situação onde solubilidade e transporte, por difusão através da membrana, são os fatores principais no controle da ação do fármaco (THOMAS, 2003). Para facilitar cálculos, é comum o uso do logaritmo de P, ou seja, LogP.

Em experimento que visa determinar propriedades farmacológicas, a fase orgânica, mais comum é o *n*-octanol, e como fase aquosa, a água. Se um composto é mais solúvel em água, seu LogP será negativo; se for mais solúvel em *n*-octanol, o LogP é positivo, e a interação da droga ocorrerá na fase lipídica (membranas). À medida que P se aproxima de zero, a droga só será solúvel em água, não sendo capaz de atravessar a fase lipídica (KOUROUNAKIS e REKKA, 2005).

3.4.1.4 Parâmetros estéricos e geométricos

Os parâmetros estéricos, área superficial (A), volume (V) e massa molecular (mm) são propriedades físico-químicas importantes para a compreensão dos mecanismos envolvidos na interação fármaco-receptor. São também importantes nos mecanismos responsáveis pela atividade biológica apresentada pelos compostos, pois isto depende do ajuste entre a estrutura molecular do fármaco e seu receptor, considerando entre outras propriedades, a flexibilidade presente nas biomacromoléculas envolvidas (WERMUTH, 2003).

A área superficial pode ser calculada pela soma das áreas de cada átomo, considerando-os uma molécula como uma esfera de raio igual aos raios de van der Waals.

O volume molecular é calculado pelo método desenvolvido por Bodor et al., (1989). Neste método, o volume molecular é calculado pelo uso de uma técnica de integração. Um conjunto de redes cúbicas tridimensionais é gerado, o centro da rede é posicionado em um átomo, a aresta do cubo é o diâmetro do átomo. Todos os pontos da rede são testados, como se eles estivessem dentro do átomo, tomando-se cuidado para evitar o problema de sobreposição atômica. Um ponto da rede é considerado dentro do átomo se duas condições forem satisfeitas (Eq. 10):

Primeira condição: $g_{ijk}^{(L)} - c_L < r_L$

Segunda condição: $g_{ijk}^{(L)} - c_p < r_p$

$$p = L \dots L-1 \quad (10)$$

onde: $g_{ijk}^{(L)}$ é um ponto da rede L; c_L é o centro do átomo L; r_L é o raio de van der Waals do átomo L.

A primeira condição é satisfeita se o ponto-teste está dentro do átomo analisado. A segunda condição garante que o ponto teste não pertence a qualquer átomo considerado anteriormente.

A contribuição do volume de um átomo é estimada pela Eq. 11:

$$V = \frac{4}{3} r^3 \pi \left(\frac{n}{n_T} \right) \quad (11)$$

Sendo: n é o número de pontos na rede que satisfaz a condição da Eq. 10; n_T é número total de pontos na rede, dentro do átomo e r é o raio de van der Waals. Ressalta-se que o volume molecular é calculado somando-se todas as contribuições atômicas (MALTA, 2000).

A massa molecular, mm, embora seja indiretamente relacionada com o volume da molécula, não expressa, convenientemente, o seu perfil tridimensional sendo, apesar disto, também empregada como parâmetro estérico em estudos de SAR (SCHWEDE e PEITSCH, 2008).

Estas propriedades são calculadas com o objetivo de estimar o aspecto tridimensional dos compostos, ou seja, seu tamanho e forma. Grupamentos grandes no fármaco, como *t*-butila, por exemplo, podem provocar um impedimento estérico bem maior na molécula deste fármaco, do que um grupo etila, dificultando a interação fármaco-proteína (KROGSGAARD-LARSEN et al., 2005).

Conhecidos os descritores físico-químicos, importantes para estudos entre a estrutura e a atividade, torna-se necessário uma abordagem sobre a aplicação dos cálculos quimiométricos sobre os tais descritores. O objetivo é fazer uma redução

destes descritores e determinar apenas aqueles que são realmente responsáveis pela atividade e/ou inatividade biológica dos compostos químicos estudados.

3.5 Quimiometria

3.5.1 Cálculos quimiométricos

Após a realização dos cálculos das propriedades físico-químicas, para os compostos estudados, torna-se importante, saber qual a similaridade entre suas estruturas químicas, bem como quais propriedades físico-químicas calculadas são as mais relevantes na relação estrutura e atividade. Para isto, faz-se uso de cálculos quimiométricos, através de análise exploratória dos dados, ferramenta útil para estudo de dados multivariados. Para análise dos dados multivariados obtidos serão aplicados dois métodos quimiométricos: *Análise de Componentes Principais* (ACP ou PCA) e *Análise Hierárquica de Agrupamentos* (AHA ou HCA).

3.5.1.1 Análise de Componentes Principais – ACP

A análise de componentes principais encontra-se certamente entre as mais importantes ferramentas da análise multivariada (LYRA et al., 2010). É um método de projeção que, ilustra os dados multivariados num espaço de dimensão menor, reduzindo a dimensionalidade do espaço do conjunto de dados, sendo por isso, um método de compressão. Como resultado, as informações mais importantes e relevantes se tornam mais óbvias (CORREIA e FERREIRA, 2007).

Havendo correlações significativas entre as variáveis do conjunto de dados, é possível encontrar novas variáveis em quantidade menor que a inicial, que descrevem aproximadamente toda a informação contida nos dados originais. Estas novas variáveis, também denominadas de fatores, componentes principais, auto-vetores ou ainda variáveis latentes, são definidas como combinações lineares das variáveis originais (SANTOS et. al., 2009).

O ponto de partida para a análise exploratória é a *matriz* dos dados, representada por X, como mostra a Eq. 12:

$$X = \begin{bmatrix} x_1^T \\ x_2^T \\ \vdots \\ x_I^T \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & \dots & x_{1J} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & \dots & x_{2J} \\ \vdots & \vdots & \ddots & & \vdots \\ \vdots & \vdots & & \ddots & \vdots \\ x_{I1} & x_{I2} & \dots & \dots & x_{IJ} \end{bmatrix} = [x^1 \quad x^2 \quad \dots \quad x^J] \quad (12)$$

A matriz $X_{(I,J)}$ apresenta um total de I linhas (amostras) e J colunas (variáveis), cujos valores são respostas para as variáveis $j = 1, 2, 3, 4, \dots, J$, referentes à amostra i . Cada amostra corresponde a uma linha na matriz de dados (Eq. 13) e cada coluna representa as variáveis (Eq. 14) (BRERETON, 2003).

$$x_i^T = [x_{i1} \quad x_{i2} \quad x_{i3} \quad \dots \quad x_{ij}] \quad (13)$$

$$x^j = \begin{bmatrix} x_{1j} \\ x_{2j} \\ \vdots \\ x_{Ij} \end{bmatrix} \quad (14)$$

A matriz $X_{(I,J)}$ é decomposta em duas matrizes, uma de escores T e uma de pesos (*loadings*) L de tal maneira que é representada pela Eq. 15:

$$X = TL^T = T_A L_A^T + E \quad (15)$$

Sendo: $T_A = [T_1 \dots T_A]$ e $L_A = [l_1 \dots l_2]$

A é a dimensão intrínseca do conjunto de dados, ou seja, o número de Componentes Principais (PCs) necessário para descrever as informações relevantes dos dados. E é uma matriz de erro da mesma dimensão da matriz X . T representa a matriz de escores (os escores expressam as relações entre as amostras) e L a matriz de pesos (mostram as relações entre as variáveis) (HÄRDLE e SIMAR, 2003; GEMPERLINE, 2006).

Os resultados da PCA são visualizados na forma de gráficos facilitando a identificação de estruturas e agrupamentos existentes no conjunto de dados.

3.5.1.2 Análise Hierárquica de Agrupamentos – HCA

A análise hierárquica de agrupamentos é o segundo método de análise exploratória. É uma técnica que tem como objetivo analisar a formação de agrupamentos naturais das amostras, com base nas suas similaridades, que correspondem a semelhanças na composição química. O primeiro passo é selecionar uma medida de similaridade. Em seguida, deve-se decidir o tipo de agrupamento hierárquico que será empregado e, finalmente, escolhe-se o critério de ligação (*linkage*) entre os agrupamentos (SANTOS et al., 2009).

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 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 (NETO et al., 2003). 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 (JOHNSON e WICHERN, 2002).

O resultado de um agrupamento hierárquico é representado normalmente através de um gráfico bidimensional denominado dendrograma, também chamado de gráfico em árvore, onde é possível observar as correlações e similaridades entre as amostras, em um espaço 2D (SILVA, 2009).

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 (CORREIA e FERREIRA, 2007). 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 (NETO e MOITA, 1998).

A representação gráfica do dendrograma na HCA depende do tipo de distância utilizada para o cálculo. Normalmente, a distância euclidiana (distância geométrica em um espaço multidimensional) é a mais escolhida para análise de agrupamentos. Quanto maior a distância euclidiana, entre dois objetos, mais dissimilares eles serão (SILVA, 2009).

A limitação deste método é que pode haver alguns objetos finais a serem agrupados que não são similares com os grupos formados, mas são agrupados porque o processo termina com um único grupo. Cada grupo é construído com base nos grupos obtidos em interações anteriores.

A análise dos gráficos obtidos por HCA e PCA é complementar, sendo assim, recomenda-se a utilização destas duas ferramentas em estudos não-supervisionados de reconhecimento de padrões. Estudos não-supervisionados ou exploratórios sugerem que nenhuma informação relacionada à identidade das amostras é levada em consideração (SHARAF et al., 1998).

4 METODOLOGIA

A metodologia adotada para a obtenção dos descritores físico-químicos, aplicação da técnica multivariada quimiométrica e método de ancoramento molecular consistiu das seguintes etapas: desenho das estruturas, pré-otimização dos compostos, otimização das estruturas, cálculo das propriedades físico-químicas, aplicação de métodos quimiométricos e realização de ancoragem molecular. Cada uma destas etapas será descrita nos parágrafos seguintes.

4.1 Estruturas dos compostos estudados

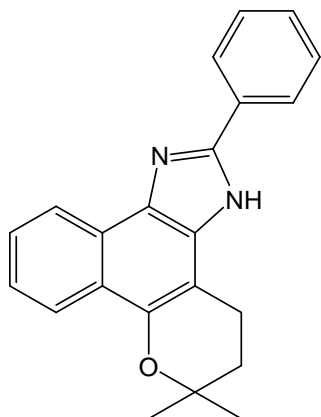
Os compostos estudados (Figura 14) neste trabalho fazem parte de uma série de pirano[b-4,3]nafto[1,2-d]imidazóis derivados da β -lapachona. De acordo com os testes de atividade biológica foram considerados ativos, frente às amostras sanguíneas de *T. cruzi*, os compostos com $EC_{50/24h}$ abaixo de 100 μ M (Tabela 1), destacando-se como mais ativos, aqueles com EC_{50} entre $15,5 \pm 2,9 \mu$ M, tendo grupos metila ligados ao anel fenil (MOURA et al., 2004).

Tabela 1 – Resultados dos testes de atividade biológica para os derivados naftoimidazólicos frente às amostras sanguíneas de *T. cruzi*.

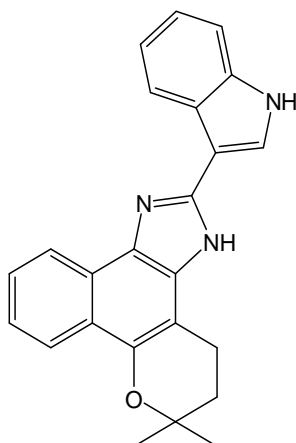
Compostos	$EC_{50/24h}(\mu$M)	RA	Compostos	$EC_{50/24h}(\mu$M)	RA
FSE-1	37,0 \pm 0,7	14,49	FSE-12	90,8 \pm 5,8	5,90
FSE-2	15,4 \pm 0,2	34,81	FSE-13	37,5 \pm 12,8	14,29
FSE-3	243,3 \pm 24,6	2,20	FSE-14	15,5 \pm 2,9	34,58
FSE-4	372,0 \pm 38,7	1,44	FSE-15	448,0 \pm 55,7	1,20
FSE-5	98,0 \pm 4,8	5,47	FSE-16	128,7 \pm 29,4	4,16
FSE-6	39,4 \pm 8,1	13,60	FSE-17	227,5 \pm 58,0	2,36
FSE-7	1064,2 \pm 61,6	0,50	FSE-18	>8000	-
FSE-8	2286,3 \pm 21,1	0,23	FSE-19	518,5 \pm 78,9	1,03
FSE-9	2004,0 \pm 22,9	0,27	FSE-20	1095,9 \pm 92,9	0,49
FSE-10	147,8 \pm 12,5	3,63	FSE-21	154,9 \pm 10,4	3,46
FSE-11	84,9 \pm 3,2	6,31	FSE-22	190,5 \pm 30,3	2,81

Fonte: MOURA et al., 2004

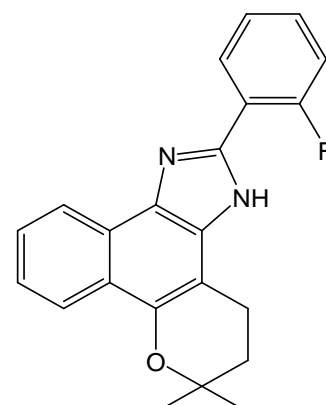
Figura 14 – Fórmulas estruturais planas dos compostos FSE estudados.



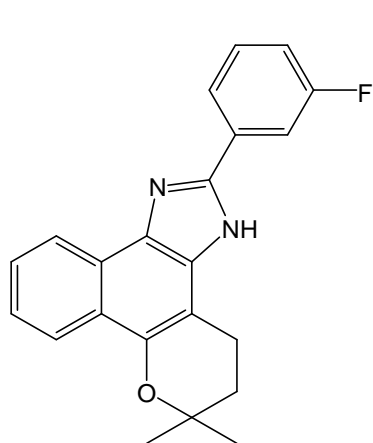
FSE-1



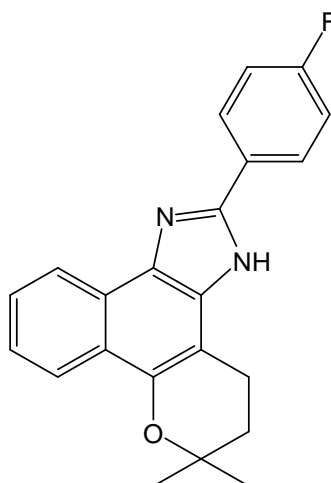
FSE-2



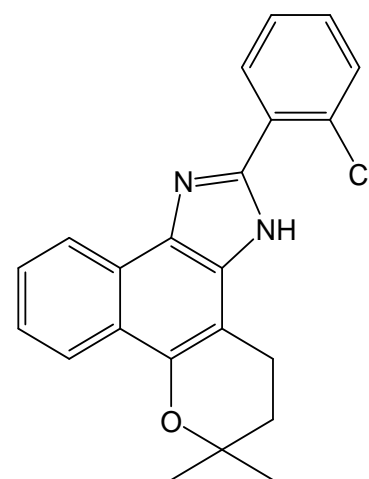
FSE-3



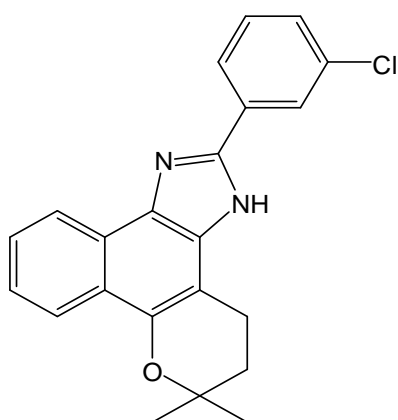
FSE-4



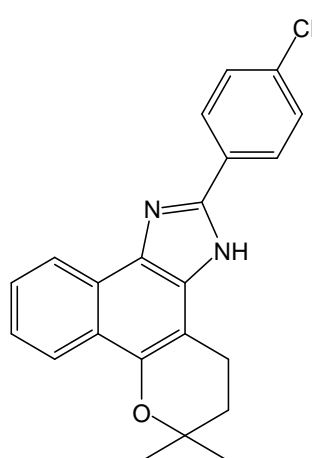
FSE-5



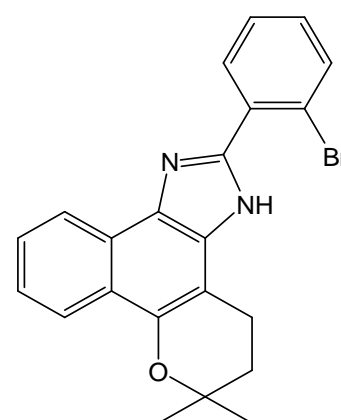
FSE-6



FSE-7

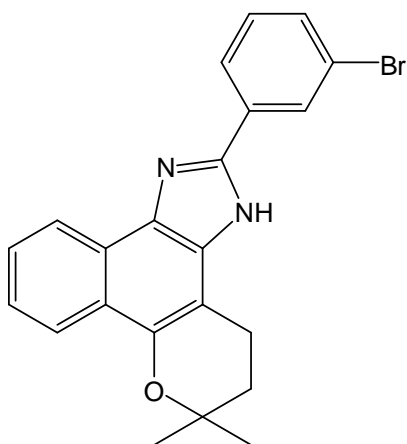


FSE-8

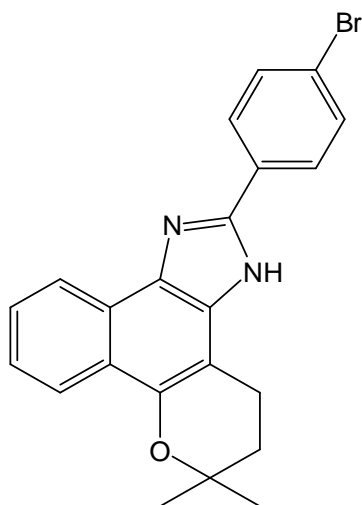


FSE-9

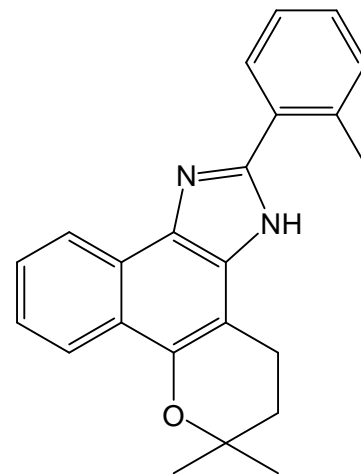
Figura 14 – Fórmulas estruturais planas dos compostos estudados (continuação).



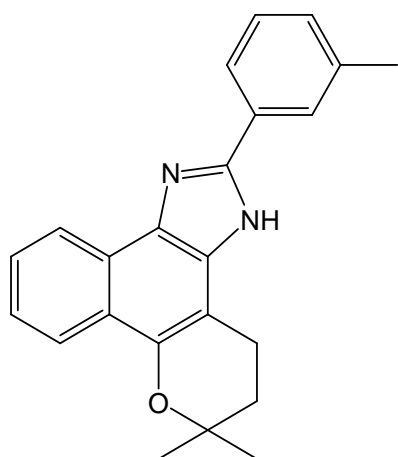
FSE-10



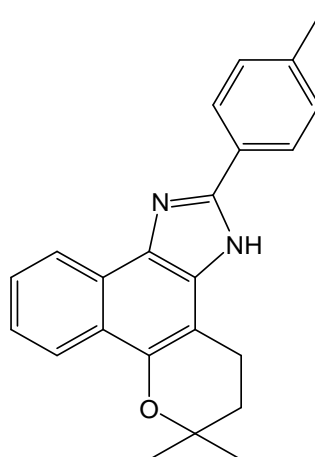
FSE-11



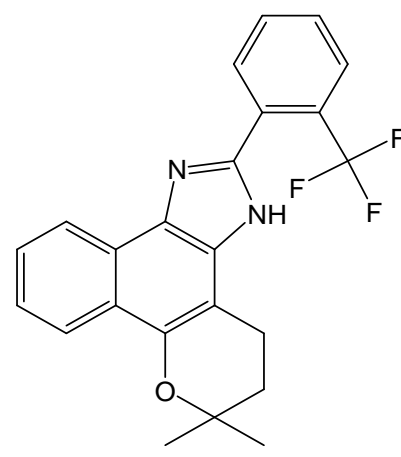
FSE-12



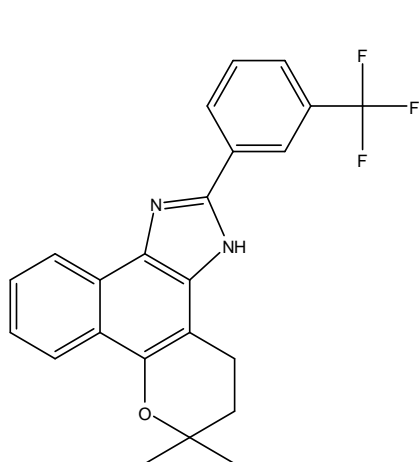
FSE-13



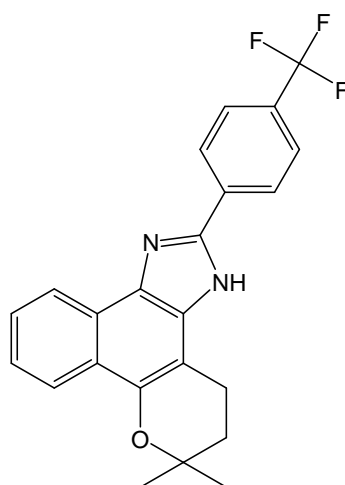
FSE-14



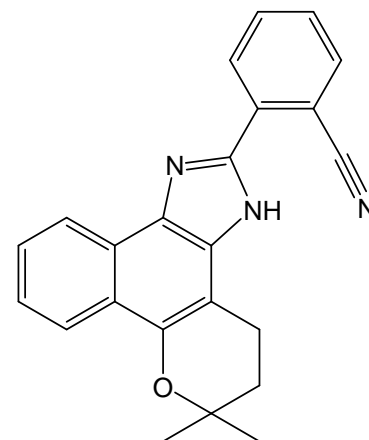
FSE-15



FSE-16

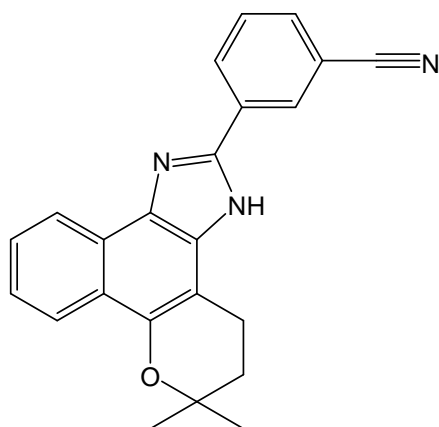


FSE-17

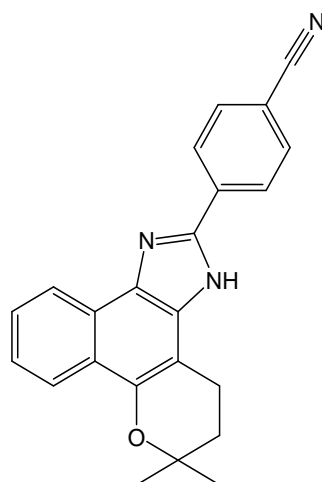


FSE-18

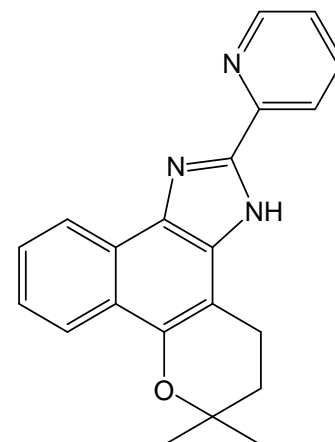
Figura 14 – Fórmulas estruturais planas dos compostos estudados (continuação).



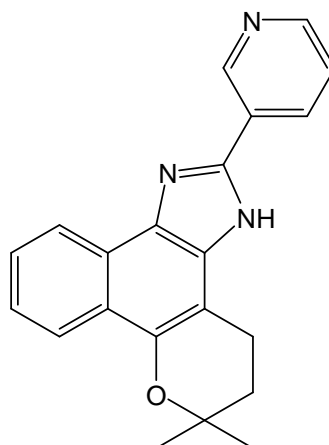
FSE-19



FSE-20



FSE-21



FSE-22

Fonte: MOURA et al., 2004.

Vale ressaltar que, as denominações usadas para cada uma das estruturas foram às abreviações sugeridas pelo grupo que as sintetizaram, sendo assim, esta não é uma denominação oficial com regras da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), porém, estas nomenclaturas foram e serão usadas em todo o trabalho.

4.2 Obtenção das propriedades físico-químicas

Para a obtenção das propriedades físico-químicas dos compostos estudados, foram realizados os seguintes procedimentos:

- a) Desenho das estruturas: primeiramente, as estruturas de todos os compostos foram desenhadas com o auxílio do programa *ChemDraw Ultra 10.0* disponibilizado no pacote de programas do *Chem & Bio Draw*[®] (CHEMOFFICE, 2006).

- b) Pré-otimização das estruturas: depois de desenhadas as estruturas no *ChemDraw Ultra 10.0*, estas foram pré-otimizadas realizando-se cálculos da Mecânica Molecular (MM), fazendo-se uso do programa *Chem3D Ultra 10.0* também disponibilizado no pacote de programas do *Chem & Bio Draw*[®] (CHEMOFFICE, 2006). A pré-otimização tem por objetivo dar as moléculas ângulos e distâncias interatômicas o mais próximo da realidade possível.

- c) Otimização das estruturas e cálculo das propriedades físico-químicas: após a realização de pré-otimização das estruturas, pelo programa *Chem3D Ultra 10.0* através dos métodos de cálculo da MM, realizou-se a otimização das estruturas com a utilização do programa *HyperChem Release versão 7.5 for Windows*, efetuando-se cálculos mecânico-quânticos semi-empíricos com a base AM1 (HYPERCHEM, 2002).

- d) Aplicação de métodos quimiométricos: a análise quimiométrica multivariada tem por objetivo fazer uma redução dos dados para verificar quais dos descritores físico-químicos são mais relevantes para fazer a separação dos compostos em ativos e inativos. Serão realizadas Análises de Componentes Principais (PCA, PC ou CP) e Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA). Na análise de PCA, o objetivo é verificar a separação dos compostos levando em consideração a contribuição de cada componente principal. Aquelas mais próximas de +/-1 são as que mais contribuem para cada componente principal. Gráficos de PCA serão obtidos tanto para a separação dos compostos quanto para verificar a contribuição de cada parâmetro físico-químico calculado e poder assim, separá-los em grupos.

A Análise Hierárquica de Agrupamentos visa obter gráficos onde se verifica a similaridade entre os compostos analisados e também podem ser usados para os descritores físico-químicos calculados. Estes gráficos corroboram os resultados obtidos nos gráficos de PCA, enriquecendo a discussão dos resultados obtidos. Nos gráficos de HCA, quanto menor for a distância entre um grupo de compostos maior será sua similaridade. Todo o estudo quimiométrico bem como seus resultados, isto é, os gráficos de PCA quanto os de HCA, serão obtidos fazendo-se uso do software *Minitab Release 14 for Windows* (MINITAB, 2004).

e) Realização de ancoragem molecular: após a realização dos cálculos e análises quimiométricas, juntamente com os resultados dos testes de atividade farmacológica, serão verificados quais compostos são mais adequados para o estudo de ancoramento molecular. No estudo de ancoramento molecular ou docking molecular, serão utilizados os *softwares* Autodock (MORRIS et al., 2013) e Pymol (DELANO e LAM, 2013). Com o *software* Autodock são realizadas as interações entre a proteína e seu ligante, onde é possível obter as conformações mais favoráveis da interação proteína-ligante.

Os cálculos realizados no ancoramento molecular fazendo uso do autodock seguiram quatro etapas: preparação do arquivo de coordenadas, cálculo do AutoGrid, ancoramento e análise dos resultados.

A preparação do arquivo para o início dos cálculos de ancoramento molecular consiste na adição de átomos de hidrogênios polares tanto para a proteína quanto para o ligante. Nesta etapa é criado o arquivo PDBQT, o qual apresenta informações de cargas parciais atômicas, os tipos de átomos, além de informações sobre graus de liberdade e torsão.

O cálculo do AutoGrid, é um pré-cálculo das possíveis afinidades atômicas para cada tipo de átomo na molécula do ligante com a proteína. A proteína é disposta em uma grade (também denominada caixa) tridimensional. As afinidades com a grade são calculadas para cada tipo de átomo no ligante, tipicamente carbono, oxigênio, nitrogênio e hidrogênio.

Após o pré-cálculo das possíveis afinidades dos átomos do ligante e a proteína, realiza-se o ancoramento molecular. O ancoramento é executado fazendo-se uso do algoritmo genético Lamarckian, através do qual é obtido o arquivo com as 10 conformações mais estáveis. O algoritmo genético Lamarckian considera a teoria da evolução proposta por Lamarck, onde características adquiridas ao longo da vida podem ser passadas aos seus descendentes. O uso deste algoritmo consiste na minimização de energia aplicada ao ligante que irá compor a próxima geração de ligantes modificados (TURNER et al., 2000; GONÇALVES, 2008).

Após esta etapa, gera-se o arquivo .dlg, o qual apresenta as 10 conformações mais favoráveis energeticamente com seus respectivos valores de energia livre, ΔG , e constante de inibição, K_i . Através dos valores de ΔG e K_i , (obter as relações entre as variáveis ΔG e K_i) escolhe-se não somente aquelas conformações com os menores valores para estas propriedades, mas deve-se também verificar em qual destes resultados conformacionais a estrutura do ligante está mais próxima dos resíduos de aminoácidos, que compõem o sítio ativo da enzima em questão.

Depois de observados quais são os melhores resultados obtidos pela ancoragem molecular no Autodock, deve-se fazer outra análise no PyMOL, onde verifica-se em quais dos resultados obtidos, o ligante encontra-se mais próximo dos resíduos de aminoácidos do sítio ativo da enzima em estudo. Após selecionado o melhor resultado, faz-se a análise das possíveis interações encontradas entre o complexo proteína-ligante.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Resultados e Discussões das análises quimiométricas

Após a obtenção dos descritores físico-químicos (Apêndice A) fazendo-se uso dos cálculos da mecânica quântica, aplicou-se a técnica quimiométrica multivariada para fazer a classificação dos compostos em ativos e inativos, e verificar a similaridade entre as estruturas estudadas. Fazendo-se uso do *software* Minitab 14[®] (MINITAB, 2004), foram realizadas 4 análises quimiométricas multivariadas para os compostos de derivados de naftoimidazólicos.

Na primeira análise, considerou-se 17 descritores físico-químicos (A, V, M, EHIDRAT, LogP, REFR, POLAR, ET, EE, MD, D, S, EHOMO, ELUMO, AE, PI, E). Na segunda análise, foram consideradas 8 variáveis (A, LogP, POLAR, S, EHOMO, ELUMO, AE, PI). Para a terceira análise, tem-se 4 descritores físico-químicos, que são: LogP, POLAR, ELUMO, AE. Os resultados e as discussões para cada uma das análises quimiométricas multivariadas serão descritos a seguir.

5.1.1 Primeira análise quimiométrica

Através dos cálculos quimiométricos multivariados, utilizando-se 17 descritores físico-químicos, observa-se que as 3 primeiras componentes principais (CP1, CP2 e CP3) apresentaram maior contribuição para a classificação dos dados (Tabela 2).

Tabela 2 – Porcentagens da variância de cada CP e da variância acumulada para a primeira análise quimiométrica.

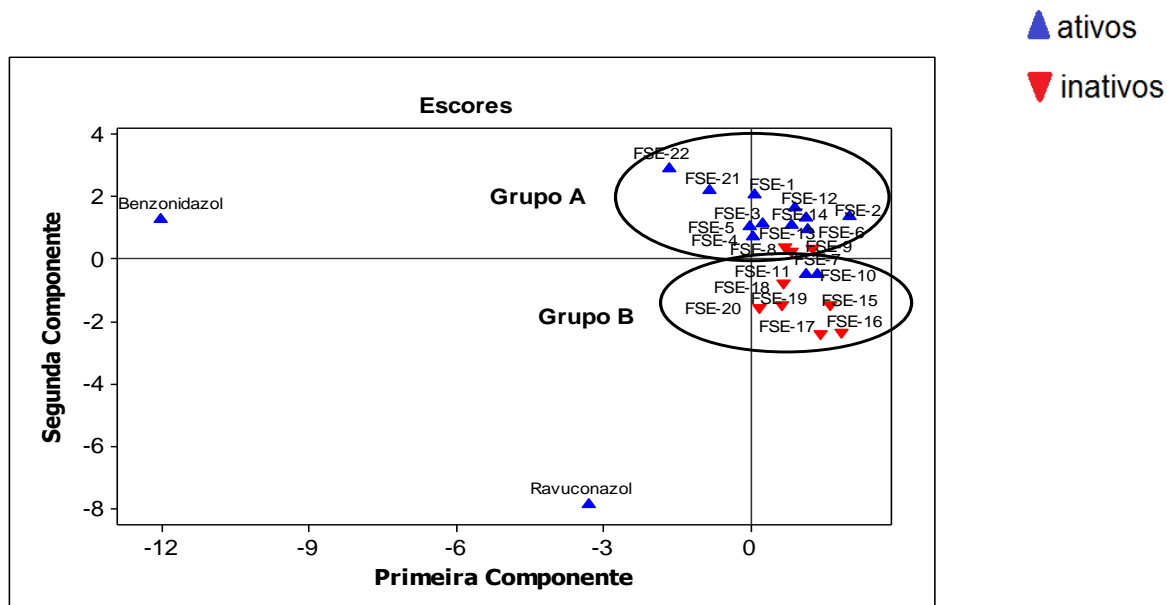
Componente Principal	% CP	% acumulada
CP1	46,7	46,7
CP2	28,8	75,5
CP3	7,9	83,4

Fonte: Dados da Pesquisa

A Figura 15 mostra o gráfico de escores, no qual se observa a separação dos compostos em ativos e inativos. A Figura 16 representa a Análise Hierárquica de Agrupamento (AHA), na qual os compostos são agrupados de acordo com sua

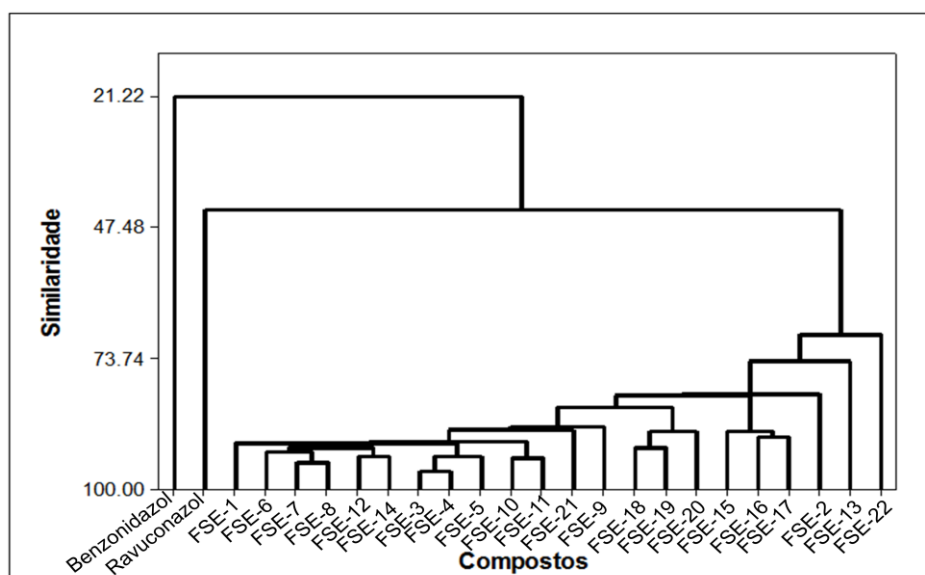
similaridade assim, quanto mais similar um composto do outro, menor a distância entre eles.

Figura 15 – Gráfico de escores para a primeira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

Figura 16 – Dendrograma de similaridade para os compostos na primeira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

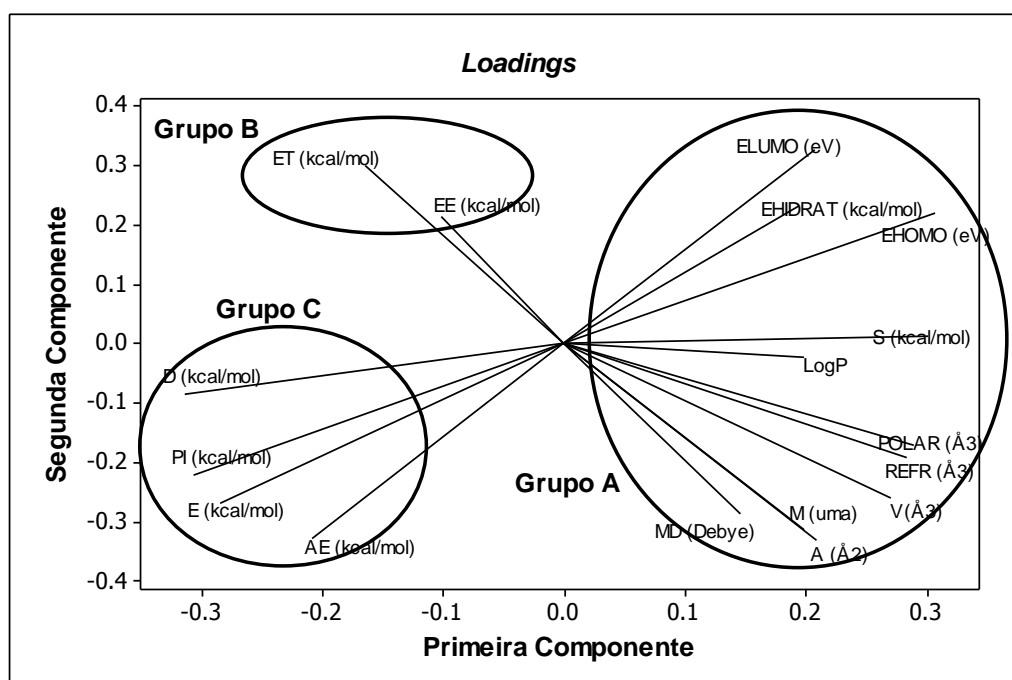
Analisando a separação dos compostos na Figura 15, nota-se que a maioria dos compostos ativos, Grupo A (FSE-1, FSE-2, FSE-3, FSE-4, FSE-5, FSE-6, FSE-12, FSE-21, FSE-22) encontra-se em CP1 e CP2 positivas. Já para os compostos

inativos, Grupo B, observa-se que a maioria (FSE-15, FSE-16, FSE-17, FSE-18, FSE-19, FSE-20) localiza-se entre a CP1 positiva e CP2 negativa. Apesar das Figuras 15 e 16 serem complementares, não foi possível a formação dos Grupos A e B no gráfico de dendrograma de AHA. Isto pode ser devido ao número ainda alto de descritores usados.

Para o benzonidazol e ravuconazol, nota-se que estes se encontram mais afastados dos compostos estudados, devido suas estruturas químicas serem diferentes daquelas dos derivados naftoimidazólicos estudados. O benzonidazol está em CP1 negativa e CP2 positiva, enquanto que o ravuconazol encontra-se em CP1 e CP2 negativos, a região de maior concentração dos compostos inativos. Pode-se sugerir que a localização do ravuconazol, seja devido à presença de grupamentos (também presentes nos compostos inativos) como cianeto (-CN) e fluoreto (-F) que são grupos retiradores de elétrons e que contribuem para a inatividade.

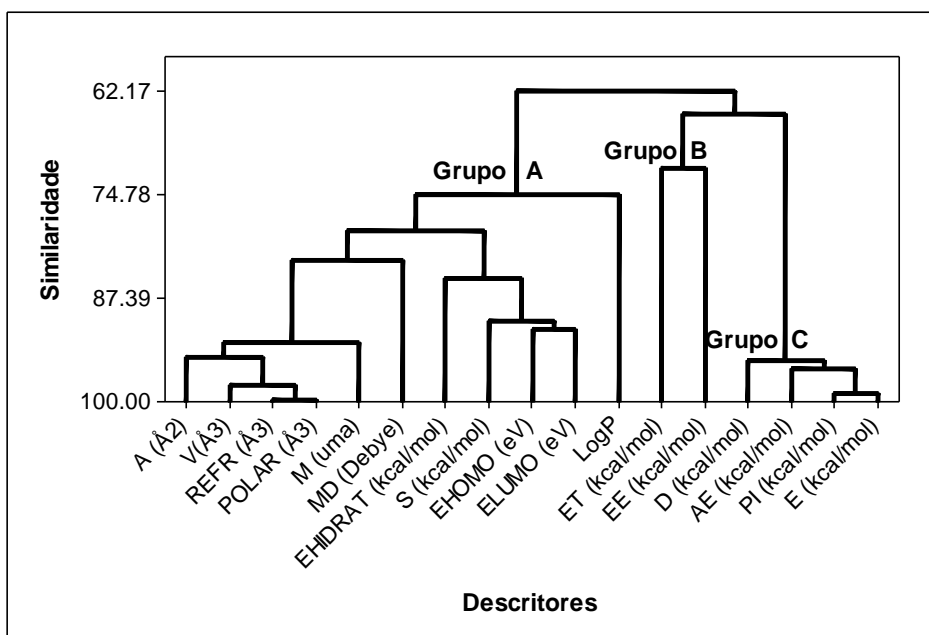
A Figura 17 apresenta o gráfico dos loadings e a Figura 18 o dendrograma de similaridade entre os descritores.

Figura 17 – Gráfico dos loadings para a primeira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

Figura 18 – Gráfico de similaridade entre os descritores para a primeira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

Verifica-se a corroboração entre as duas figuras, quando se observa a formação dos grupos pelos descritores físico-químicos, responsáveis pela separação dos compostos em ativos e inativos. O Grupo A é formado pelos descritores ELUMO, EHIDRAT, EHOMO, S, LogP, POLAR, REFR, V, M, A, MD. O Grupo B é constituído pelos descritores ET e EE e o Grupo C formado pelos descritores D, PI, E e AE.

5.1.2 Segunda análise quimiométrica

Tendo em vista que o número de descritores físico-químicos, utilizados para a primeira análise quimiométrica foi alto, realizou-se uma segunda análise com os descritores que tiveram maior contribuição na primeira análise quimiométrica multivariada: A, LogP, POLAR, S, EHOMO, ELUMO, AE, PI.

Com estes descritores, as componentes principais CP1, CP2 e CP3, apresentaram maior contribuição na separação das classes inativos e ativos (Tabela 3) do que na análise quimiométrica 1.

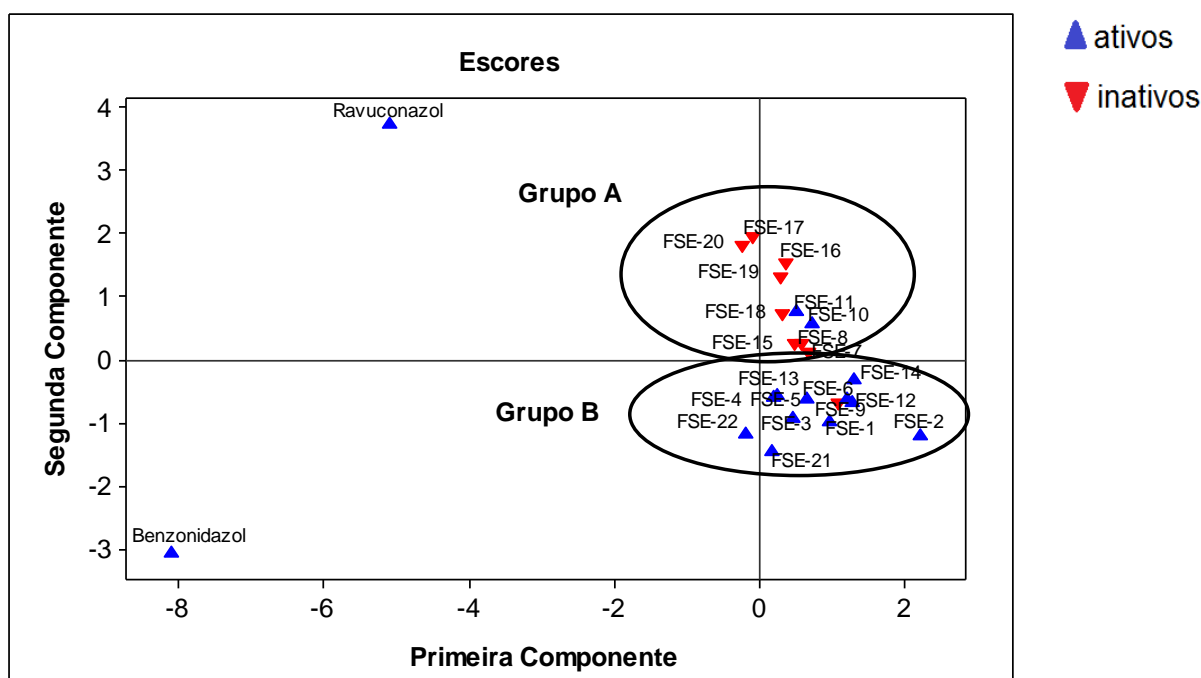
Tabela 3 – Porcentagens da variância de cada CP e da variância acumulada para a segunda análise quimiométrica.

Componente Principal	% CP	% acumulada
CP1	57,8	57,8
CP2	24,9	93,4
CP3	5,5	98,8

Fonte: Dados da Pesquisa

As Figuras 19, gráfico de escores, e a Figura 20, dendrograma de similaridade, complementam-se nas informações sobre a formação dos grupos.

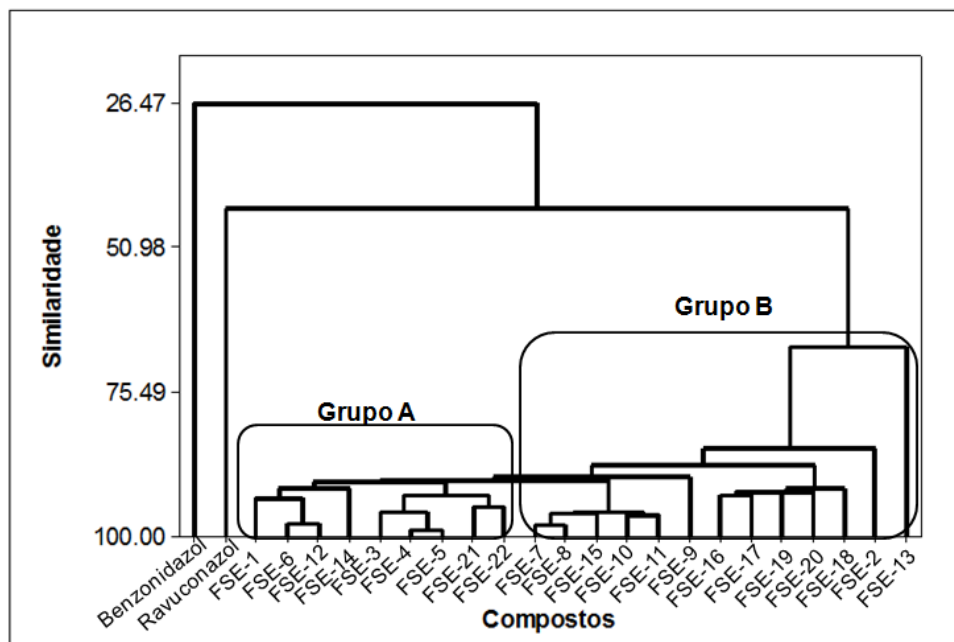
Figura 19 – Gráfico de escores para a segunda análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

Para esta segunda análise, observa-se que os compostos ativos (FSE-1, FSE-2, FSE-3, FSE-4, FSE-5, FSE-6, FSE-12, FSE-13, FSE-14, FSE-21 e FSE-22) encontram-se quase que exclusivamente em CP1 positiva e CP2 negativa, formando o Grupo B. Já os compostos inativos (FSE-7, FSE-8, FSE-15, FSE-16, FSE-17, FSE-18, FSE-19, FSE-20) que formam o Grupo A, localizam-se em CP1 e CP2 positivas. Quanto às posições do benzonidazol e ravuconazol, são as mesmas citadas na primeira análise.

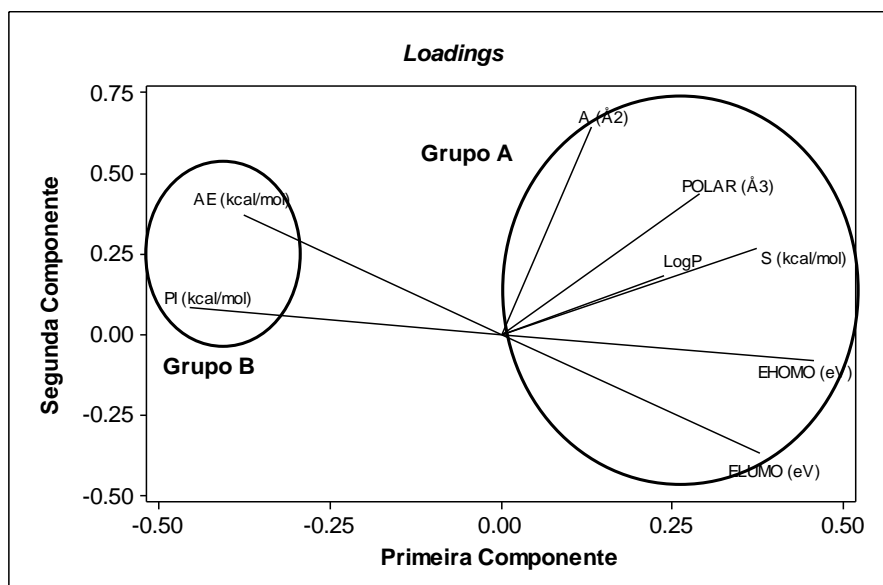
Figura 20 – Dendrograma de similaridade para os compostos na segunda análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

Para a análise de AHA (Figura 20), verifica-se uma melhor formação dos grupos entre os compostos. Exceções são benzonidazol e ravuconazol que não pertencem a nenhum dos grupos formados, devido suas estruturas químicas diferentes dos demais compostos. O gráfico dos loadings (Figura 21) apresenta os descritores físico-químicos responsáveis pela separação dos compostos.

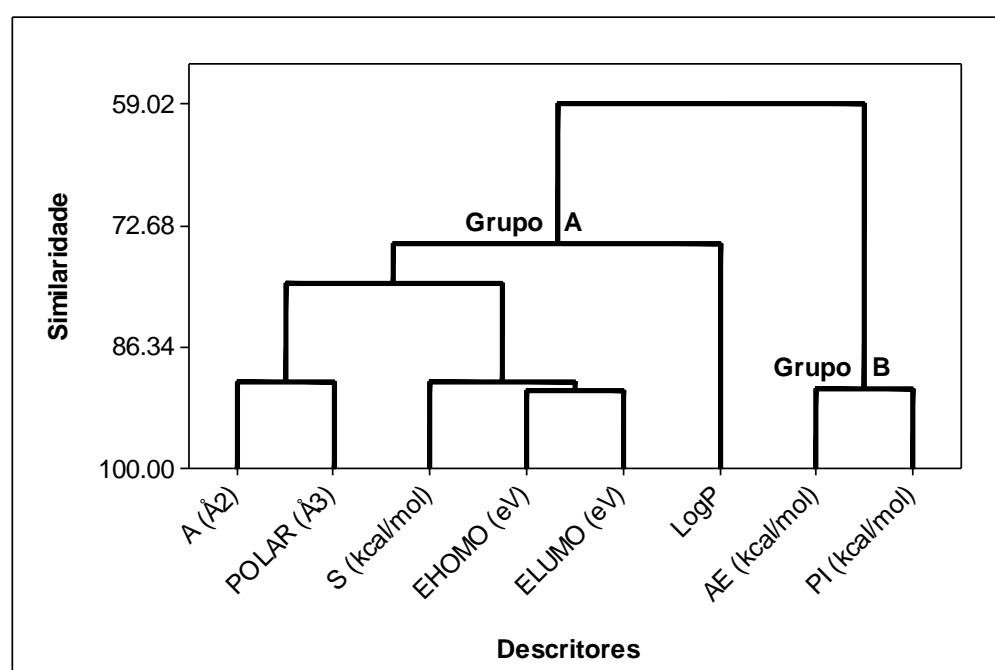
Figura 21 – Gráfico dos loadings para a segunda análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Analisando as Figuras 21 e 22, vê-se a formação de grupos com similaridades semelhantes para os descritores. No Grupo A, tem-se EHOMO e ELUMO, que são mais similares entre si, seguidos pela S, que estão relacionados à natureza eletrônica das estruturas. Ainda no mesmo grupo, encontram-se POLAR e A. Para o Grupo B, tem-se os descritores AE e PI, que se referem às energias necessárias à formação de estruturas moleculares ionizadas, aniônicas e catiônicas, respectivamente.

Figura 22 – Gráfico de similaridade entre os descritores para a segunda análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

Apesar dos resultados terem sido melhores na segunda análise quimiométrica multivariada, com uma porcentagem acumulada de 98,8%, observa-se que o número de descritores, necessários para a separação dos compostos em ativos e inativos, ainda é alto. Assim, uma terceira análise foi realizada, reduzindo o número de variáveis para quatro: LogP, POLAR, ELUMO, AE.

5.1.3 Terceira análise quimiométrica

Como verificado na primeira e segunda análises quimiométricas, o número de descritores, dezessete e oito, respectivamente, foram altos, portanto, uma terceira análise foi efetuada, fazendo-se uso de quatro descritores, que

apresentaram maior contribuição nas componentes principais PC1, PC2 e PC3 (Tabela 4).

Tabela 4 – Porcentagens da variância de cada CP e da variância acumulada para a terceira análise quimiométrica.

Componente Principal	(% CP)	% acumulada
CP1	55,9	55,9
CP2	25,2	81,1
CP3	18,9	100

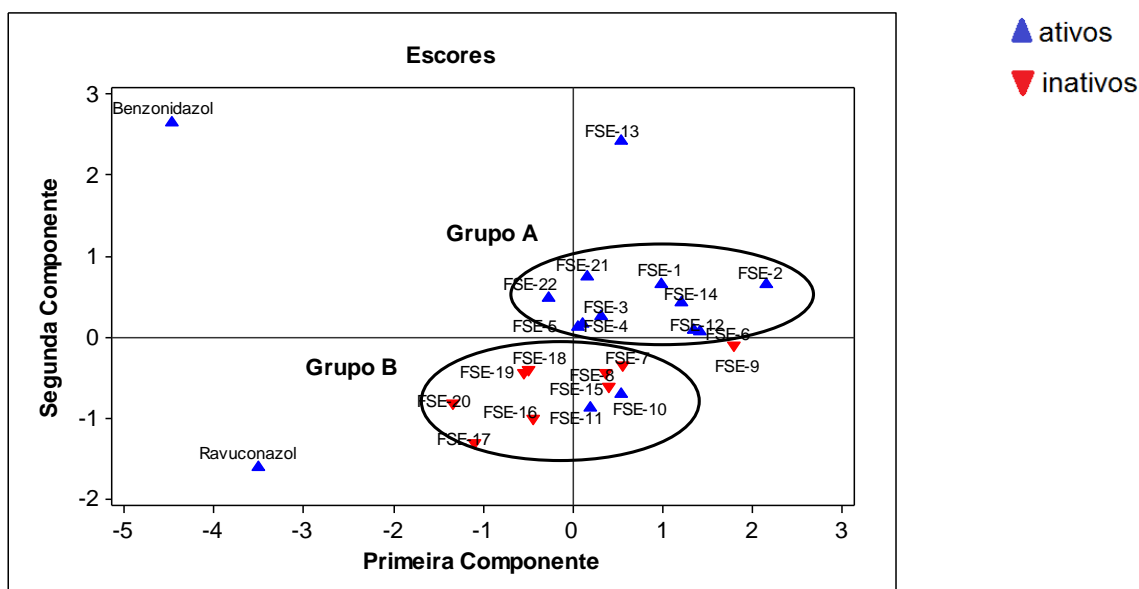
Fonte: Dados da Pesquisa

Observando os resultados da Tabela 4, nota-se que as três componentes principais, são melhores que os valores obtidos para a primeira e segunda análises.

Nesta última análise quimiométrica, nota-se que os descritores que apresentaram maior contribuição para a separação dos compostos foram o logaritmo de partição, a polarizabilidade, a energia do orbital de fronteira LUMO e a afinidade eletrônica.

A Figura 23 apresenta a separação dos compostos em ativos e inativos. Nota-se que os compostos ativos apresentam-se em CP1 entre -0,5 e +2,5 e CP2 positiva, no intervalo de 0 a +3, e que aqueles inativos, estão em CP1 entre -1,5 e +2 e CP2 negativa com os valores de 0 a -1,5.

Figura 23 – Gráfico de escores para a terceira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da Pesquisa

Observa-se que o grupo A é formado pelos compostos FSE-1, FSE-2, FSE-3, FSE-4, FSE-5, FSE-6, FSE-12, FSE-14, FSE-21 e FSE-22. Os compostos inativos, FSE-7, FSE-8, FSE-15, FSE-16, FSE-17, FSE-18, FSE-19 e FSE-20 formam o grupo B.

Observa-se ainda na Figura 23, que os compostos ativos benzonidazol, ravuconazol, FSE-13 e que o composto FSE-9, inativo, não fazem parte de nenhum dos grupos formados.

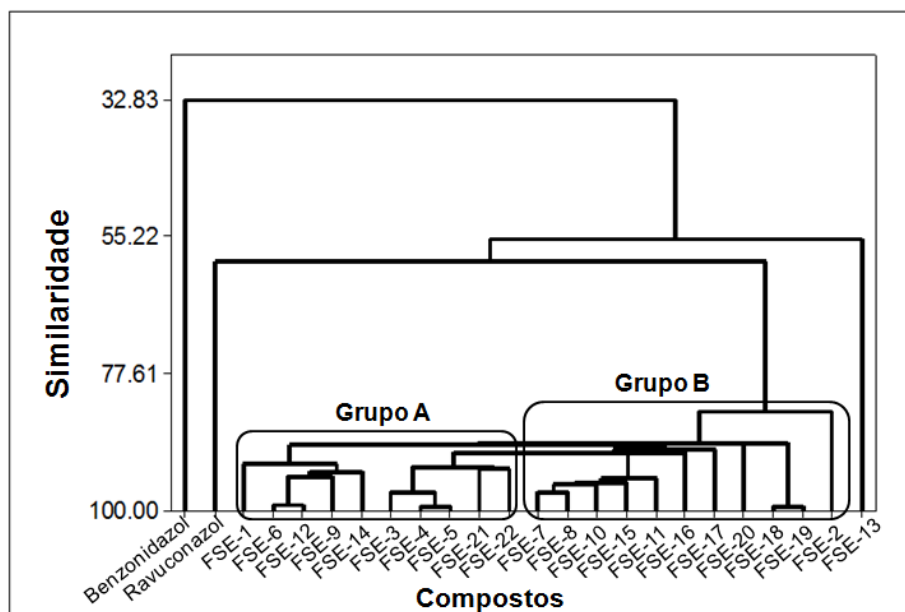
O benzonidazol encontra-se na mesma região dos compostos ativos, PC2 positiva, embora distante destes. O grande distanciamento observado está relacionado com a diferença entre a estrutura química do benzonidazol e os derivados naftoquinônicos. O fato de tal composto está na mesma região de PC pode ser devido à presença do anel imidazol, observado também nos derivados estudados.

O ravuconazol, apesar de ser uma substância com prováveis atividades tripanocidas, também se encontra distante dos derivados naftoimidazólicos devido sua estrutura ser quimicamente diferente quando comparada aos compostos estudados.

Sua posição na região de PC1 negativa, que caracteriza a inatividade biológica, possivelmente seja devido à presença de grupamentos, observados também nos derivados naftoquinônicos inativos, como os grupamentos –CN e –F, que são grupos retiradores de elétrons, que possivelmente, sejam os responsáveis pela inatividade observada nos compostos inativos. O composto FSE-9, inativo, não faz parte de nenhum grupo, porém, encontra-se na região dos compostos inativos, CP2 negativa.

Ao se observar a Figura 24, nota-se que o FSE-9 está inserido no Grupo A (compostos ativos) devido à similaridade estrutural com os demais compostos. O mesmo se observa para o composto FSE-13, que não faz parte de nenhum dos grupos formados na Figura 23, mas se observa na Figura 24, que este composto poderia ser incluído tanto no Grupo A quanto no Grupo B, pela similaridade estrutural.

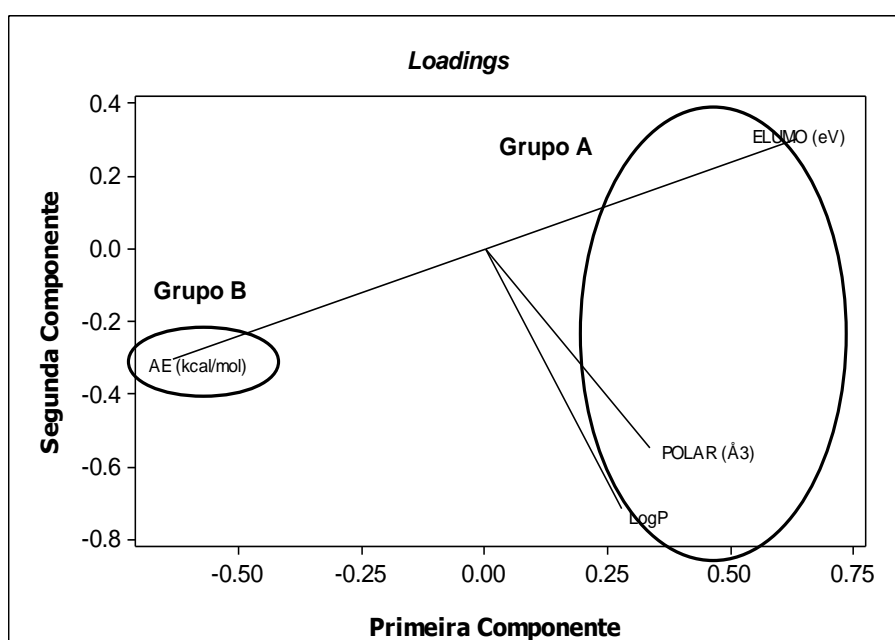
Figura 24 – Dendrograma de similaridade para os compostos na terceira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da pesquisa

Os descritores físico-químicos responsáveis pela separação e formação de grupos são vistos na Figura 25. O grupo A é formado pelos descritores ELUMO, POLAR e LogP e, o Grupo B é formado unicamente pelo descritor AE.

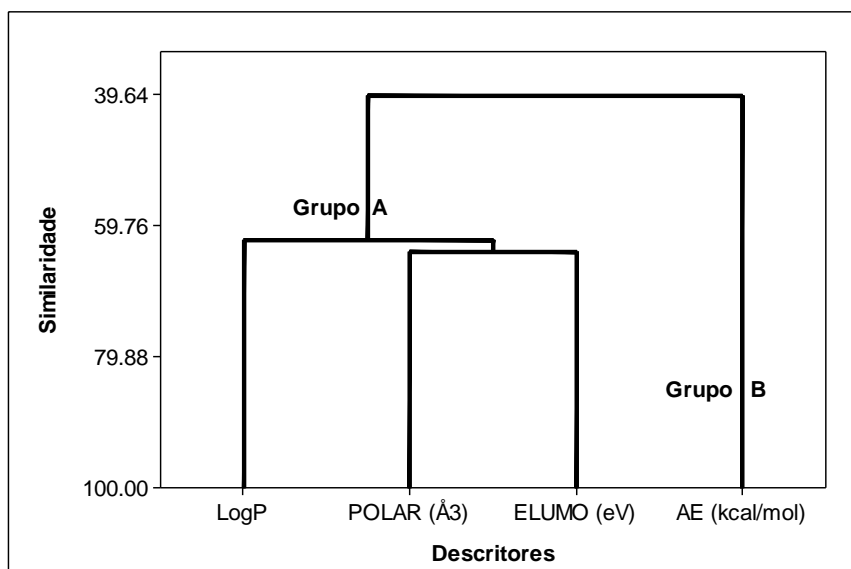
Figura 25 – Gráfico dos loadings para a terceira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da pesquisa

A Figura 26 apresenta a similaridade entre os descritores calculados, corroborando com a Figura 25.

Figura 26 – Gráfico de similaridade entre os descritores para a terceira análise quimiométrica.



Fonte: Dados da pesquisa

Observa-se que os descritores responsáveis pela separação dos compostos em ativos e inativos são de natureza eletrônica. Exceção é o logaritmo de partição que se relaciona com a solubilidade dos compostos em fase orgânica ou aquosa. Analisando-se a Figura 23 e a Figura 25, pode-se sugerir que os descritores responsáveis pela separação dos compostos ativos são: ELUMO, POLAR e LogP, enquanto que o descritor responsável pela inatividade é AE.

A contribuição de cada descritor para a separação dos compostos pode ser verificada na Tabela 5 e nas equações 16, 17 e 18.

Tabela 5 – Contribuição de cada componente principal para a equação dos descritores físico-químicos.

Variável	CP1	CP2	CP3
LogP	0,278	-0,718	0,638
POLAR	0,337	-0,549	-0,765
ELUMO	0,636	0,302	0,063
AE	-0,636	-0,302	-0,063

A partir dos dados dispostos na Tabela 5, obtêm-se as seguintes equações:

$$CP1 = + 0,278 \text{ LogP} + 0,337 \text{ POLAR} + 0,636 \text{ ELUMO} - 0,636 \text{ AE} \quad (16)$$

$$CP2 = - 0,718 \text{ LogP} - 0,549 \text{ POLAR} + 0,302 \text{ ELUMO} - 0,302 \text{ AE} \quad (17)$$

$$CP3 = + 0,608 \text{ LogP} - 0,765 \text{ POLAR} + 0,063 \text{ ELUMO} - 0,063 \text{ AE} \quad (18)$$

Através da análise de cada uma destas equações, pode-se extrair as seguintes conclusões:

Observa-se pela equação 15, que para a componente principal 1, os descritores que mais contribuem para a atividade observada dos compostos são LogP, POLAR e ELUMO, enquanto que o descritor AE contribui para a inatividade. Aqueles descritores que apresentam coeficiente positivo contribuem para a atividade dos compostos analisados, enquanto que os descritores com coeficientes negativos favorecem a inatividade.

Para a componente principal 2, os descritores LogP, POLAR e AE, contribuem para a inatividade, enquanto que o descritor ELUMO, contribui para a atividade biológica.

Verifica-se que a componente principal 3, que a atividade biológica é influência dos descritores LogP e ELUMO, enquanto que a inatividade estaria relacionada aos descritores POLAR e AE.

Analisando as três equações, nota-se que o descritor que mais contribui para a atividade biológica dos compostos é o ELUMO e aquele responsável pela inatividade é o AE.

Como pôde ser visto, através dos cálculos químico-quânticos, para obtenção dos descritores físico-químicos, juntamente com a aplicação da análise quimiométrica multivariada, foi possível obter os descritores responsáveis pela atividade e inatividade biológica dos compostos estudados, que foram à energia do orbital LUMO e a afinidade eletrônica, respectivamente.

Para os compostos ativos, segundo Moura et al, 2004, nos testes de atividade biológica para amostras de sangue contendo o parasito, aqueles mais ativos apresentam grupamentos metilas (-CH₃) ligado ao anel fenila (FSE-12, FSE-13 e

FSE-14). O composto FSE-2, com anel indol ($-C_8H_6N$) também se apresenta como um dos mais ativos.

Ainda segundo Moura et al, 2004, os compostos que apresentam halogênios, como flúor, cloro ou bromo, apresentam baixa ou nenhuma atividade biológica. Observa-se que os compostos que apresentam grupos retiradores de elétrons como trifluormetano ($-CF_3$) e cianeto ($-CN$) são inativos. Os compostos FSE-21 e FSE-22, também apresentam baixa atividade, provavelmente devido ao par eletrônico do anel pirano, ligado ao fenil, não estar disponível para formação de ligação com os resíduos de aminoácidos próximos ao sítio ativo da proteína de *T. cruzi*.

Como pôde ser verificado no último resultado da análise quimiométrica o benzonidazol e o ravuconazol localizaram-se em regiões de PCs diferentes dos compostos estudados, tendo em vista suas estruturas químicas serem diferentes dos derivados naftoimidazólicos.

Dessa forma, foi realizada mais uma análise quimiométrica retirando o benzonidazol, o ravuconazol e os derivados com bromo, dos quais dois são ativos e encontram-se na região dos inativos (FSE-10, FSE-11) e o FSE-9 que é inativo e encontra-se entre os ativos na separação quimiométrica.

Antes de apresentar os resultados da nova análise quimiométrica serão feitas algumas observações sobre os valores de EC_{50} dos derivados naftoimidazólicos obtidos por Moura et al., (2004), uma vez que alguns derivados apresentaram valores discrepantes para estes dados.

Fazendo-se uma análise dos resultados experimentais obtidos por Moura et al. (2004) para os testes de atividade biológica, foram classificados como mais ativos, os compostos com $EC_{50/24h}(\mu M)$ abaixo de $100\mu M$:

Compostos	$EC_{50/24h}(\mu M)$	RA
FSE-1	$37,0 \pm 0,7$	14,49
FSE-2	$15,4 \pm 0,2$	34,81
FSE-6	$39,4 \pm 8,1$	13,60
FSE-13	$37,5 \pm 12,8$	14,29
FSE-14	$15,5 \pm 2,9$	34,58

Observa-se que três compostos, com $EC_{50}/24h(\mu M)$ próximo de 100 μM , podem apresentar baixa atividade de acordo com seus valores de atividade relativa:

Compostos	$EC_{50}/24h(\mu M)$	RA
FSE-5	98,0 \pm 4,8	5,47
FSE-11	84,9 \pm 3,2	6,31
FSE-12	90,8 \pm 5,8	5,90

Outros derivados com $EC_{50}/24h(\mu M)$ maiores que 100 μM (e menores que o valor do cristal violeta (CV) usado como padrão) foram considerados ativos (MOURA et al., 2004):

Compostos	$EC_{50}/24h(\mu M)$	RA
FSE-3	243,3 \pm 24,6	2,20
FSE-4	372,0 \pm 38,7	1,44
FSE-10	147,8 \pm 12,5	3,63
FSE-21	154,9 \pm 10,4	3,46
FSE-22	190,5 \pm 30,3	2,81
CV	536,0 \pm 3,0	1,00

Os demais derivados apresentam $EC_{50}/24h(\mu M)$ acima de 100 μM ou acima do padrão CV, sendo considerados inativos.

Através destes valores de $EC_{50}/24h(\mu M)$ expressos por Moura et al. (2004), nota-se algumas discrepâncias: os compostos FSE-3 (*orto*-flúor) e FSE-4 (*meta*-flúor) foram considerados ativos, mesmo com valores de EC_{50} acima de 100 μM ; o mesmo se observa para o FSE-10 (*orto*-bromo).

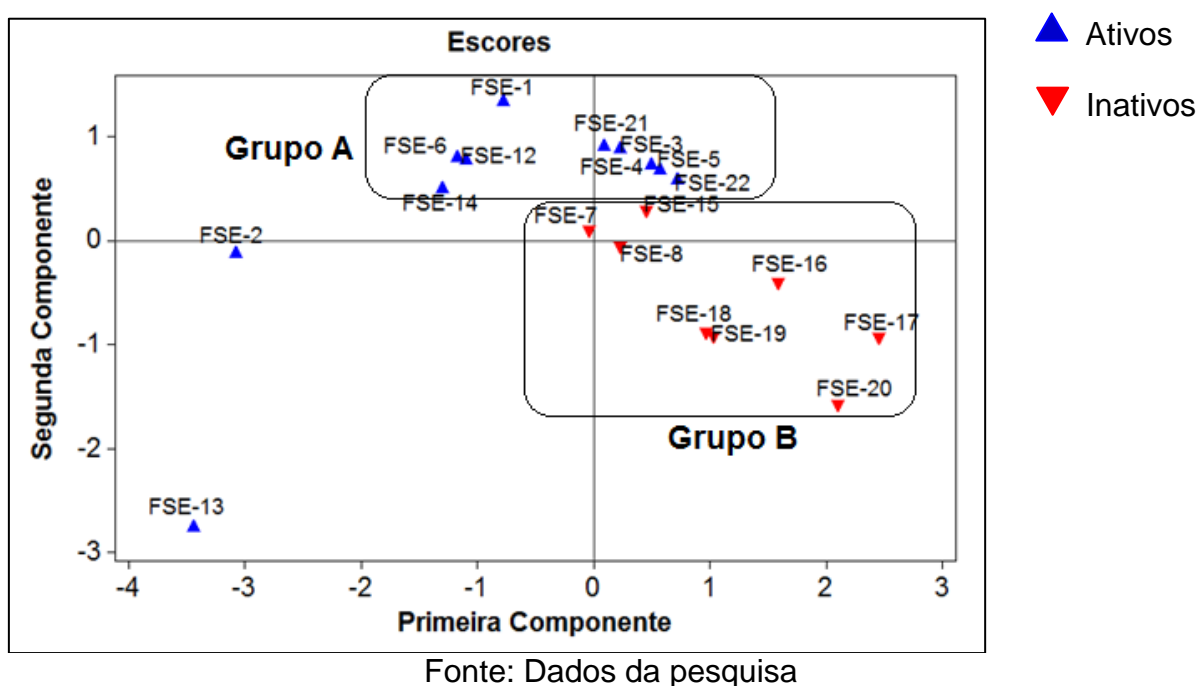
Com base nestas informações dos EC_{50} e nos resultados anteriores sobre a separação dos compostos em ativos e inativos, foi realizada uma quarta análise quimiométrica multivariada. Nesta análise foram retirados o benzonidazol e ravuconazol, devido suas diferenças estruturais, além dos três derivados FSE-9, FSE-10 e FSE-11, para verificar se assim, a separação dos derivados naftoimidazólicos em ativos e inativos seria melhor.

Para esta quarta análise quimiométrica os resultados e as contribuições das componentes principais são:

Componente Principal	(% CP)	% acumulada
CP1	59,1	59,1
CP2	26,5	85,6
CP3	14,4	100

A CP3 tem maior contribuição com 14,4% dos dados com uma porcentagem acumulada de 100%. A separação dos compostos em ativos e inativos é observada na Figura 27.

Figura 27 - Gráfico de escores para a quarta análise quimiométrica.



A Figura 27 mostra a separação dos derivados em ativos e inativos. Nota-se que os compostos ativos estão na região de PC1 entre -2 e +2 e PC2 positiva. Os compostos inativos localizam-se em PC1 positiva e PC2 negativa.

Verifica-se que os derivados FSE-2 e FSE-13 encontram-se distante dos demais compostos. O distanciamento do FSE-2 ocorre devido a presença do anel indol ligado ao anel imidazol, que deixa a estrutura diferente dos outros derivados.

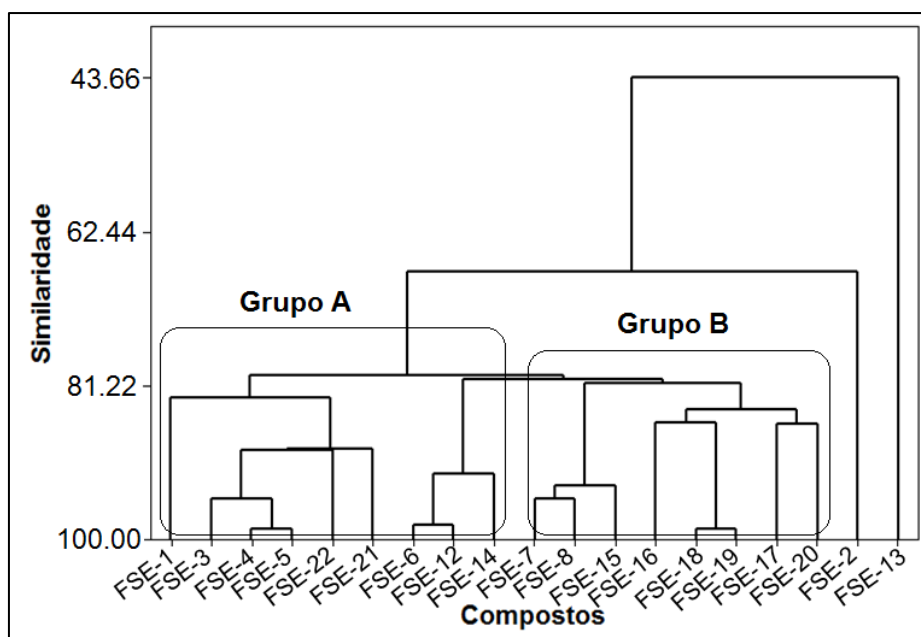
O comportamento inesperado do FSE-13 poderia ser justificado através de seu valor para o descritor físico-químico relacionado à solubilidade do composto em meio aquoso ou fase orgânica, o LogP.

Compostos	LogP
FSE-12	4,82
FSE-13	0,35
FSE-14	4,28

Verifica-se que para os compostos FSE-12 e FSE-14 o valor para este descritor não possui grande diferença, indicando que são mais solúveis na fase orgânica. Já o composto FSE-13, apresentou um valor baixo (pouco solúvel em fase orgânica) para este descritor, não só em relação ao FSE-12 e FSE-14, quanto em relação dos demais derivados estudados.

A similaridade entre os compostos e a formação dos grupos é observada na Figura 28.

Figura 28 – Dendrograma de similaridade para os compostos na quarta análise quimiométrica.

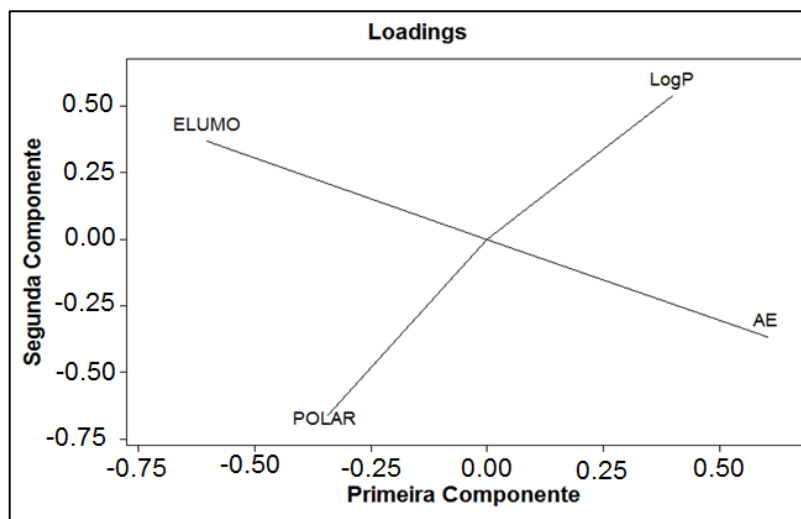


Fonte: Dados da pesquisa

Na Figura 28 nota-se os mesmos grupos formados para a Figura 27: Grupo A para a separação dos compostos ativos e Grupo B para os derivados inativos. Observa-se que os derivados FSE-2 e FSE-13, não fazem parte dos dois grupos formados, fato observado e descrito na Figura 27.

Os descritores responsáveis pela separação dos derivados naftoimidazólicos em ativos e inativos são observados na Figura 29.

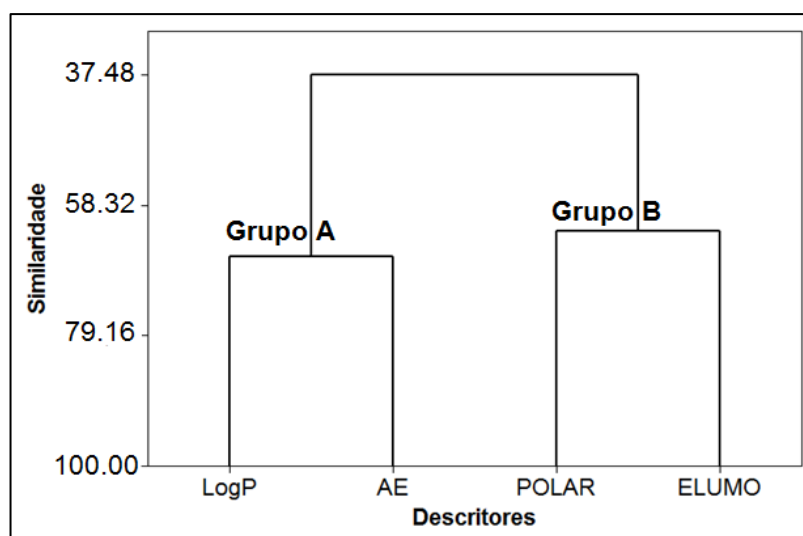
Figura 29 – Gráfico dos loadings para a quarta análise quimiométrica.



Fonte: Dados da pesquisa.

Analisando as Figuras 27 e 29, verifica-se que os descritores POLAR, ELUMO e LogP são responsáveis pela separação dos compostos ativos e o descritor AE é responsável pela separação dos inativos. A Figura 30 corrobora com os dados dispostos nas Figuras 27 e 29.

Figura 30 – Gráfico de similaridade entre os descritores para a quarta análise quimiométrica.



Fonte: Dados da pesquisa

Nota-se na Figura 30 que o Grupo A é formado por um descritor de solubilidade, LogP, e um descritor eletrônico, AE. Para o Grupo B, têm-se dois descritores de caráter eletrônico, a polarizabilidade e a energia do orbital molecular LUMO.

Depois de se obter a separação dos compostos em ativos e inativos e conhecer quais os descritores físico-químicos responsáveis pela atividade e inatividade biológica, através da aplicação da técnica quimiométrica multivariada, passou-se para os cálculos de ancoramento molecular.

5.2 Análise e discussão do ancoramento molecular

O estudo de docking molecular (ou ancoramento molecular) teve por objetivo verificar o tipo de interação proteína-ligante existente entre a estrutura do benzonidazol e do ravuconazol além, dos compostos de derivados naftoimidazólicos mais ativos, nos testes biológicos: FSE-1, FSE-2, FSE-13 e FSE-14.

A proteína usada para o ancoramento molecular está disponível no banco de dados do *Protein Data Bank*, identificada com código 1ME3, EC 3.4.22.51. Sua estrutura foi determinada por difração de raios X, com resolução de 1,20 Å, $R_{obs} = 0,103$, com parâmetros lineares ($a = 42,57$ Å, $b = 51,59$ Å, $c = 45,95$ Å) e com parâmetros angulares ($\alpha = 90^\circ$, $\beta = 116,62^\circ$, $\gamma = 90^\circ$) e grupo espacial $P2_1$.

Os *softwares* utilizados para a realização dos estudos de ancoramento molecular foram AutoDock e Pymol. No programa AutoDock, realizou-se a modelagem molecular da proteína cruzaina de *T. cruzi*, com cada uma das moléculas citadas no parágrafo anterior, separadamente. Nesta modelagem molecular, obtém-se um arquivo com as 10 conformações mais estáveis para cada estrutura, individualmente.

No referido arquivo, tem-se os valores de ΔG (kcal.mol^{-1}) para cada conformação bem como o valor da constante de inibição, K_i (as unidades da constante de inibição podem variar: mM, μM , nM). Observa-se que, quanto mais

negativo o valor da energia livre de Gibbs calculado, menor será o valor encontrado para a constante de inibição, conseqüentemente, maior a interação proteína-ligante.

Após a realização da modelagem molecular da proteína com o ligante, realizou-se a interpretação das melhores conformações, utilizando-se o programa PyMol. Para se fazer a análise, não necessariamente, deve-se escolher a conformação que forneceu os melhores valores de ΔG e K_i , mas sim, observar, em qual conformação, o ligante encontra-se mais próximo dos resíduos de aminoácido do sítio ativo da proteína cruzaina.

5.2.1 Ancoramento molecular

A seguir serão apresentados os resultados do ancoramento molecular para o benzonidazol, ravuconazol e os derivados naftoimidazólicos mais ativos: FSE-1, FSE-2, FSE-13 e FSE-14. A Tabela 6 apresenta os valores de ΔG e K_i obtidos após a realização do ancoramento molecular. Nota-se que os compostos FSE-2 e FSE-14 apresentaram melhores resultados em relação aos derivados FSE-1 e FSE13 bem como em relação ao benzonidazol e o ravuconazol.

Tabela 6 – Valores de ΔG e K_i para os compostos mais ativos.

Compostos	ΔG (kcal/mol)	K_i (μM)
Benzonidazol	-4,55	465,54
Ravuconazol	-4,46	540,70
FSE-1	- 8,06	1,23
FSE-2	- 9,18	0,188
FSE-13	- 8,29	0,844
FSE-14	-8,35	0,754

Fonte: Dados da pesquisa.

Segundo Morris et al. (1998), nos cálculos realizados pelo Autodock, a relação entre ΔG e K_i é dada pela Eq. 19:

$$\Delta G = RT \ln K_i \quad (19)$$

Sendo: R = constante dos gases ($1,987 \text{ cal.K}^{-1}\text{mol}^{-1}$) e T = 298,15 K.

A Tabela 7 apresenta os valores para as interações dos resíduos de aminoácidos da cruzaina com o benzonidazol.

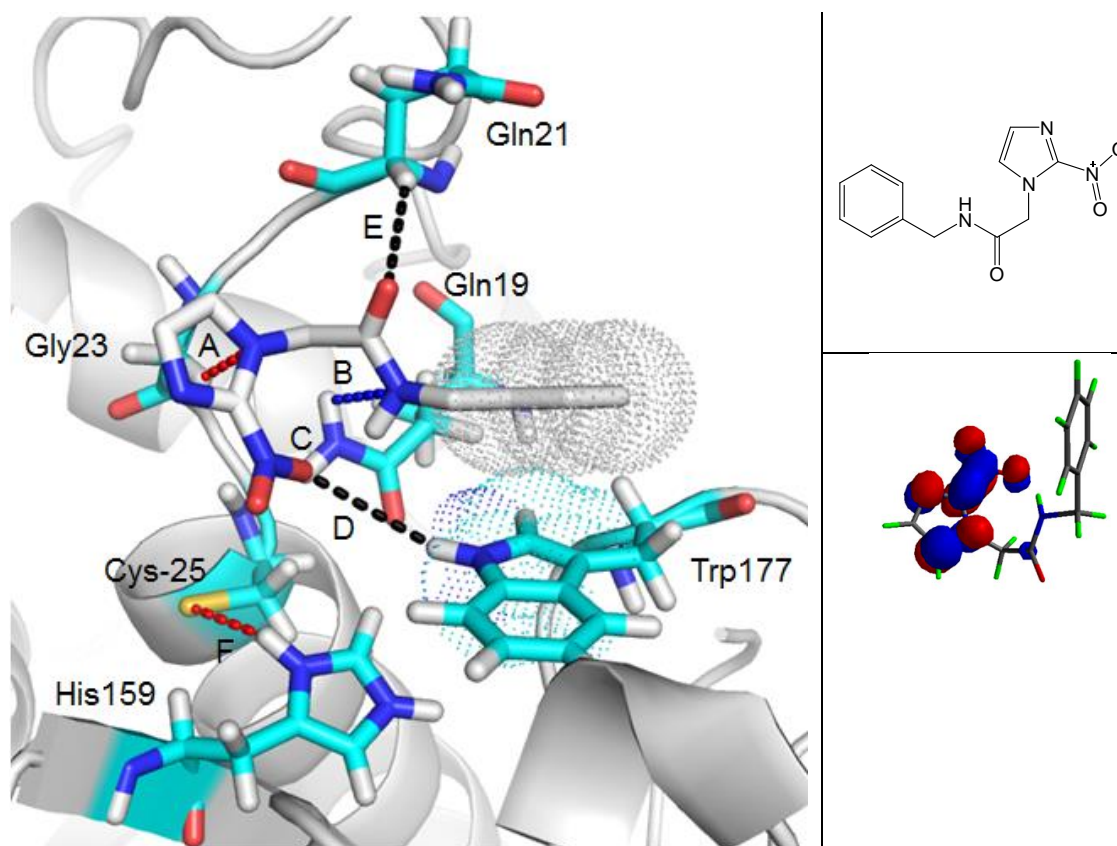
Tabela 7 – Estrutura, tipos de interação e comprimentos de interação para o benzonidazol.

Composto	IRL	CDL (Å)
Benzonidazol	-CH ₂ - (Gly23)- ... -N-	(A) 2,83
	-NH ₂ (Gln19) ... -NH-	(B) 3,43
	-NH ₂ (Gln19) ... -NOO ⁻	(C) 2,28
	-NH- (Trp177) ... -NOO ⁻	(D) 3,51
	-CH- (Gln21) ... -CO-	(E) 3,05

Fonte: Dados da pesquisa.

As interações resíduo-ligante são vistas na Figura 31 além da sua estrutura plana e do orbital de fronteira LUMO.

Figura 31 – Ancoramento molecular para o benzonidazol com a cruzaina.



Distâncias (Å): (A) 2,83, (B) 3,43, (C) 2,28, (D) 3,51, (E) 3,05.

Fonte: Dados da pesquisa.

Observando os dados da Tabela 7, nota-se a interação do benzonidazol com o resíduo Gln19. Interações com este resíduo mostram-se importantes possivelmente porque podem inibir a ação da proteína cruzaina (HUANG et al, 2003; ROMEIRO et al., 2009).

Analisando-se a Figura 31, percebe-se que a interação (A) ocorre entre o grupamento $-CH_2-$ do Gly23 com o nitrogênio do anel imidazol no benzonidazol. Pela análise do orbital LUMO calculado, sugere-se que as regiões do benzonidazol que apresentam átomos de nitrogênio seriam favoráveis à formação de interação com a enzima cruzaina.

Observa-se também a interação (B) entre o $-NH_2-$ do resíduo Gln19 com o par de elétrons livres do $-NH-$ no benzonidazol, podendo-se sugerir que esta interação contribui na inibição da enzima cruzaina.

A interação (C) do Gln19 é verificada entre seu grupo $-NH_2-$ e o grupo $-NOO^-$ do benzonidazol. O grupamento $-NOO^-$ do benzonidazol apresenta ainda uma interação (D) com o $=NH-$ do anel indol do resíduo Trp177. Estas interações podem estabilizar o efeito ressonante do grupo $-NOO^-$, contribuindo na inibição enzimática.

O resíduo Gln21 apresenta uma interação (E) entre o hidrogênio do carbono quiral com o $-C=O$ do benzonidazol. Uma interação (F) é observada entre o átomo de enxofre desprotonado do Cys25 com o $=NH-$ do His159. Esta interação forma o par iônico Cys25-His159, responsável pela atividade da enzima (SAJID e McKEROW, 2002).

É verificada ainda, interação do tipo π - π stacking ou empilhamento, entre o anel benzênico do benzonidazol com o anel imidazol no grupo indol do Trp177. Especificamente a interação é observada entre um orbital π (*orto*) no anel benzênico, do benzonidazol, com o $-NH-$ do Trp177, com comprimento 3,7 Å. A segunda interação ocorre entre o orbital π (*meta*) no anel benzênico, do benzonidazol com o $-CH=$ do Trp177, comprimento 3,4 Å. A média para estas interações é igual a 3,55 Å.

Para o ravuconazol, as distâncias das interações com a enzima cruzaina, bem como as interações resíduo-ligante são dadas na Tabela 8.

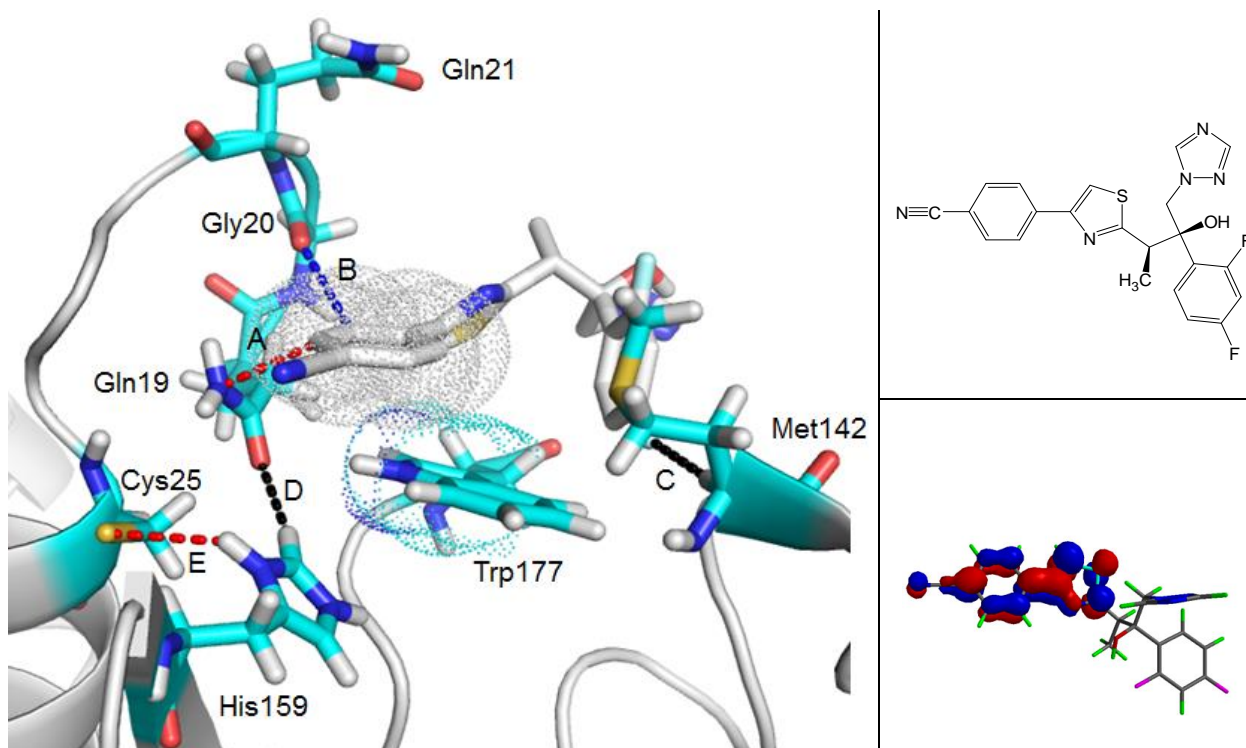
Tabela 8 – Estrutura, tipos de interação e comprimentos de interação para o ravuconazol.

Composto	IRL	CDL (Å)
Ravuconazol	=CH- (Gln19) ••• -NH ₂	(A) 2,94
	-C=O (Gly20) ••• =CH-	(B) 3,38
	-CH- (Met142) ••• =CF-	(C) 3,42

Fonte: Dados da pesquisa

Os resultados do ancoramento molecular para o ravuconazol com a enzima cruzaina são observados na Figura 32. Também são vistos na mesma figura a estrutura plana do ravuconazol bem como seu orbital de fronteira LUMO.

Figura 32 – Ancoramento molecular para o ravuconazol com a cruzaina.



Distâncias (Å): (A) 2,94, (B) 3,38, (C) 3,42.

Fonte: Dados da pesquisa.

Analisando a Figura 32, observa-se uma interação (A) de hidrogênio entre o -NH_2 do resíduo Gln19 com =CH- (Csp^2) do anel benzênico do ravuconazol. Esta ligação é realizada com o par eletrônico do nitrogênio, provavelmente estabilizando a região do Gln19, que estaria em ressonância com a carbonila.

A interação (B), no mesmo anel, com o resíduo Gly20 também é observada. Esta interação pode estabilizar a ressonância presente no resíduo de Gly20, podendo favorecer a inibição enzimática nesta região. O orbital LUMO calculado para o ravuconazol mostra a posição destas possibilidades de formação de ligação.

Também é observada uma interação (C) entre o $\text{-Csp}^2\text{-F-}$ do ravuconazol e o carbono quiral do resíduo Met142. Esta interação pode não ter influência na inibição da atividade para a cruzaina, tendo em vista que o orbital molecular LUMO, não apresenta esta região contribuição para formação de interações com a cruzaina.

São observadas ainda, duas interações entre resíduos de aminoácidos. A interação (D) é observada entre o =CH- do anel imidazol do His159 e a -C=O do Gln19. Esta interação pode estabilizar a ressonância presente entre a carbonila e a amina do Gln19. A outra interação (E) é observada entre o átomo de enxofre do Cys25 e o =NH- do anel imidazol do His159.

São observadas ainda, interações de empilhamento entre o anel cianeto de fenila, do ravuconazol, com o anel indol do Trp177. Uma interação ocorre na entre o Csp^2 do benzeno do ravuconazol (posição *orto*) com o -NH- do Trp177, com comprimento 3,4 Å. A outra interação do tipo $\pi\text{-}\pi$ ocorre com o Csp^2 do benzeno, do ravuconazol (posição *meta*) com o -CH= do Trp177, com comprimento 3,7 Å. A média para esta interação é igual a 3,55 Å

Para o derivado FSE-1 os resultados do ancoramento molecular com a cruzaina são vistos na Tabela 9 e as posições de cada interação com seus respectivos resíduos são visualizadas na Figura 33.

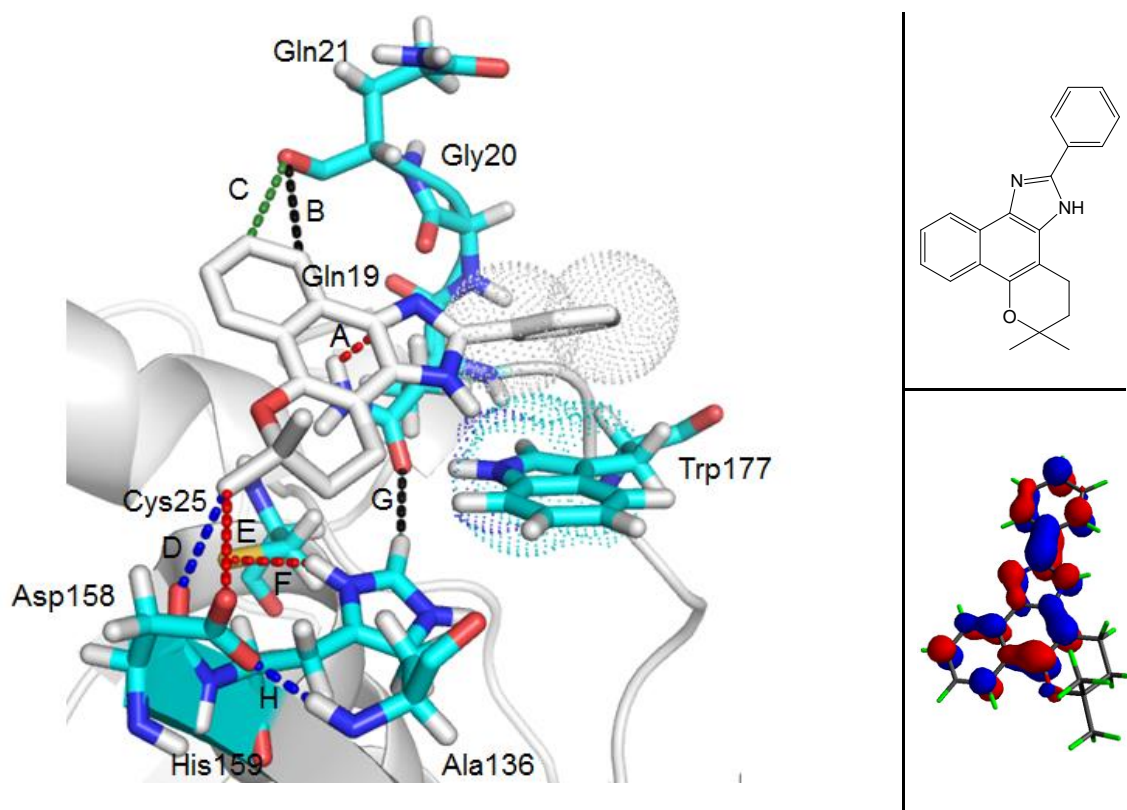
Tabela 9 – Estruturas, resíduos, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE-1.

Composto	IRL	CDL (Å)
FSE-1	-NH ₂ (Gln19) ⋯ =N-	(A) 3,38
	-C=O (Gln21) ⋯ =CH-	(B) 3,36
	-C=O (Gln21) ⋯ =CH-	(C) 3,26
	-C=O (Asp158) ⋯ -CH ₃	(D) 3,03
	-COO ⁻ (Asp158) ⋯ -CH ₃	(E) 3,90

Fonte: Dados da pesquisa

Analisando-se a Figura 33, observa-se a interação (A) entre o -NH₂ do resíduo Gln19 com o nitrogênio do anel imidazol do FSE-1. Esta interação pode inibir, por ressonância, a cruzaina devido à interação (G) entre o anel imidazol do His159 com a carboxila do Gln19. Ao se observar o orbital de fronteira LUMO calculado, nota-se as regiões que favorecem a interação (A).

Figura 33 – Ancoramento molecular para a estrutura FSE-1 com a cruzaina.



Distâncias (Å): (A) 3,38, (B) 3,36, (C) 3,26, (D) 3,03, (E) 3,90.

Fonte: Dados da pesquisa.

Duas interações (B) e (C) são observadas entre o -C=O do resíduo Gln21 com os carbonos sp^2 do benzeno, nas posições *para* e *orto*, respectivamente. Estas interações, provavelmente, apresentam contribuição na inibição da enzima, pois os orbitais LUMO calculados mostram que tanto a região *para* quanto a região *orto*, contribuem mais para estas interações do que a região *meta*.

O mesmo não se observa para as interações (D) e (E), formadas com o resíduo Asp158 e o anel 2,2-dimetiltetrahydro-2H-pirano do FSE-1. A interação (D) encontra-se entre o -C=O do resíduo Asp158 com uma das metilas do anel derivado do pirano. A interação (E) ocorre entre o grupamento -COO^- do mesmo resíduo, com a mesma metila do anel derivado do pirano. Apesar de não se verificar no orbital LUMO, regiões que favoreçam estas interações de hidrogênio, elas podem ser observadas, devido suas proximidades com os resíduos citados.

Observa-se ainda uma interação (H) entre o =NH- do resíduo Ala136 com o grupamento -COO^- do Asp158. Esta interação pode contribuir com a interação (D) uma vez que pode ocorrer uma estabilização do efeito ressonante do grupo acetato do Asp158. A interação (F) observada entre o =NH- do anel imidazol do resíduo His159 e o átomo de enxofre do resíduo Cys25, pode estabilizar esta região da enzima cruzaina, pela formação do par iônico tialoimidazol, responsável também pelo enovelamento da enzima.

A interação de empilhamento é observada entre o anel benzênico do FSE-1, com o anel pirrol do grupo indol do Trp177. Uma interação ocorre no $\text{Csp}^2\text{-orto}$ do benzeno como o -CH= do anel pirrol do grupo indol do Trp177 com comprimento 4,2 Å. A outra interação, com comprimento 4,1 Å, ocorre em posição *meta*, com o mesmo anel do FSE-2 e o mesmo resíduo da interação anterior. O comprimento médio para estas interações é igual a 4,2 Å. O orbital LUMO, calculado para o FSE-1, mostra a contribuição dos orbitais para a interação de empilhamento observada com o resíduo Trp177.

A Tabela 10 apresenta os valores obtidos para as interações obtidas para o derivado FSE-2, bem como os resíduos de aminoácidos e as interações resíduo-ligante.

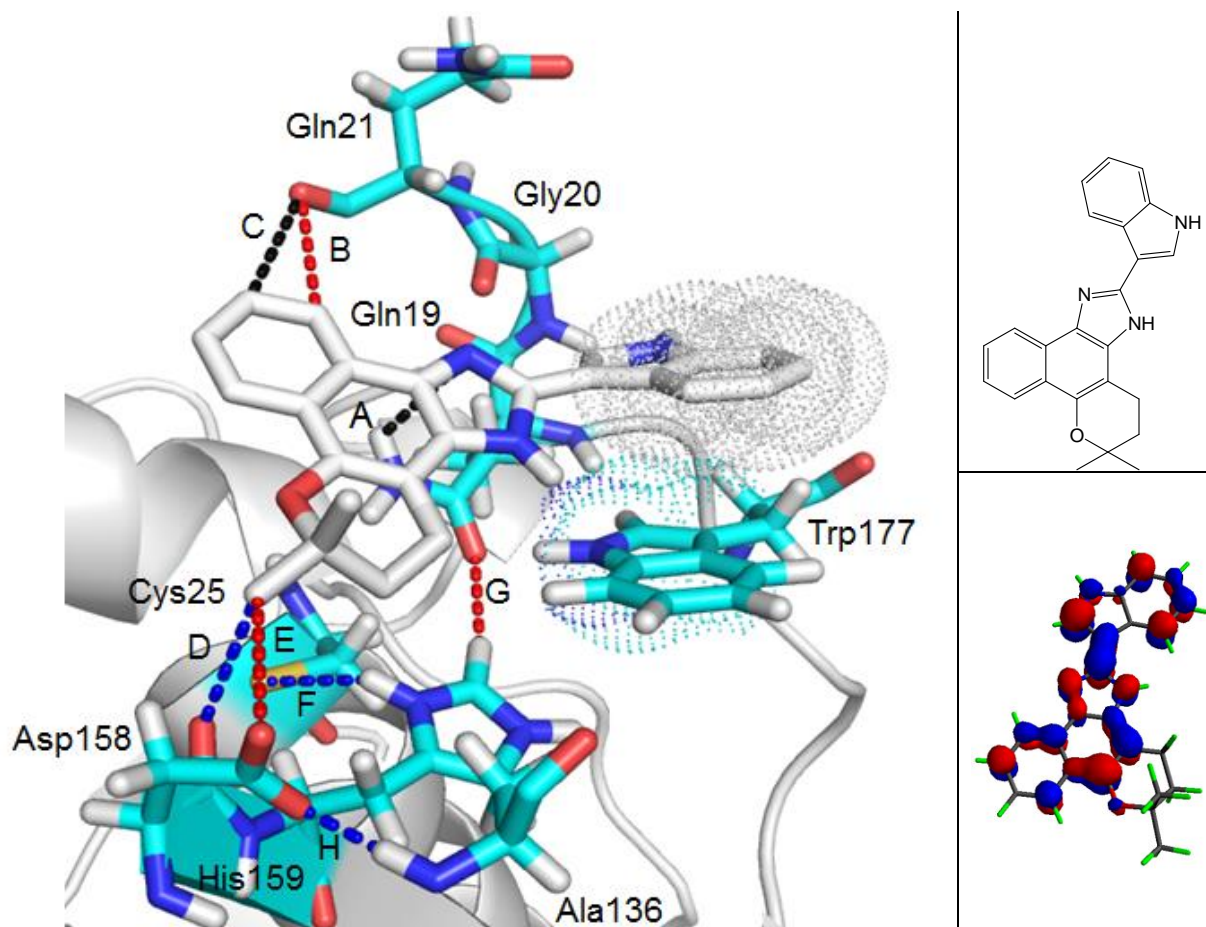
Tabela 10 – Estruturas, resíduos, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE-2.

Composto	IRL	CDL (Å)
FSE-2	-NH ₂ (Gln19) ⋯ =N-	(A) 3,19
	-C=O (Gln21) ⋯ =CH-	(B) 3,33
	-C=O (Gln21) ⋯ =CH-	(C) 3,35
	-C=O (Asp158) ⋯ -CH ₃	(D) 3,16
	-COO ⁻ (Asp158) ⋯ -CH ₃	(E) 3,82

Fonte: Dados da pesquisa

A Figura 34 mostra a posição das interações dispostas na Tabela 10. Na mesma figura, tem-se a estrutura plana do composto e seus orbitais moleculares LUMO.

Figura 34 – Ancoramento molecular para as estruturas FSE-2 com a cruzaina.



Distâncias (Å): (A) 3,19, (B) 3,33, (C) 3,35, (D) 3,16, (E) 3,82.

Fonte: Dados da pesquisa.

Como pode ser visto na Figura 34, tem-se uma interação (A) entre o -NH_2 do resíduo Gln19 com o =N- do anel imidazol. Esta interação pode inibir da enzima cruzaina, devido à estabilização do efeito ressonante presente na interação (G) entre o =CH- do anel imidazol do resíduo His159 com a carbonila do Gln19. Analisando os orbitais LUMO calculados, nota-se que esta região do anel imidazol favorece a formação das interações mencionadas.

Observa-se interações secundárias de hidrogênio entre o anel benzênico do naftaleno e a carboxila do resíduo Gln21. A interação (B) ocorre na posição *para* enquanto a interação (C) ocorre na posição *orto*. Apesar de serem interações secundárias de hidrogênio, estas interações provavelmente, apresentam contribuição na inibição enzimática, como mostram os orbitais LUMO calculados.

Analisando as interações (D) e (E), verifica-se, através dos orbitais LUMO calculados, que estas interações, não apresentam contribuição para a inibição enzimática. No entanto, a proximidade de uma das metilas do FSE-2 com o resíduo Asp158 pode justificar, suas prováveis contribuições na interação observada.

Interações de empilhamento são observadas entre as regiões aromáticas do anel imidazol como o anel indol do resíduo Trp177. Os orbitais LUMO mostram as regiões favoráveis à formação deste tipo de interação com o anel indol do triptofano. Uma interação de empilhamento ocorre no Csp^2 do grupo pirrol no indol do Trp177 com o anel benzênico do FSE-2 na posição *meta*, com comprimento 3,7 Å. A outra interação ocorre no -NH- do mesmo resíduo com o anel benzênico do FSE-2 na posição *orto*, com comprimento 3,9 Å. Estas interações têm uma média de 3,8 Å.

A interação (F) formada entre o =NH- do resíduo His159 e o átomo de enxofre do resíduo Cys25, formam um par iônico, que provavelmente pode estabilizar e auxiliar no enovelamento da cruzaina. Já a interação (H), pode estabilizar a ressonância presente na região do grupamento -COO^- , favorecendo a interação com a metila do anel derivado do pirano no FSE-2.

A Tabela 11 apresenta os valores obtidos para as interações obtidas para o derivado FSE-13, bem como os resíduos de aminoácidos e as interações resíduo-ligante.

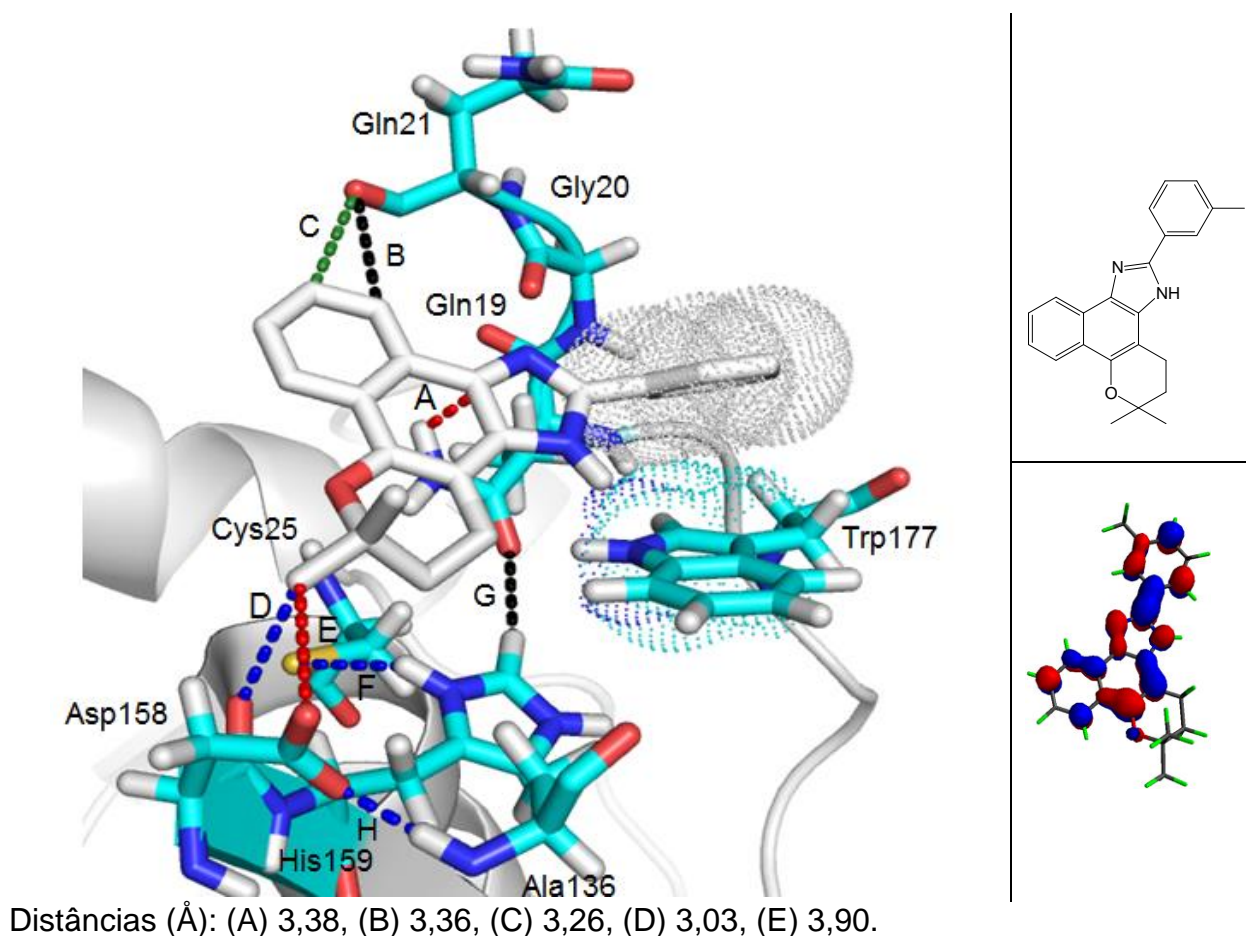
Tabela 11 – Estrutura, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE-13.

Composto	Resíduos	IRL	CDL (Å)
FSE-13	Gln19	-NH ₂ ... =N-	(A) 3,38
	Gln21	-C=O ... =CH-	(B) 3,36
	Gln21	-C=O ... =CH-	(C) 3,26
	Asp158	-C=O ... -CH ₃	(D) 3,03
	Asp158	-COO ⁻ ... -CH ₃	(E) 3,90

Fonte: Dados da pesquisa

A Figura 35 apresenta os resultados do ancoramento molecular para a estrutura FSE-13, bem como os orbitais de fronteira LUMO e a estrutura plana.

Figura 35 – Ancoramento molecular para a estrutura FSE-13 com a cruzaina.



Fonte: Dados da pesquisa.

Observando a Figura 35, nota-se a interação (A) entre o -NH_2 do resíduo Gln19 com o =N- do anel imidazol. Esta interação pode apresentar um efeito ressonante na interação (G) entre o =CH- do anel imidazol do resíduo His159 com a carbonila do Gln19. Analisando os orbitais LUMO nota-se que esta região pode favorecer a formação das interações mencionadas.

Verifica-se interações de hidrogênio entre o anel benzênico, do naftaleno, e a carboxila do resíduo Gln21. A interação (B) ocorre na posição *para* enquanto a interação (C) ocorre na posição *orto*. Para estas interações sugere-se que elas podem contribuir com a inibição enzimática, como mostram os orbitais LUMO calculados.

Analisando as interações (D) e (E), verifica-se, através dos orbitais LUMO calculados, que tais interações, provavelmente não apresentam contribuição para a inibição enzimática nas metilas do anel derivado do pirano. No entanto, a proximidade destas metilas com o resíduo Asp158 pode justificar, suas prováveis contribuições na interação observada.

Verifica-se que interações de empilhamento ocorrem no anel indol ligado ao imidazol do FSE-13, com o anel pirrol do grupamento indol do resíduo Trp177. Esta interação, com média de comprimento 4,0 Å, ocorre na mesma posição das estruturas FSE-1 e FSE-2.

A interação (F) formada entre o =NH- do resíduo His159 e o átomo de enxofre do resíduo Cys25, formam um par iônico, o qual provavelmente estabiliza e auxilia no enovelamento da enzima. Já a interação (H), pode estabilizar a ressonância presente na região do grupamento -COO^- , sugerindo-se uma interação com a metila do anel derivado do pirano.

A Tabela 12 apresenta os valores para as interações obtidas para o derivado FSE-14, bem como os resíduos de aminoácidos e as interações resíduo-ligante.

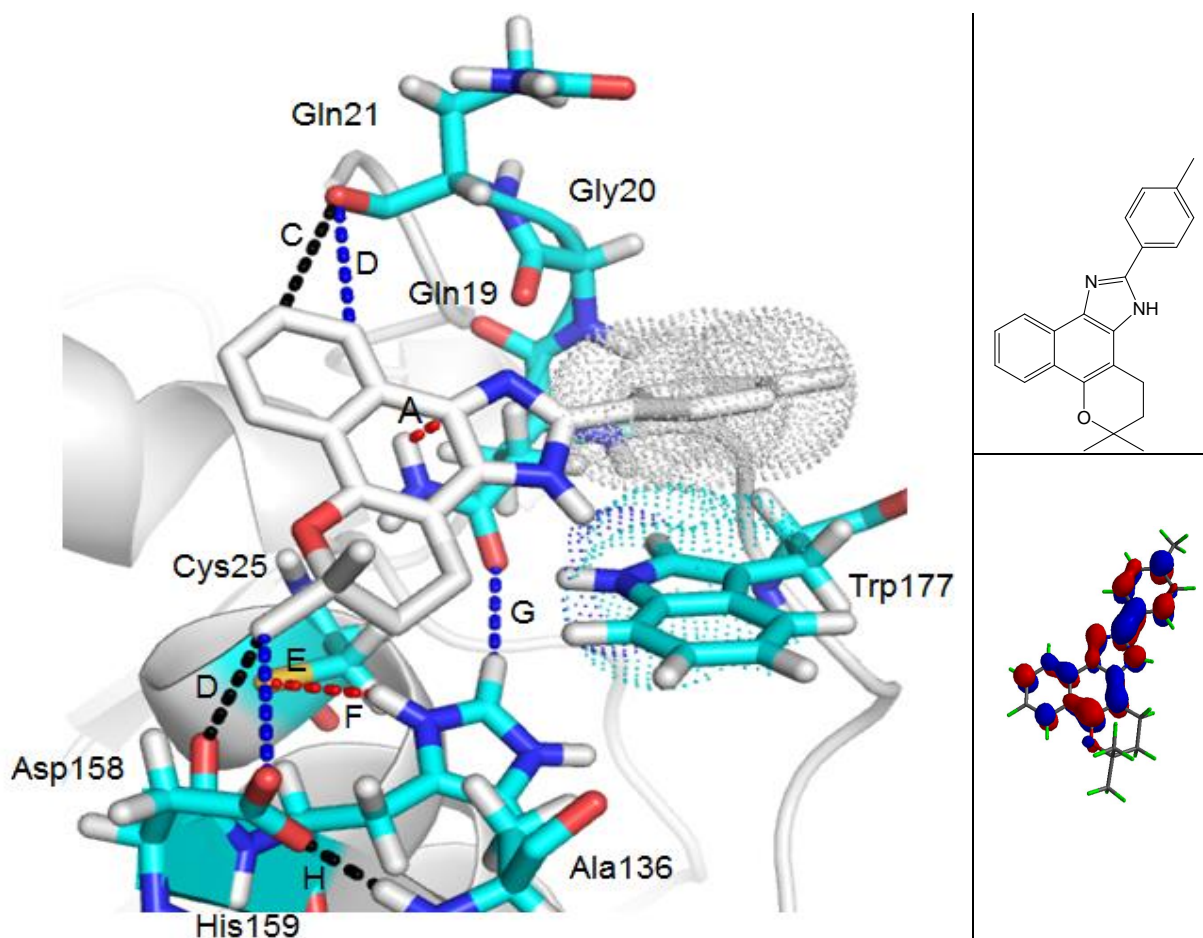
Tabela 12 – Estrutura, tipos de interações e comprimentos de interação para a estrutura FSE-14.

Composto	IRL	CDL (Å)
FSE-14	-NH ₂ (Gln19) ⋯ =N-	(A) 3,29
	-C=O (Gln21) ⋯ =CH-	(B) 3,39
	-CO (Gln12) ⋯ =CH-	(C) 3,36
	-C=O (Asp158) ⋯ -CH ₃	(D) 3,03
	-COO ⁻ (Asp158) ⋯ -CH ₃	(E) 3,82

Fonte: Dados da pesquisa

A Figura 36 apresenta os resultados do ancoramento molecular para a estrutura FSE-14, bem como os orbitais de fronteira LUMO e a estruturas plana para a estrutura.

Figura 36 – Ancoramento molecular para a estrutura FSE-14 com a cruzaina.



Distâncias (Å): (A) 3,29, (B) 3,39, (C) 3,36, (D) 3,03, (E) 3,82.

Fonte: Dados da pesquisa

Nota-se na Figura 36, uma interação (A) entre o -NH_2 do resíduo Gln19 com o =N- do anel imidazol. Esta interação pode contribuir com a inibição da enzima, devido à estabilização do efeito ressonante causado pela interação (G) entre o =CH- do anel imidazol do resíduo His159 com a carbonila do Gln19.

Verifica-se interações de hidrogênio entre o anel benzênico, do naftaleno, e a carboxila do resíduo Gln21. Estas interações são favoráveis como mostra os orbitais LUMO calculados. A interação (B) ocorre na posição *para* enquanto a interação (C) ocorre na posição *orto*.

Outras interações, não apresentam contribuição para formação de interação, segundo os orbitais LUMO calculados. É o que se observa para as interações (D) e (E) entre o resíduo Asp158 com as metilas do anel derivado do pirano. Entretanto, a proximidade destas metilas com o resíduo Asp158 pode justificar, suas prováveis contribuições na interação observada.

Para o FSE-14 também se observa interação de empilhamento formada entre o anel benzênico, ligado ao anel imidazol com o anel pirrol do grupo indol do resíduo Trp177. Esta interação apresenta um comprimento médio de 3,95 Å.

Interações entre resíduos da cruzaina também são observadas para o FSE-14. A interação (F) formada entre o nitrogênio do resíduo His159 e o átomo de enxofre do resíduo Cys25 forma um par iônico, que pode contribuir com a estabilização e com o enovelamento da enzima cruzaina.

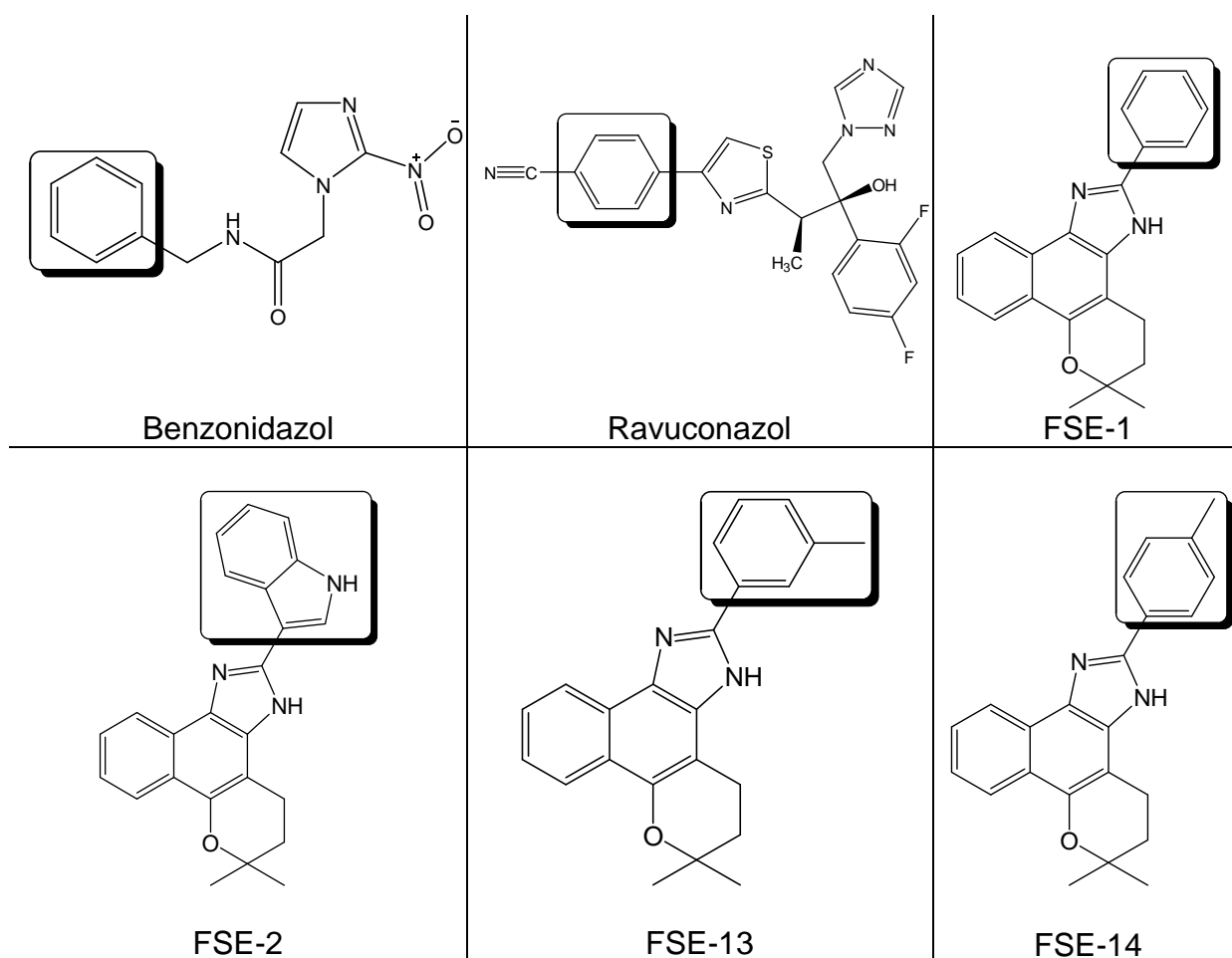
A interação (H), provavelmente estabiliza a ressonância presente na região do grupamento -COO^- , favorecendo a interação com a metila do anel derivado do pirano.

Através destes resultados do ancoramento molecular juntamente com os cálculos dos orbitais de fronteira LUMO, nota-se que as interações que, provavelmente, contribuem na interação das estruturas estudadas (benzonidazol,

ravuconazol, FSE-1, FSE-2, FSE-13 e FSE-14) com a enzima cruzaína, sejam as interações de empilhamento.

Para os derivados estudados, verifica-se a formação da interação de empilhamento entre os anéis benzênicos das estruturas com o resíduo de Trp177 da cruzaína. Exceção é para o FSE-2 que apresenta a interação com o anel indol (Figura 37). Estas estruturas também apresentaram interações com moléculas de água cristalizadas na enzima cruzaína.

Figura 37 – Regiões de formação das interações de empilhamento.



Fonte: Dados da pesquisa.

Segundo Moura et al (2004), a atividade biológica dos compostos estaria relacionada com grupamentos metílicos no anel benzênico, ligados ao anel imidazol e com o grupo indol, também ligado ao imidazol.

Entretanto, através do cálculo dos orbitais de fronteira LUMO, pode-se sugerir que as regiões que mais contribuem para a interação entre a enzima cruzaina, sejam aquelas com anel imidazol, anel benzênico ligado ao imidazol e anel indol, ligado ao anel benzênico.

As metilas, que segundo Moura et al (2004), podem ser importantes para a atividade biológica dos compostos, mostram-se sem participação efetiva, quando se observa os orbitais LUMO, podendo sugerir, que quem contribui para a atividade, sejam os anéis benzênicos que suportam estas metilas.

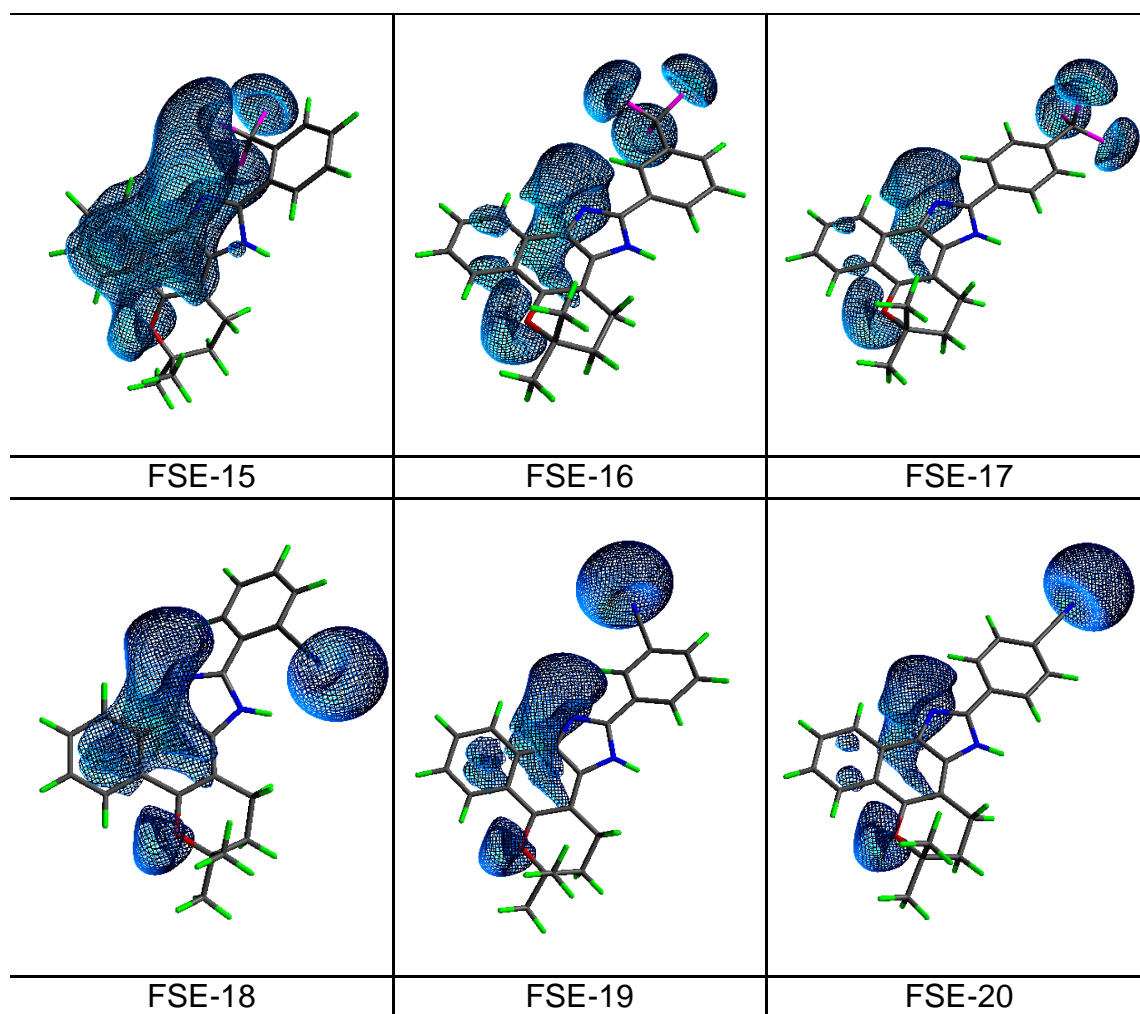
Quando se analisa o orbital LUMO para o benzonidazol, nota-se que seu anel benzênico não contribui para a formação de interações moleculares, mas sim o grupamento com o anel imidazol. No entanto, no estudo de ancoragem, nota-se que a interação de empilhamento ocorre no anel benzênico e não no anel imidazólico.

Para o ravuconazol, nota-se que através do orbital LUMO, que as regiões do anel benzênico e do anel tiazol ($-C_3HNS$) são as que mais contribuem para formação de interação molecular. Entretanto, observa-se pelo ancoramento molecular que o anel benzênico foi mais relevante para a formação de interação com a enzima cruzaina.

A afinidade eletrônica é o descritor responsável pela inatividade apresentada por alguns compostos estudados. A inatividade é decorrência de grupamentos que possuem concentração de cargas negativas, apresentando caráter retirador de elétrons, como os átomos de halogênio (F, Cl, Br) e grupamentos como trifluormetano ($-CF_3$) e o cianeto ($-CN$).

A Figura 38 apresenta os mapas de potenciais eletrostáticos calculados, usando o *software* Spartan (SPARTAN, 2002) para seis dos nove compostos que, segundo Moura et al. (2004), mostraram-se inativos nos testes biológicos com amostras sanguíneas com o parasito da doença de Chagas. Os mapas de potenciais eletrostáticos para todos os compostos podem ser visualizados no Apêndice C.

Figura 38 – Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para alguns dos compostos inativos.



Fonte: Dados da pesquisa.

Pode ser observado no Apêndice C, que o mapa do potencial eletrostático calculado para os compostos com halogênio (F, Cl, Br) não apresentaram as regiões de alta densidade eletrônica. Provavelmente, os elétrons destas regiões participam de efeitos ressonantes ou interações químicas.

Observa-se também que, apesar de grupamentos com alta densidade eletrônica apresentarem-se inativos devido, provavelmente, repulsões eletrostáticas próximo ao resíduo Cys25 da enzima cruzaina, os compostos que apresentam átomos de flúor (FSE-3, FSE-4, FSE-5) apresentam baixa atividade, aqueles com bromo e cloro, alguns são ativos (baixa atividade) e outros inativos.

Assim, para estes derivados naftoimidazólicos, não se pode concluir que átomos de halogênios sejam responsáveis pela inatividade observada. Ou pode-se propor que, devido à baixa atividade apresentada, estes compostos podem formar interação de hidrogênio, com o anel imidazol do His159, quando este forma o par iônico com o átomo de enxofre do Cys25, assim, não haveria repulsão eletrostática entre o enxofre do Cys25 com o átomo de halogênio. Outra possibilidade seria a interação dos átomos de halogênio com o $-NH_2$ do resíduo de Asn175.

Pode-se sugerir que o anel benzênico do benzonidazol, que forma interações $\pi-\pi$, ser substituído por um grupamento indol ou imidazol, podendo obter-se melhores interações com Trp177 e/ou Gln21. O grupo 2-nitro-imidazol, poderia ser substituído por um grupamento 5-nitro-pirrazol, podendo formar melhores interações com Gly23 ou Gln21.

Para o ravuconazol sugere-se a adição de átomos de nitrogênio, nas posições orto e/ou meta, do anel cianobenzeno, para se obter melhores interações com Gln19 ou Gly20. A substituição do anel 1,3 difluorbenzeno por 1,3 diamino-benzeno, poderia formar interação com Met142 e/ou anel indol do Trp177.

Para o derivado FSE-1, acrescentando-se um grupo amino, na posição orto, no anel benzênico, ligado ao imidazol, poderia-se obter interações com Trp177 e/ou Gly21. A substituição de uma das metilas, do anel derivado do pirano, por um grupo $-NH_2$, poderia contribuir com uma interação com o Asp158 e/ou His159. Estas mesmas observações podem ser consideradas para os derivados FSE-13 e FSE-14.

Para o FSE-2, apenas substituição da metila do anel derivado do pirano, por um grupo $-NH_2$, poderia contribuir com uma interação com o Asp158 e/ou His159.

6 CONCLUSÕES

A realização de cálculos teóricos computacionais mecânicos-quânticos, para descritores físico-químicos de classes de compostos moleculares, torna-se ainda mais enriquecedora quando utilizada em conjunto com a técnica quimiométrica multivariada. Assim, neste trabalho, foram calculados 17 descritores físico-químicos, para uma classe de compostos de derivados naftoimidazólicos, além do benzonidazol e ravuconazol, fazendo-se uso de abordagens mecânico-químico-quânticas. A base de cálculo foi o Austin Model 1, com o método semi-empírico.

Após a obtenção dos descritores físico-químicos foram realizadas as análises quimiométricas multivariadas. Na primeira análise considerou-se 17 descritores (A, V, M, EHIDRAT, LogP, REFR, POLAR, ET, EE, MD, D, S, EHOMO, ELUMO, AE, PI, E). Na segunda análise, 8 descritores (A, LogP, POLAR, S, EHOMO, ELUMO, AE, PI) e na terceira análise, foram considerados 4 descritores: LogP, POLAR, ELUMO, AE.

Uma quarta análise quimiométrica foi realizada, com o objetivo de se obter uma melhor separação dos derivados FSE. Foram retirados os compostos benzonidazol e ravuconazol e os derivados FSE-9, FSE-10 e FSE-11, tendo em vista que, nas separações anteriores, tais compostos, ora estavam entre os ativos e ora entre os inativos.

O derivado FSE-2 e o FSE-13 apresentaram comportamento diferente dos demais derivados FSE. O comportamento do FSE-2 pode ser explicado pela presença de um anel indol, o que o torna diferente dos outros compostos do grupo. O comportamento do FSE-13 provavelmente ocorre devido o valor do descritor LogP que se apresentou bem diferente quando comparado aos demais derivados estudados.

Nesta última análise quimiométrica multivariada observou-se que os descritores POLAR, ELUMO e LogP, foram responsáveis pela separação dos compostos ativos e que o descritor AE foi responsável pela separação dos inativos.

Logo após a análise quimiométrica, realizou-se o ancoramento molecular do benzonidazol, do ravuconazol e dos compostos mais ativos (FSE-1, FSE-2, FSE-13, FSE-14) com a enzima cruzaina de *T. cruzi*.

Para os derivados naftoimidazólicos, sugere-se que as interações relevantes sejam as do tipo empilhamento, aquelas observadas entre o nitrogênio do anel imidazol e as interações secundárias observadas nas posições *orto* e *para*.

Através do cálculo dos orbitais de fronteira LUMO para os compostos estudados, verificou-se para o benzonidazol que o anel imidazol, juntamente com o grupo nitro, seriam as regiões mais favoráveis para formação de interação com a cruzaina.

Para os derivados naftoimidazólicos FSE-1, FSE-2, FSE-13 e FSE-14, os orbitais LUMO, mostraram que as regiões de maior probabilidade de interação seriam o anel benzênico ligado ao anel imidazol, o nitrogênio do anel imidazol e as posições *orto* e *para* do anel benzênico, no naftaleno.

O cálculo dos mapas de potenciais eletrostáticos calculados para os derivados naftoimidazólicos mostrou as regiões que provavelmente provocam a inatividade presente em alguns compostos. Observou-se que grupamentos com grande concentração de carga eletrônica, provocariam repulsão eletrostática com o resíduo Cys25 da enzima cruzaina. É o que se observa para os compostos FSE-15, FSE-16, FSE-17, FSE-18, FSE-19 e FSE-20.

Observou-se ainda que átomos de halogênios, não podem ser considerados como grupamentos que possam inibir a atividade da enzima, uma vez que alguns compostos halogenados apresentam-se como ativos e outros como inativos.

Sugere-se ainda que os grupamentos metálicos não seriam os responsáveis pela atividade observada em alguns derivados estudados, mas sim, a presença do anel benzênico, próximo a estes grupamentos é que seriam relevantes na atividade biológica, através de interações de empilhamento com o anel pirrol do imidazol do resíduo Trp177.

Pode-se concluir que anéis benzênicos (no anel imidazol), pirrólicos, indólicos e substituições bioisostéricas com átomos de nitrogênio, possam aumentar a atividade destes derivados naftoimidazólicos. Provavelmente, a substituição das metilas no anel tetrahydro-2-pirano, nas estruturas FSE, poderiam aumentar a atividade desta classe de compostos, pela formação de interações de hidrogênio, com as carbonilas do resíduo Asp158.

REFERÊNCIAS

ALCÁCER, L. **Introdução à Química Quântica Computacional**. Lisboa: IST Press. 2007.

_____. **Introdução à Mecânica Quântica com aplicação à química computacional moderna**. São Paulo: Livraria da Física. 2012.

ANDRADE, L. O.; ANDREWS, N. W. **Nat. Rev. Microbiol.** 3, 819. 2005.

ANDREWS, N.W. **Lysosomes and the plasma membrane trypanosomes reveal a secret relationship**. *J. Cell. Biol.* 158 (3): 389-394. 2002.

ANH, N. T. **Frontier orbitals. A practical manual**. England: John Wiley & Sons Ltd. 2011.

ARROIO, A. **Um estudo teórico da atividade analgésica de compostos da planta cannabis sativa**. Tese: Doutorado em Química: Universidade de São Paulo – São Carlos, 2004.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. da. **Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade**. *Quím. Nova*, vol. 33, n.º. 3, 694-699, 2010.

ATWOOD, J. A.; WEATHERLY, D. B.; MINNING, T. A.; BUNDY, B.; CAVOLA, C.; OPPERDOES, F. R.; ORLANDO, R.; TARLETON, R. L. **Science**, 309, 473. 2005.

BENITES, J.; VALDERRAMA, J. A.; RIVERA, F.; ROJO, L.; CAMPOS, N.; PEDRO, M.; NASCIMENTO, M. S. J. **Bioorg. Med. Chem.** 16, 862. 2008.

BODOR, N.; GABANYL, Z.; WONG, C. K. **J. Am. Chem. Soc.**, 111, 3783. 1989.

BONALDO, M.C.; D'ESCOFFIER, L. N.; SALLES, J. M.; GOLDENBERG, S. **Characterization and expression of proteases during Trypanosoma cruzi metacyclogenesis**. *Exp Parasitol.* 73 (1):44-51. 1991.

BRAK, K.; KERR, I. D.; BARRETT, K. T.; FUCHI, N.; DEBNATH, M.; ANG, K.; Juan C. ENGEL; McKERROW, J. H.; DOYLE, P. S.; BRINEN, L. S.; ELLMAN, J. A. **Nonpeptidic Tetrafluorophenoxymethyl Ketone Cruzain Inhibitors as Promising New Leads for Chagas Disease Chemotherapy**. *J. Med. Chem.* 2010, 53, 1763–1773.

BRERETON, R. G. **Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and**

Chemical Plant. England: John Wiley & Sons Ltd. 2003.

BRITO, G. de S. L. **Corroboração computacional por "docking" molecular da hipótese auto-imune da esquizofrenia**. 2007. 61 f. Tese (ciências em engenharia de sistemas e computação). UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO.

BRITO, M. A. de. **Estudando Interações Fármaco-Receptor com o Protein Data Bank (PDB) e Programas Gratuitos**. Rev. Virtual Quim. vol. 3, n^o. 6, 467-483. 2011.

BURSULAYA, B. D.; TOTROV, M.; ABAGYAN, R.; BROOKS, C. L. **Comparative study of several algorithms for flexible ligand docking**. J. Comput. Aided Mol. Des. 2003, 17, 755-763.

CARACELLI, I.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; MAGANHI, S. H.; STEFANI, H. A.; GUADAGNIND, R.; TIEKINK, E. R. T. **2-Chlorovinyl Tellurium Dihalides, (p-tol)Te[C(H)=C(Cl)Ph]X₂ for X = Cl, Br and I: Variable Coordination Environments, Supramolecular Structures and Docking Studies in Cathepsin B**. J. Braz. Chem. Soc., vol. 21, n^o. 11, 2155-2163. 2010.

CAROD-ARTAL, F. J.; GASCON, J. **Chagas disease and stroke**. Lancet Neurol. 9: 533-42. 2010.

CARVALHO, C. E. M.; BRINN, I. M.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R. J. **Photochem. Photobiol. A: Chem.** 136, 25. 2000.

CARVALHO, C. E. M.; De LUCAS, N. C.; HERRERA, J. O. M.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F. R.; BRINN, I. M. J. **Photochem. Photobiol. A: Chem.** 167, 1. 2006.

CASTRO, J. A.; MONTALTO DE MECCA, M.; BARTEL, L.C. **Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American Trypanosomiasis)**. Hum. Exp. Toxicol, 25, 471-479. 2006.

CAVALCANTE, F. A.; SILVA, J. L. V.; CARVALHO, V. M. N.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; PINTO, A. C.; VARGAS, M. D.; SILVA, B. A. **Spasmolytic activity of lapachol and its derivatives, α and β lapachone, on the guinea-pig ileum involves blockade of voltagegated calcium channels**. Revista Brasileira de Farmacognosia. 18(2): 183-189. 2008.

CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M. **Synthetic Medicinal Chemistry in Chagas. Disease: Compounds at The Final Stage of. Hit-To-Lead. Phase**. Pharmaceuticals. 3, 810-838. 2010.

CHANG, R.; OVERBY, J. **General chemistry: The essential concepts**. 6th. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 2011.

CHEMOFFICE. Chem & Bio Draw[®] versão 10.0. CambridgeSoft Corporation. 2006.

COLEMAN, M. D. **Human Drug Metabolism.** England: John Wiley & Sons Ltd. 2005.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. **Non-supervised pattern recognition methods: Exploring.** Quím. Nova. 30(2). 481-487. 2007.

COSTA, P. R. R. **Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: Candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária.** Rev. Virtual Quim. 1 (1). 2009.

COURA, J. R.; CASTRO, S. L.; **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 97, 3. 2002.

COURA, J. R.; VIÑAS, P. A. **Chagas disease: a new worldwide challenge.** Nature. 2010.

COX, P. A. **Introduction to Quantum Theory and Atomic Structure.** New York: Oxford University Press. Inc. 2002.

CRAMER, C. J. **Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models.** 2nd. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. 2004.

DANUELLO, A.; ROMEIRO, N. C.; GIESEL, G. M.; PIVATTO, M.; JR, C. V.; VERLI, H.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; CASTRO, N. G.; BOLZANI, V. S. **Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Semi-Synthetic Piperidine Alkaloids as Acetylcholinesterase Inhibitors.** J. Braz. Chem. Soc., vol. 23, n^o. 1, 163-170. 2012.

DELANO, W. L.; LAM, J. W. PyMOL. **DeLano Scientific LLC.** California. Disponível em: www.delanoscientific.com. Acesso em: 22/06/2013.

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMANN, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. **Quimioterapia da doença de chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos.** Quim. Nova, vol. 32, n^o. 9, 2444-2457, 2009.

DINIZ, L. de F.; CALDAS, I. S.; GUEDES, P. M. da M.; CREPALDE, G.; LANA, M. de; CARNEIRO, C. M.; TALVANI, A.; URBINA, J. A.; BAHIA, M. T. **Effects of Ravuconazole Treatment on Parasite Load and Immune Response in Dogs Experimentally Infected with Trypanosoma cruzi.** Antimicrobial agents and chemotherapy, vol. 54, n^o. 7, p. 2979–2986. 2010.

DI NOIA, J. M. DI NOIA, J. M., BUSCAGLIA, C. A., DE MARCHI, C. R., ALMEIDA, I.

C.; FRASCH, A. C. A. **Trypanosoma cruzi small surface molecule provides the first immunological evidence the Chagas' disease is due to a single parasite lineage.** J. Exp. Med. 195(4): 401-413. 2002.

DO CAMPO, R. DO CAMPO, R.; DE SOUZA, W.; MIRANDA, K., RODHLOFF, P.; MORENO, S.N. **Acidocalcisomes- conserved from bacteria to man.** Nat. Rev. Microbiol. 3: 251-261. 2005.

DUMITRICA, T. **Trends in Computational Nanomechanics: Transcending Length and Time Scales.** Minneapolis: Springer Science & Business Media B.V. 2010.

EBBING, D. D.; GAMMON, S. D. **General Chemistry.** 9th. New York: Houghton Mifflin Company. 2009.

ENGELS, D.; SAVIOLI, L.; **Trends Parasitol.** 22, 363. 2006.

ERICKSON, J. A.; M. J.; ROBERTSON, D. H.; LEWIS, R. A.; M. VIETH. **Lessons in Molecular Recognition: The Effects of Ligand and Protein Flexibility on Molecular Docking Accuracy.** J. Med. Chem. 47, 45-55. 2004.

ESCH, K. J.; PETERSEN, C. A. **Transmission and Epidemiology of Zoonotic Protozoal Diseases of Companion Animals.** Clinical Microbiology Reviews. Vol. 26 (1). p. 58–85.

FERREIRA, S. B.; GONZAGA, D. T. G.; SANTOS, W. C.; ARAÚJO, K. G. L.; FERREIRA, V. F. **β -Lapachona: Sua importância em química medicinal e modificações estruturais.** Rev. Virtual Quim., 2 (2), 140-160. 2010.

FERREIRA, S. B.; SALOMÃO, K.; SILVA, F. DE C.; PINTO, A. V.; KAISER, C. R.; PINTO, A. C.; FERREIRA, V. F.; CASTRO, S. L. de. **Synthesis and anti-Trypanosoma cruzi activity of b-lapachone analogues.** European Journal of Medicinal Chemistry, 46, 3071-3077, 2011.

FILHO, J. M. S.; LEITE, A. C. L.; OLIVEIRA, B. G.; MOREIRA, D. R. M.; LIMA M. S.; SOARES, M. B. P.; LEITE, L. F. C. C. **Design, synthesis and cruzain docking of 3-(4-substituted-aryl)-1,2,4-oxadiazole-N-acylhydrazones as anti Trypanosoma cruzi agentes.** Bioorganic & Medicinal Chemistry 17 (2009) 6682-6691.

FLEMING, I. **Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions.** United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd. 2009.

FORESMAN, J. B.; FRISCH, A. **Exploring Cgemistry with electronic structure methods.** 2nd Ed. Pittsburgh: Gaussian, Inc. 2012.

FRANCO, C. F. J.; JORDÃO, A. K.; FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C.; SOUZA, M. C. B. V. de; RESENDEB, J. A. L. C.; CUNHA, A. C. **Synthesis of New 2-Aminocarbohydrate-1,4-Naphthoquinone Derivatives Promoted by Ultrasonic Irradiation.** J. Braz. Chem. Soc., vol. 22, No. 1, 187-193, 2011.

FRIESNER, R. A.; BANKS, J. L.; MURPHY, R. B. **Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy.** J. Med. Chem. 47: 1739–1749. 2004.

FRIESNER, R. A.; MURPHY, R. B.; REPASKY, M. P. **Extra precision glide: Docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes.** J. Med. Chem. 49: 6177–6196. 2006.

GAD, S. C. **Drug discovery handbook.** New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

GAFNER, S.; WOLFENDER, J.-L.; NIANGA, M.; STOECKLI-EVANS, H.; HOSTETTMANN, K. **Phytochemistry.** 42, 1315. 1996.

GEMPERLINE, P. **Practical Guide to Chemometrics.** New York: CRC Press - Taylor & Francis Group. 2006.

GIORDANENGO, L., GUINAZU, N., STEMPIN, C., FRETES, R., CERBAN, F. and GEA, S. **Cruzipain, a major Trypanosoma cruzi antigen, conditions the host immune response in favor of parasite.** Eur. J. Imm. 1003-1111. 2002.

GONÇALVES, F. **USP descobre substância mais eficaz no tratamento da doença de Chagas.** Disponível em: <http://www.grupodenoticias.com.br/usp-descobre-substancia-mais-eficaz-no-tratamento-da-doenca-de-chagas/>. Acesso em: 04 de julho de 2014.

GONÇALVES, R. B. **Desenvolvimento e Validação de Novos Métodos de Distribuição da População Inicial em Algoritmos Genéticos para o Problema de Docking Proteína-Ligante.** Dissertação de Mestrado. Laboratório Nacional de Computação Científica, Petrópolis 2008.

GREGORY, R. D. **Classical mechanics.** New York: Cambridge University Press. 2006.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D. **Modelagem molecular de fármacos.** Rev. Proc. Quim. v.2, n.4, p.24-26, 2008.

HALGREN, T. A.; MURPHY, R. B.; FRIESNER, R. A. **Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring 2. Enrichment factors in database**

screening. J. Med. Chem. 47: 1750-1759. 2004.

HÄRDLE, W.; SIMAR L. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. Berlin: Method & Data Technologies. 2003.

HENRIQUES, M. G. M. O.; SIANI, A. C.; PEREIRA, J. F.G.; G.; PINHEIRO, E. S.; **Medicinal Plants and Phytotherapy in the Fight against Neglected Diseases: the Fight against Neglected Diseases: a Viable Alternative?** Revista Fitos Vol.1 (1). 2005.

HOLLAUER, E. **Química Quântica**. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

HÖLTJE, H. D.; FOLKERS, G. **Molecular Modeling: Basic Principles and Applications**. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft. 1997.

HONÓRIO, K. M; SILVA, A. B. F. **A theoretical study on the influence of the frontier orbitals HOMO and LUMO and the size of C₄ and C₂ substituents in the psychoactivity cannabinoid compounds**. Journal of Molecular Structure. 2002.

HUANG, L.; BRINEN, L. C.; ELLMAN, J. A. **Crystal Structure of reversible ketone-based inhibitors of the cysteine protease cruzain**. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 11, 21-19, 2003.

HyperChem Release version 7.5. for Windows. Hypercube Inc. **Getting Started**. Gainesville (FL): New York. 2002.

JAIN, A. N. **Surflex: Fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine**. J. Med. Chem. 46: 499–511. 2003.

_____. **Scoring functions for protein-ligand docking**. Curr. Protein Pept. Sci. 7, 407-420. 2006.

_____. **Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search**. J Comput Aided Mol Des 21: 281–306. 2007.

JESPERSEN, N. D.; BRADY, J. E.; HYSLOP, A. **Chemistry: the molecular nature of matter**. 6th ed. New York: John Wiley and Sons, Inc. 2012.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. London: Prentice Hall, 2002.

JORGENSEN, W. L. **The Many Roles of Computation in Drug Discovery**. SCIENCE. vol. 303, 19 march 2004.

KAYSER; O.; KIDERLEN, A. F.; LAATSCH, H.; CROFT, S. L. **Acta Tropica**. 77,

307. 2000.

KERR, J. R. **J. Infection**, 40, 121. 2000.

KETTER, H.; MARJANOVIC, S.; **Nature Rev. Drug Discov.** 3, 171. 2004.

KIBBLE, T. W. B.; BERKSHIRE, F. H. **Classical Mechanics**. 5th. London: Imperial College Press. 2004.

KOLLIEN, A. H.; SCHAUB, G. A. **The development of Trypanosoma cruzi in Triatominae. Parasitol. Today** 16: 381-387. 2000.

KOUROUNAKIS, P. N.; REKKA, E. **Advanced drug design and development. A Medicinal Chemistry Approach**. London: Taylor & Francis e-Library, 2005.

KROGSGAARD-LARSEN, P; LILJEFORS, T; MADSEN, U. **Textbook of Drug Design and Discovery**. 3th. ed. New York: Taylor & Francis e-Library, 2005.

LAURSEN, J.; NILSEN, J. **Chem. Rev.** 104, 1663. 2004.

LEMKE, T. L.; WILLIAMS, D. A. **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

LYRA, W. S.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U.; VERAS, W. D. F. G. **Classificação periódica: um exemplo didático para ensinar análise de componentes principais**. Quim. Nova, Vol. 33, No. 7, 1594-1597, 2010.

MACHADO, A. H. L. **Reflexões Sobre o Perfil de um Profissional da Química que Deseja Atuar no Desenvolvimento de um Ingrediente Farmaceuticamente Ativo**. Rev. Virtual Quim. 3 (6). 2011.

MAGNASCO, V. **Methods of Molecular Quantum Mechanics: An Introduction to Electronic Molecular Structure**. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2009.

MAHAPATRA, A.; MATIVANDLELA, S. P. N.; BINNEMAN, B.; FOURIE, P. B.; HAMILTON, C. J.; MEYER, J. J. M.; KOORY, F.; HOUGHTON, P.; LALL, N. **Bioorg. Med. Chem.** 15, 7638. 2007.

MAHESHWARY, S.; PATEL, N.; SATHYAMURTHY, N.; KULKARNI, A. D.; GADRE, S. R. **Structure and Stability of Water Clusters (H₂O)_n, n) 8-20: An Ab Initio Investigation**. J. Phys. Chem. A, 105, 10525-10537. 2001.

MAISTO, S. A.; GALIZIO, M.; CONNORS, G. J. **Drug Use and Abuse**. 6th ed.

Belmont: Wadsworth. 2011.

MAKRIYANNIS, A.; BIEGEL, D. **Drug Discovery Strategies and Methods**. London: Taylor & Francis, 2003.

MALTA, V. R. S. **Estudo cristalográfico de naftoquinonas e seus derivados e calculus teóricos de propriedades relevantes na relação estrutura-atividade**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo – São Carlos. 2000

MANNHOLD, R.; KUBINYI, H.; FOLKERS, G. **Molecular Drug Properties. Methods and Principles in Medicinal Chemistry**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2008.

MARTINS, J. P. A. **Química computacional aplicada a QSAR**. São Paulo: CENAPAD. 2010.

MATÉS, J. M.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, F. M.; *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 32, 157. 2000.

MAYA, J. D.; BOLLO, S.; NUÑEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A.; REPETTO, Y.; MORELLO, A.; PÉRIÉ, J.; CHAUVIÈRE, G. *Biochem. Pharmacol.* 65, 999. 2003.

MAYA, J. D.; CASSELS, B. K.; ITURRIAGA-VÁSQUEZ, P.; FERREIRA, J.; FAÚDEZ, M.; GALANTI, N.; FERREIRA, A.; MORELLO, A. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 146, 601. 2007.

MENNA-BARRETO, R. F. S.; HENRIQUES-PONS, A.; PINTO, A. V.; MORGADO-DIAZ, J. A.; SOARES, M. J.; de CASTRO, S. L. *J. Antimicrob. Chemother.* 56, 1034. 2005.

MINITAB Release for windows 14. New York, 2004.

MONTANARI, M. L. C.; MONTANARI, C. A., GAUDIO, A. C. **Validação lateral em relações quantitativas entre estrutura e atividade farmacológica, QSAR**. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 2, 231-240, 2002.

MOREIRA, R. Y. O.; ARRUDA, M. S. P.; ARRUDA, A. C.; SANTOS, L. S.; MÜLLER, A. H.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, A. S.; TEREZO, E. **Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae)**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16(3): 392-396. 2006.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. São Paulo: Livraria da Física. 2007.

MORRIS, G. M.; GOODSELL, D. S.; HALLIDAY, R. S.; HUEY, R.; HART, W. E.; BELEW, R. K.; OLSON, A. J. **Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and an Empirical Binding Free Energy Function**. *Journal of Computational Chemistry*, Vol. 19, nº. 14, 1639-1662. 1998.

MORRIS, G. M.; GOODSELL, D. S.; HART, W. E.; KUROWSKI, S.; BELEW, R.; OLSON, A. J. **AUTODOCK**. Disponível em: <http://autodock.scripps.edu/>. Acesso em: 22/06/2013.

MOURA, K. C. G. De; EMERY, F. S.; NEVES-PINTO, C.; PINTO, M. do C. F. R.; DANTAS, A. P.; SALOMÃO, K.; CASTRO, S. L. de; PINTO, A. V. **Trypanocidal Activity of Isolated Naphthoquinones from *Tabebuia* and Some Heterocyclic Derivatives: A Review from an Interdisciplinary Study**. *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 12, nº. 3, 325-338. 2001.

MOURA, K. C. G. de; SALOMÃO, K.; MENNA-BARRETO, R. F. S.; EMERY, F. S.; PINTO, M. do C. F.R.; PINTO, A. V.; CASTRO, S. L. de **Studies on the trypanocidal activity of semi-synthetic pyran[b-4,3]naphtho[1,2-d]imidazoles from b-lapachone**. *European Journal of Medicinal Chemistry* 39. 639–645. 2004.

MILLER, K. J. **Additivity Methods in Molecular Polarizability**. *J. Am. Chem. Soc.* 112, 8533-8542. 1990.

NAG, A.; DEY, B. **Computer-Aided Drug Design and Delivery Systems**. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 2011.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2003.

NETO, J. M.; MOITA, G. C.; **Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados**. *Quim. Nova*. 21, 467. 1998.

NEVES-PINTO, C.; MALTA, V. R. S.; PINTO, M. C. F. R.; SANTOS, R. H. A.; de CASTRO, S. L.; PINTO, A. V. **A Trypanocidal Phenazine Derived from β -Lapachone**. *J. Med. Chem.* 45, 2112. 2002.

NISSINK, J. W; MURRAY, C.; HARTSHORN, M. **A new test set for validating predictions of protein-ligand interaction**. *Proteins* 49: 457–471. 2002.

NOGRADY, T.; WEAVER, D. F. **Medicinal Chemistry: A Molecular and Biochemical Approach**. 3rd ed. New York: Oxford University Press, Inc. 2005.

NWAKA, S.; RIDLEY, R. G.; **Nature Rev. Drug Discov.**, 2, 919. 2003.

OLIVEIRA, A. **USP descobre substância mais eficaz no tratamento da doença de Chaga**. Disponível em: <http://jornal.fmrp.usp.br/?p=19112>. Acessado 14 de outubro de 2014.

OLIVEIRA, L. R.; ASSIS, L. L. T.; MALTOS, A. L.; CALIL, M. C. F. R.; MORAES-SOUZA, H. **Reativação da doença de Chagas com envolvimento do sistema nervoso central durante tratamento de linfoma não Hodgkin**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 32(3):269-272. 2010.

OLIVEIRA, M. F.; DIAS, A. T. N.; PONTES, V. M. O.; JÚNIOR, A. S. S.; COELHO, H. L. L.; COELHO, I. C. B. **TRATAMENTO ETIOLÓGICO DA DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL**. REVISTA DE PATOLOGIA TROPICAL. Vol. 37 (3). 2008. 209-228.

ONODERA, K.; SATOU K.; HIROTA H. **Evaluations of Molecular Docking Programs for Virtual Screening**. J. Chem. Inf. Model. 2007, 47, 1609-1618.

OSAKABE, M. **Remédio para doença de Chagas será testado em 2010. Programa das Nações Unidas para o desenvolvimento – PNUD**. 2010.

Disponível em:

<<http://www.pnud.org.br/administracao/reportagens/index.php?id01=3394&lay=apu>>
. Acesso em: 14 fev. 2012.

PEARSON, R. G. **Absolute electronegativity and hardness correlated with molecular orbital theory**. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. vol. 83, p. 8440-8441, November 1986.

PERES, A. **Quantum Theory: Concepts and Methods**. New York: Kluwer Academic Publishers. 2002.

PHILLIPS, A. C. **Introduction to quantum mechanics**. England: John Wiley & Sons Ltd. 2007.

PINTO, C. N.; DANTAS, A. P.; de MOURA, K. C. G.; EMERY, F. S.; POLEQUEVITCH, P. F.; PINTO, M. C. F. R.; de CASTRO, S. L.; PINTO, A. V. **Arzneim. Forsch.** 12, 1120. 2000.

PITA, S. S. da R.; PASCUTTI, P. G. **Alvos Terapêuticos na Doença de Chagas: a Tripanotona Redutase como Foco**. Rev. Virtual Quim. 3 (4). 2011.

PRATT, C.; CORNELLY, K. **Essential Biochemistry**. 5.ed. New York: John Wiley and Sons, Inc. 2004.

RAMACHANDRAN, K. I.; DEEPA, G.; NAMBOORI, K. **Computational Chemistry and Molecular Modeling: Principles and Applications**. Berlin: Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2008.

RAUK, A. **Orbital interaction theory of organic chemistry**. 2nd. Ed. Toronto: John Wiley & Sons, Inc., 2001.

REN, Y.; HE, J.; FENG, L.; LIAO, X.; JIN, J.; LI, Y.; CAO, Y.; WAN, J.; HE, H. **Structure-based rational design of novel hit compounds for pyruvate dehydrogenase multienzyme complex E1 components from Escherichia coli**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19, 7501-7506. 2011.

REPASKY, M. P.; CHANDRASEKHAR, J.; JORGENSEN, W. L. **J. Comput. Chem.** 23, 1601, 2002.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**, 2^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002.

ROGERS, D. W. **Computational Chemistry Using the PC**. 3th ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 2003.

ROMANHA, A. J.; ALVES, R. O.; MURTA, S. M.; SILVA, J. S.; ROPERT, C.; GAZZINELLI, R. T. **J. Infec. Diseases**. 186, 823. 2002.

ROMEIRO, N. C.; AGUIRRE, G.; HERNÁNDEZ, P.; GONZÁLEZ, M.; CERECETTO, H.; ALDANA, I.; PÉREZ-SILANES, S.; MONGE, A.; BARREIRO, E. J.; LIMA, L. M. **Synthesis, trypanocidal activity and docking studies of novel quinoxaline-N-acylhydrazones, designed as cruzain inhibitors candidates**. *Bioorganic & Medicinal chemistry*, 17, 641-652, 2009.

RZYCHON, M.; CHMIEL, D.; STEC-NIEMCZYK, J. **Modes of inhibition of cysteine protease**. *Acta Biochim Pol.*, 51: 861-873, 2004.

SAJID, M., MCKERROW, J. H. **Cysteine proteases of parasitic organisms**. *Mol Biochem Parasitol.* 120(1):1-21. 2002.

SANT'ANNA, C. M. R. **Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução**. *Rev. Virtual Quím.* 1 (1). 2009.

_____. **Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (recomendações da IUPAC para 1997)**. *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 505-512, 2002.

SANTOS, A. F.; FERRAZ, P. A. L.; PINTO, A. V.; PINTO, M. C. F.R.; GOULART, M. O. F.; SANT'ANA, A. E. G. **Int. J. Parasitol.** 30, 1199. 2000.

SANTOS, A. F.; FERRAZ, P. A. L.; DE ABREU, F. C.; CHIARI, E.; GOULART, M. O.

F.; SANT'ANA, A. E. G. **Planta Med.** 67, 92. 2001.

SANTOS, C. C.; SANT'ANNA, C.; TERRES, A. C. S.; N. L., SCHARFSTEIN, J.; LIMA, A. P. **Chagasin, the endogenous cysteineprotease inhibitor of Trypanosoma cruzi, modulates parasite differentiation and invasion of mammalian cells.** *J Cell Sci.* 118(5): 901-15. 2005.

SANTOS, R. B. dos; JÚNIOR, V. L.; CASTRO, E. V. R. de; BALTHAR, V. de O.; GRECO, S. J. **Uso de métodos quimiométricos e mecânico-quanticos na análise de terpenóides e fenilpropanóides bioativos contra o Aedes aegypti.** *Orbital*, 1(4), 273-288. 2009.

SATOSKAR, A. R.; SIMON, G. L.; HOTEZ, P. J.; MORIYA, T. **Medical Parasitology.** Texas: Landes Bioscience. 2009.

SCHARFSTEIN, J. **Ativação do Sistema Cinina: um papel para a cruzipaina na imunopatogênese da doença de Chagas experimental.** 2012. Disponível em: <www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=169>. Acesso em: 08 fev. 2012.

SCHLICK, T. **Molecular Modeling and Simulation: An Interdisciplinary Guide.** 2nd. New York: Springer Science & Business Media, 2010.

SCHWEDE, T.; PEITSCH, M. **Computational Structure Biology. Methods and Applications.** Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. 2008.

SHARAF, M. A.; ILLMAN, D. L.; KOWALSKI, B. R. **Chemometrics.** New York: John Wiley & Sons, 1998.

SILBERBERG, M. S. **Principles of general chemistry.** New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 2007.

SILVA, J. M., DARDENNE, L. E.; SAVINOB, W.; CAFFARENA, E. R. **Analysis of $\alpha_4\beta_1$ Integrin Specific Antagonists Binding Modes: Structural Insights by Molecular Docking, Molecular Dynamics and Linear Interaction Energy Method for Free Energy Calculations.** *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 21, No. 3, 546-555, 2010.

SILVA, M. N. da; FERREIRA, V. F.; MARIA CECÍLIA B. V. de S. **Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados.** *Quim. Nova.* vol. 26, no. 3, 407-416. 2003.

SILVA, R. S. F.; AMORIM, M. B. de; PINTO, M. DO C. F. R.; EMERY, F. S.; GOULART, M. O. F.; PINTO, A. V. **Chemoselective Oxidation of Benzophenazines by m-CPBA: N-Oxidation vs. Oxidative Cleavage.** *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 18, No. 4, 759-764. 2007.

SILVA, R. S. F.; COSTA, E. M.; TRINDADE, U. L. T.; TEIXEIRA, D. V.; PINTO, M. C. F. R.; SANTOS, G. L.; MALTA, V. R. S.; SIMONE, C. A.; PINTO, A. V.; CASTRO, S. L. **Synthesis of naphthofuranquinones with activity against Trypanosoma cruzi**. European Journal of Medicinal Chemistry 41, 526–530, 2006.

SILVA, R. S. F.; GUIMARÃES, T. T.; SILVA, M. J. da; PINTO, M. do C. F. R.; GOULART, M. O. F.; SIMONI, C. A. de; GOMES, J.; PINTO, A. V. **Síntese e estrutura cristalina de uma nova dihidrofenazina pentacíclica derivada do Lapachol**. In: 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, 2005. Anais eletrônicos. Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cd29ra/resumos/T0175-2.pdf>>. Acesso em: 26 fev. 2012.

SILVA, T. M. B. **Estudo químico-teórico na diferenciação da psicoatividade e psicoinatividade em canabinóides biologicamente ativos e seus metabólitos**. Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia, Maceió, 2009.

SOUZA, H. K. S. de; SOUSA, E. A.; MELO, D. M. de A.; LIMA, F. J. S. **Efeitos ópticos – eletrônicos de solventes nas polarizabilidades eletrônicas do íon Ni_2^+ no complexo $[Ni(C_3H_4N_2)_6](CF_3SO_3)_2$** . Eclet. Quím. vol.27. São Paulo. 2002a.

SOUZA, W. **Basic Cell Biology of Trypanosoma cruzi**. Curr. Pharm. Des.8: 269-285. 2002b.

SPARTAN. Wavefunction, versão 02. Inc. 18401 Von Karman Avenue, Suite 370, Irvine, CA 92612 USA. 2002.

STEMPIN, C. C., TAMOS, T. B., COSO, O. A. CERBAN, F. M. **Arginase induction promotes Trypanosoma cruzi intracellular replication in cruzipaintreted J774 cells through the activation of multiple signaling pathways**. Eur. J. Imm. 34(1): 200-209. 2004.

STEWART, J. J. P. **MOPAC 2007. Stewart Computational Chemistry**. EUA, 2007. Disponível em: <<http://openmopac.net>>. Acesso em: 29 fev. 2012.

TAVARES, L. C. **QSAR: A abordagem de Hansch**. Quim. Nova, vol. 27, nº. 4, 631-639. 2004.

TEIXEIRA, M. J.; DE ALMEIDA, Y. M.; VIANA, J. R.; HOLANDA FILHA, J. G.; RODRIGUES, T. P.; PRATA, J. R. C. JR.; COELHO, I. C. B.; RAO, V. S.; POMPEU, M. M. L. **In vitro and in vivo Leishmanicidal Activity of 2-Hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (Lapachol)**. Phytoter. Res. 15, 44. 2001.

THOMAS, G. **Fundamentals of medicinal chemistry**. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2003.

THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. **MolDock: A new technique for highaccuracy molecular docking**. J. Med. Chem. 49: 3315–3321. 2006.

TOMAS, A. M. MILES, M. A.; KELLY, J. M. **Overexpression of cruzipan, the major cysteine protease of Trypanosoma cruzi, is associated with enhanced metacyclogenesis**. Eur. J. Biochem. 244:596-603. 1997.

THOMAS, G. **Fundamentals of medicinal chemistry**. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2003.

TURNER, G. W.; TEDESCO, E.; HARRIS, K. D. M.; JOHNSTON, R. L.; KARIUKI, B. M. **Implementation of Lamarckian concepts in a Genetic Algorithm for structure solution from powder diffraction data**. Chemical Physics Letters, v. 321, 3–4, p. 183-190, 2000.

TYLER, K. M.; ENGMAN, D. M. **Int. J. Parasitol.** 31, 472. 2001.

VENKATACHALAM, C. M.; JIANG, X.; OLDFIELD, T.; WALDMAN, M. **LigandFit: A novel method for the shape-directed rapid docking of ligands to protein active sites**. J. Mol. Graph. Model. 21: 289–307. 2003.

VERLI, H.; BARREIRO, E. J. **Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores**. Quím. Nova, vol. 28, no. 1, 95-102, 2005.

WERMUTH, C. G. **The practice of medicinal chemistry**. Academic Press: San Diego, 2003.

WHO. World Health Organization. **Special Programme for Research & Training in Tropical Disease (TDR)**. 2012. Disponível em:
<<http://www.who.int/tdr/diseases/chagas>>. Acesso em: 09 fev. 2012.

WIEDERANDERS, B. **Structure-function relationships in class CA1 cysteine peptidase propeptides**. Acta Biochim Pol. 50(3):691-713. 2003.

YAN, Q. **Systems Biology in Drug Discovery and Development - Methods and Protocols**. New York: Springer Science and Business Media. 2010.

YOSHIDA, N., FAVORETO, S. J. R, FERREIRA, A. T.; MANQUE, P.M. **Molecular basis of mammalian cell invasion by Trypanosoma cruzi**. An Acad. Bras. Cienc. 78(1): 87-111. 2006.

YOUNG, D. C. **COMPUTATIONAL CHEMISTRY: A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems**. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2001.

ZOU, Y.; ALBOHY, A.; SANDBHOR, M.; CAIRO, C. W. **Inhibition of human neuraminidase 3 (NEU3) by C9-triazole derivatives of 2,3-didehydro-N-acetylneuraminic acid.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20, 7529-7533. 2010.

ZSOLDOS, Z.; REID, D.; SIMON, A.; SADJAD, S. B.; JOHNSON, A. P. **eHiTS. A new fast, exhaustive flexible ligand docking system.** *J. Mol. Graph. Model.* 7: 421 – 435. 2006.

APÊNDICE A – Descritores Físico-Químicos

Tabela A1 – Descritores físico-químicos calculados para os compostos estudados.

Compostos	A (Å²)	V(Å³)	M (uma)	E_{HIDRAT} (kcal/mol)	LogP	RM (Å³)	POLAR (Å³)
Benzonidazol	381,28	746,74	260,25	-8,85	1,78	66,29	26,17
Ravuconazol	527,20	1128,41	437,47	-12,00	2,90	115,33	44,46
FSE-1	460,61	968,86	328,41	-4,31	4,35	98,76	38,79
FSE-2	455,40	1051,56	367,45	-7,21	3,91	109,98	42,97
FSE-3	443,53	975,03	346,40	-3,87	4,49	98,97	38,70
FSE-4	452,53	977,68	346,40	-4,00	4,49	98,97	38,70
FSE-5	452,77	977,92	346,40	-4,01	4,49	98,97	38,70
FSE-6	464,78	1008,24	362,86	-3,80	4,87	103,56	40,71
FSE-7	475,67	1011,57	362,86	-3,95	4,87	103,56	40,71
FSE-8	476,01	1011,72	362,86	-3,96	4,87	103,56	40,71
FSE-9	473,30	1029,34	407,31	-3,81	5,14	106,38	41,41
FSE-10	484,92	1031,12	407,31	-3,93	5,14	106,38	41,41
FSE-11	485,27	1031,34	407,31	-3,95	5,14	106,38	41,41
FSE-12	461,69	1009,06	342,44	-3,10	4,82	103,80	40,62
FSE-13	480,95	1019,82	342,44	-3,12	0,35	113,90	43,34
FSE-14	483,95	1020,89	342,44	-3,11	4,28	103,80	40,62
FSE-15	474,79	1039,77	396,41	-3,27	5,23	104,73	40,35
FSE-16	499,36	1047,26	396,41	-3,67	5,23	104,73	40,35
FSE-17	500,03	1047,87	396,41	-3,70	5,23	104,73	40,35
FSE-18	471,59	1010,63	353,42	-6,72	4,31	104,95	40,64
FSE-19	497,09	1025,91	353,42	-8,46	4,31	104,95	40,64
FSE-20	497,59	1025,90	353,42	-8,51	4,31	104,91	40,64
FSE-21	428,88	959,59	329,40	-5,17	3,90	96,20	38,08
FSE-22	427,69	955,50	329,40	-5,91	3,97	96,54	38,08

Tabela A1 – Descritores físico-químicos calculados para os compostos estudados (continuação).

Compostos	ET (kcal/mol)	EE (kcal/mol)	MD (Debye)	D	S
Benzonidazol	-72249,01	-478460,31	2,679	4,28	0,23
Ravuconazol	-116136,07	-953973,44	5,64	4,03	0,25
FSE-1	-88204,71	-680513,63	4,06	3,68	0,27
FSE-2	-99183,34	-799366,06	3,61	3,63	0,27
FSE-3	-99071,72	-741129,62	5,26	3,63	0,27
FSE-4	-99075,33	-732625,44	5,34	3,65	0,27
FSE-5	-99075,89	-730386,44	4,17	3,63	0,27
FSE-6	-96506,35	-735094,12	4,92	3,65	0,27
FSE-7	-96508,61	-726894,94	5,04	3,65	0,27
FSE-8	-96509,016	-724590,13	4,11	3,63	0,27
FSE-9	-96033,19	-733455,81	4,94	3,76	0,26
FSE-10	-96035,81	-725038,37	5,15	3,64	0,27
FSE-11	-96036,20	-722716,18	4,17	3,62	0,27
FSE-12	-91795,86	-733604,75	3,77	3,68	0,27
FSE-13	-91798,94	-725545,00	3,87	3,69	0,27
FSE-14	-91799,36	-722717,56	4,17	3,67	0,27
FSE-15	-124420,81	-932204,87	6,52	3,67	0,27
FSE-16	-124425,16	-897772,31	6,89	3,60	0,28
FSE-17	-124425,63	-888468,50	5,32	3,56	0,28
FSE-18	-95592,54	-752570,62	6,68	3,58	0,28
FSE-19	-95595,37	-740006,94	6,93	3,60	0,28
FSE-20	-95595,73	-736994,75	5,25	3,54	0,28
FSE-21	-89704,15	-683109,94	3,01	3,65	0,27
FSE-22	-89703,78	683004,94	2,46	3,63	0,27

Tabela A1 – Descritores físico-químicos calculados para os compostos estudados (continuação).

Compostos	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	AE (eV)	PI (eV)	E
benzonidazol	-9,76	-1,20	1,20	9,76	5,48
Ravuconazol	-9,49	-1,43	1,43	9,49	5,46
FSE-1	-7,86	-0,49	0,49	7,86	4,18
FSE-2	-7,59	-0,32	0,32	7,59	3,95
FSE-3	-7,88	-0,63	0,63	7,88	4,26
FSE-4	-7,97	-0,67	0,67	7,97	4,32
FSE-5	-7,93	-0,68	0,68	7,93	4,31
FSE-6	-7,92	-0,469	0,47	7,92	4,19
FSE-7	-7,95	-0,64	0,64	7,95	4,29
FSE-8	-7,94	-0,68	0,68	7,94	4,31
FSE-9	-7,95	-0,42	0,42	7,95	4,18
FSE-10	-7,96	-0,67	0,67	7,96	4,31
FSE-11	-7,97	-0,74	0,74	7,97	4,36
FSE-12	-7,85	-0,48	0,48	7,85	4,17
FSE-13	-7,86	-0,48	0,48	7,86	4,17
FSE-14	-7,82	-0,48	0,48	7,82	4,15
FSE-15	-8,02	-0,68	0,68	8,02	4,35
FSE-16	-8,056	-0,85	0,85	8,05	4,45
FSE-17	-8,10	-0,98	0,98	8,10	4,54
FSE-18	-7,97	-0,82	0,82	7,97	4,39
FSE-19	-8,03	-0,83	0,83	8,03	4,43
FSE-20	-8,06	-0,99	0,99	8,06	4,53
FSE-21	-7,91	-0,62	0,62	7,91	4,26
FSE-22	-7,97	-0,71	0,71	7,97	4,34

APÊNDICE B – Orbitais de fronteira LUMO

Tabela B1 – Orbitais de fronteira LUMO para os compostos estudados.

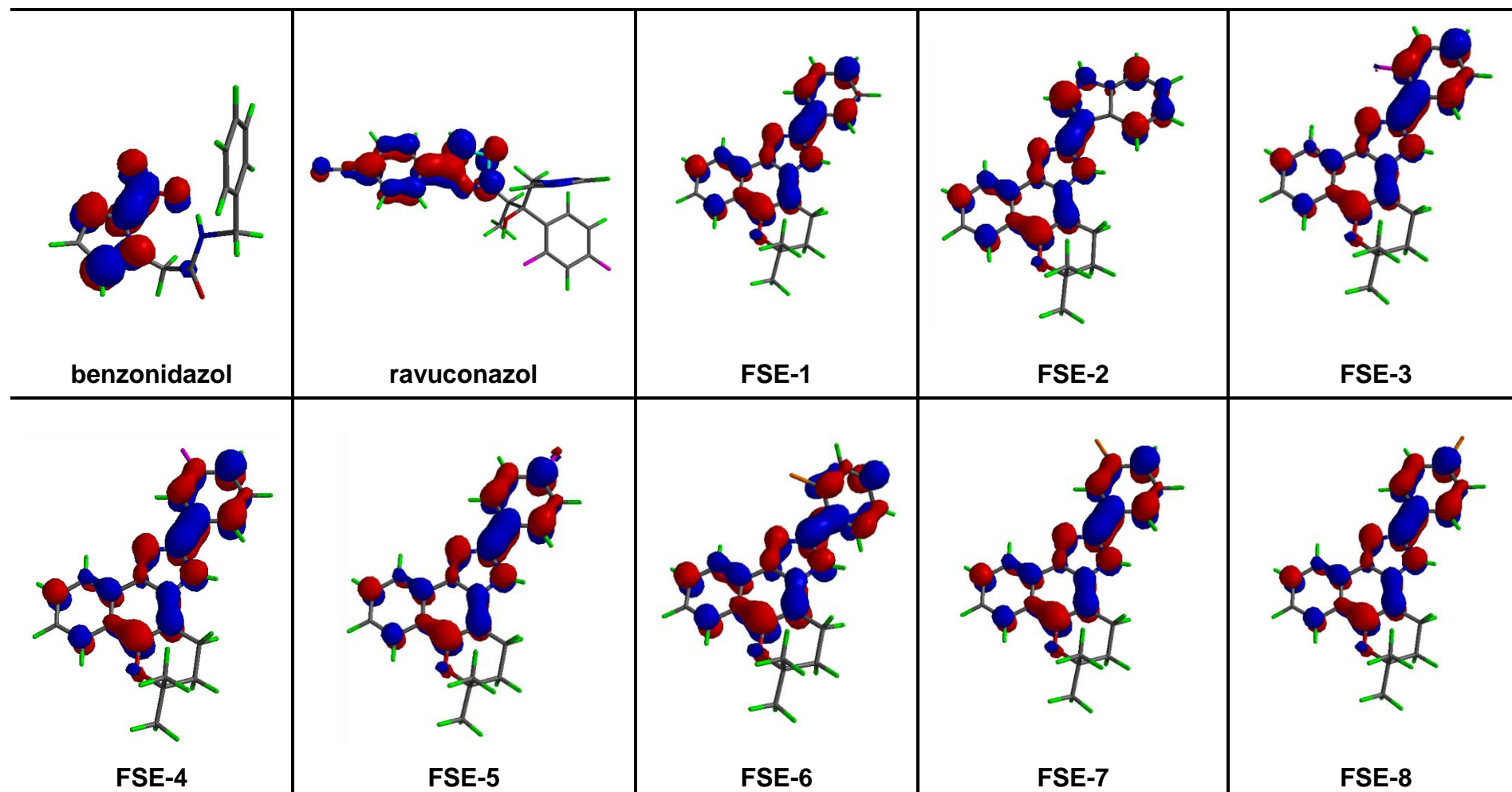


Tabela B1 – Orbitais de fronteira LUMO para os compostos estudados (continuação).

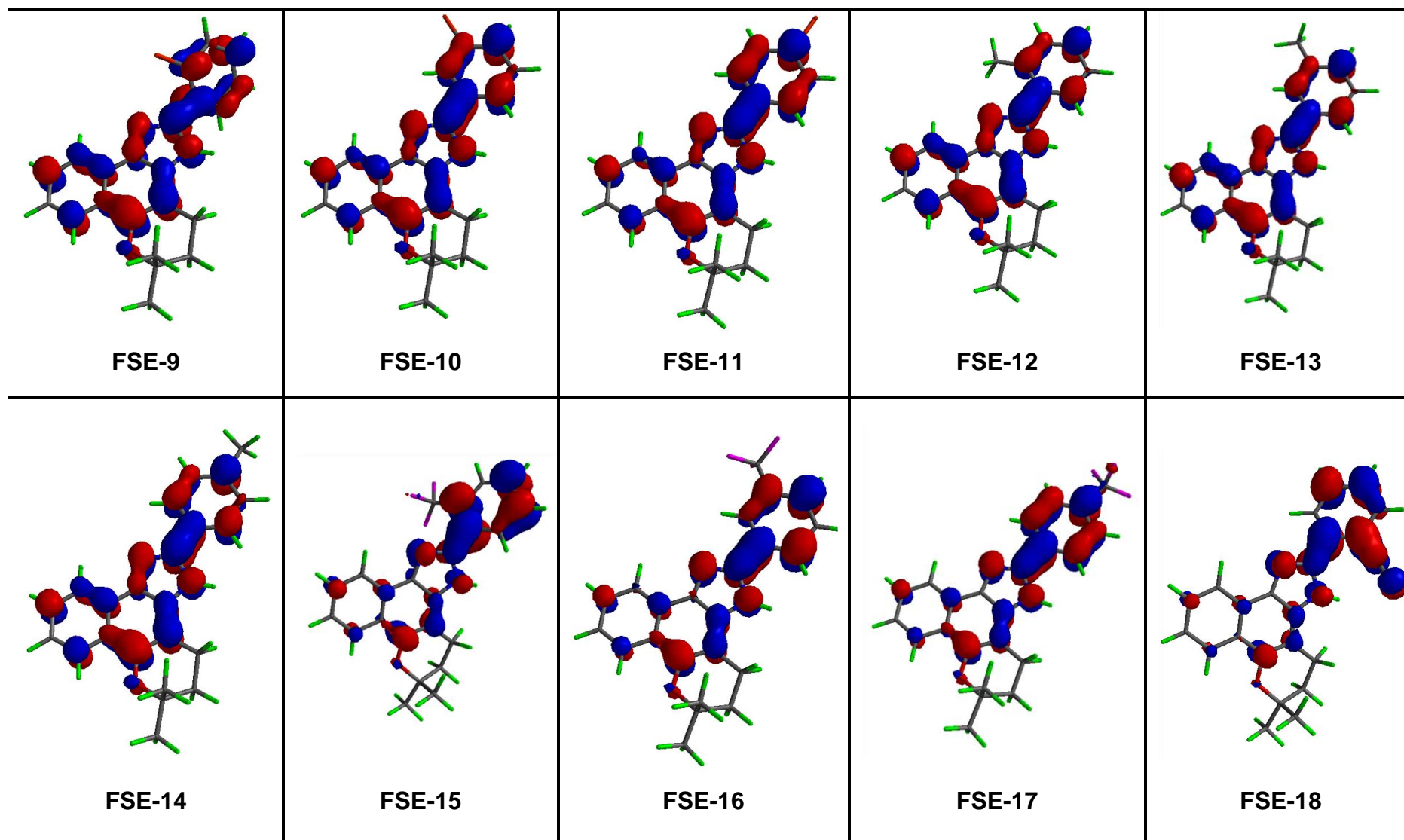
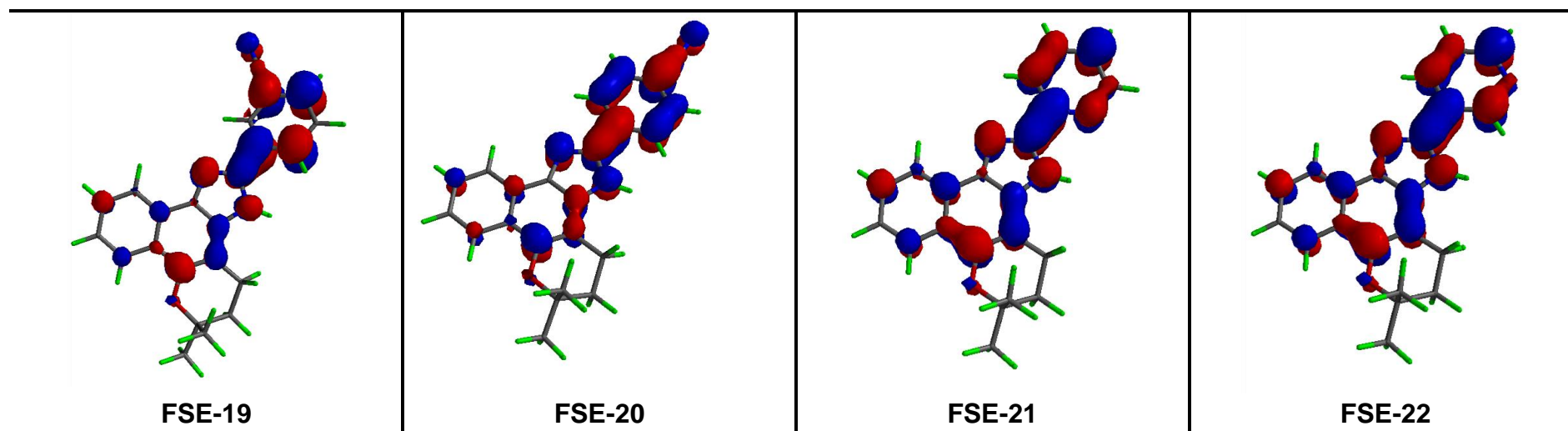


Tabela B1 – Orbitais de fronteira LUMO para os compostos estudados (continuação).



APÊNDICE C – Mapas de potenciais eletrostáticos

Tabela C1 – Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para os compostos estudados.

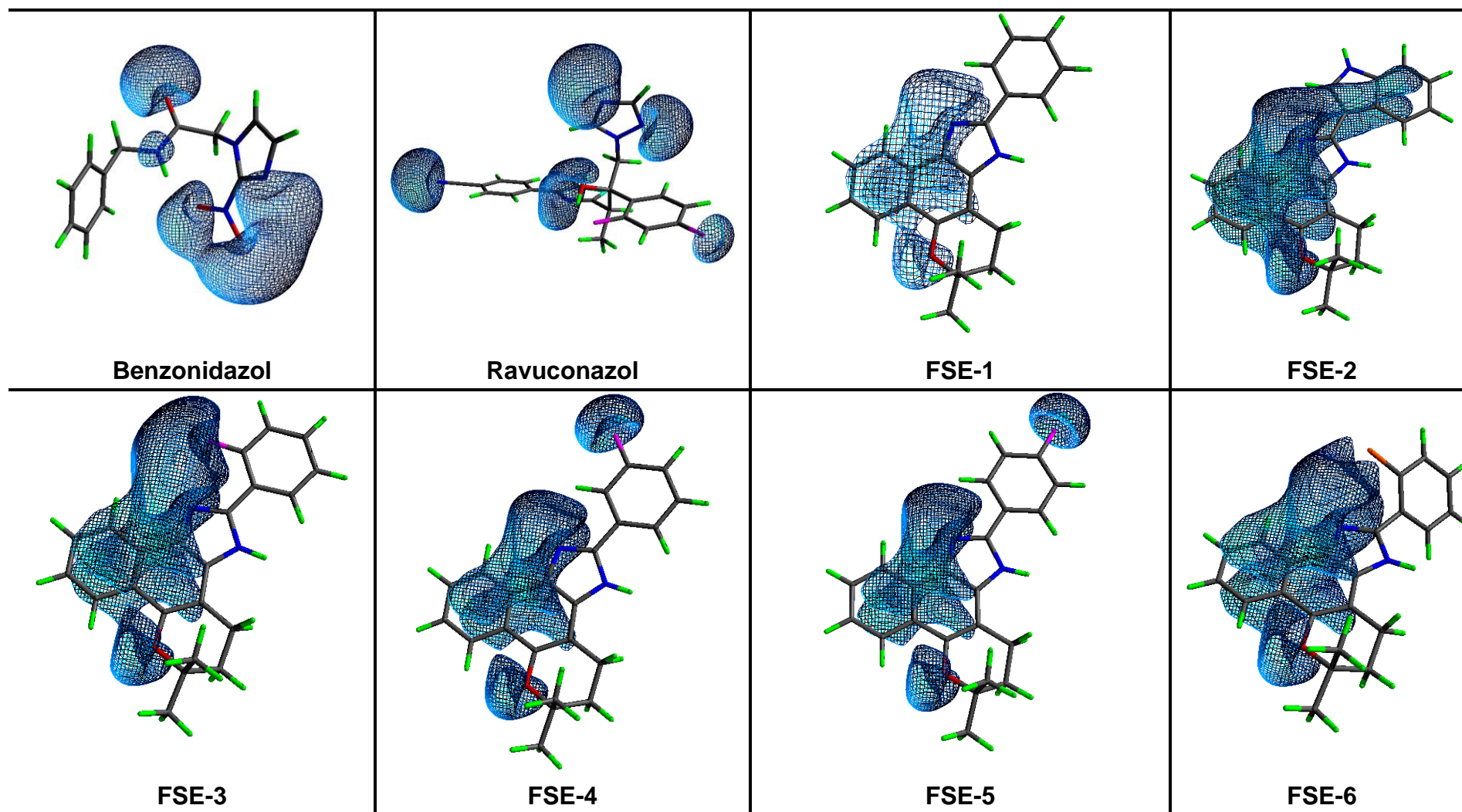


Tabela C1 – Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para os compostos estudados (continuação).

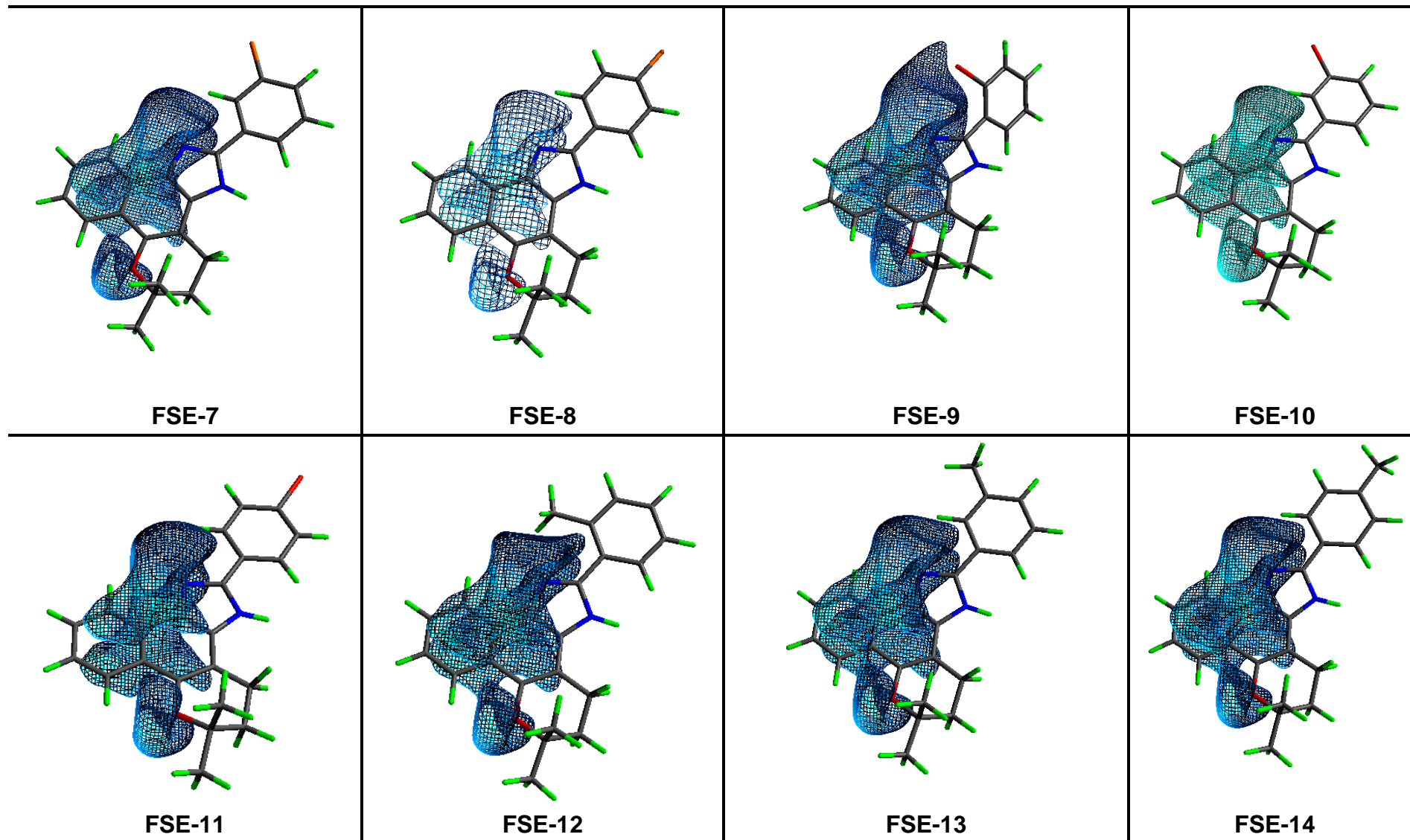


Tabela C1 – Mapas de potenciais eletrostáticos calculados para os compostos estudados (continuação).

