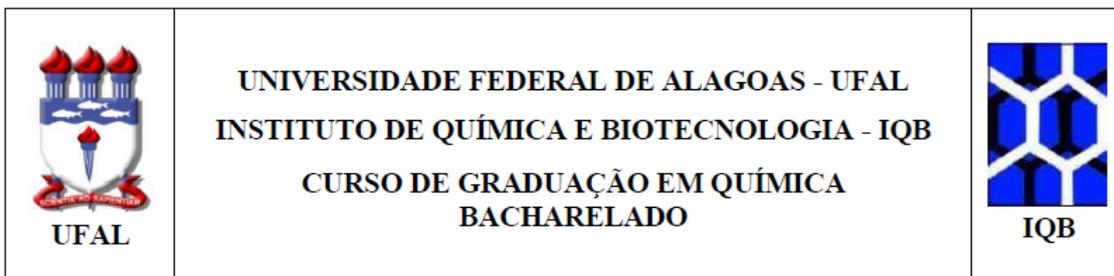


Wilson Leite Dos Santos Neto

Estudos *in silico* de isocumarinas sintéticas como inibidores da
Dihidrofolato Redutase com potencial atividade antimalarial

Maceió
2023



Wilson Leite Dos Santos Neto

Estudos *in silico* de isocumarinas sintéticas como inibidores da
Dihidrofolato Redutase com potencial atividade antimalarial

Monografia apresentada ao corpo docente do curso de Graduação Química da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Química.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Silva Porto

Maceió

2023

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

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S237e Santos Neto, Wilson Leite dos.
Estudos *in silico* de isocumarinas sintéticas como inibidores da
Diidrofolato Redutase com potencial atividade antimalarial / Wilson Leite dos
Santos Neto. – 2023.
47 f. : il. color.

Orientador: Ricardo Silva Porto.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Química: Bacharelado)
– Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia.
Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 33-36.
Apêndice: f. 37-47.

1. Malária. 2. Fármacos. 3. Antimalariais. 4. *In silico*. 5. Docking
molecular. I. Título.

CDU: 54 : 615

RESUMO

A malária é uma doença de risco para cerca de 3 bilhões de pessoas em todo o mundo. Desta forma, a descoberta de novos medicamentos como antimaláricos é extremamente importante. Este trabalho tem como objetivo o estudo *in silico* de isocoumarinas sintéticas como potenciais fármacos antimaláricos. Inicialmente os compostos foram submetidos a estudos ADME visando a avaliação do perfil físico-químico das moléculas. A seguir, docking molecular foi realizado para estimar o potencial dos compostos como inibidores da diidrofolato redutase, uma importante enzima presente no *Plasmodium falciparum*, protozoário transmissor da malária. O sucesso deste trabalho nos permitirá identificar compostos sintéticos que podem atuar como novos agentes antimaláricos, aumentando assim as opções do combate a essa doença de importância global.

PALAVRAS-CHAVE: Malária, *in silico*, fármacos, docking molecular.

ABSTRACT

Malaria is a disease at risk for about 3 billion people worldwide. Thus, the discovery of new drugs as antimalarials is extremely important. This work aims to study *in silico* synthetic isocoumarins taken from the literature as potential antimalarial drugs. Initially, the compounds will undergo ADME studies aiming at evaluating the physicochemical profile of the molecules. Next, molecular docking will be performed to estimate the potential of the compounds as inhibitors of dihydrofolate reductase, an important enzyme present in *Plasmodium falciparum*, the protozoan that transmits malaria. The success of this work will allow us to identify synthetic compounds that can act as new antimalarial agents, thus increasing the options for combating this globally important disease.

KEYWORDS: Malaria, *in silico*, drugs, molecular docking.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação do ciclo biológico do <i>Plasmodium</i>	9
Figura 2: Estrutura dos fármacos utilizados contra a malária.....	11
Figura 3: Representação da estrutura de uma isocumarina	13
Figura 4: Atividade farmacológica de alguns derivados de isocumarinas.....	14
Figura 5: Estrutura da enzima PfDHFR-TS	21
Figura 6: Sobreposição da pose do ligante nativo co-cristalizado (em amarelo) com a pose calculada para a função de pontuação escolhida (verde)	23
Figura 7: Estruturas do Proguanil, Cloroquina CMR134 e CMR138	28
Figura 8: Visualização 3D e 2D do ligante e das interações do Proguanil com aminoácidos da enzima da PfDHFR-TS	29
Figura 9: Visualização 3D e 2D do ligante e das interações do Cloroquina com aminoácidos da enzima da PfDHFR-TS	29
Figura 10: Visualização 3D e 2D do ligante e das interações da CMR134 com aminoácidos da enzima da PfDHFR-TS	30
Figura 11: Visualização 3D e 2D do ligante e das interações da CMR138 com aminoácidos da enzima da PfDHFR-TS	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de pontuação de docking com os ligantes de isocumarinas (CMR) e compostos de referências 24

Tabela 2: Parâmetros necessários para um composto poder ser um fármaco, compostos que não violam a regra de Lipinski 26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT - Artemisinin-based Combination Therapy

ADME - Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

CMR – Isocumarina

cLogP, - Calculated 1-octanol/ water partition coefficients

DNA - Deoxyribonucleic Acid

dTMP - Deoxythymidine Monophosphate

dUMP - Deoxyuridine Monophosphate

DV – Discovery Studio Visualizer

HBD - Hydrogen Bond Donors

HBA - Hydrogen Bond Acceptors

NADPH - Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

NRB - Number Rotatable Bonds

OMS – Organização mundial de Saúde

PDB - Protein Data Bank

PfDHFR-TS - Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase-thymidylate synthase

RMSD - Root-Mean-Square Deviation

TPSA - Topological Polar Surface Area

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS	12
2.2 Objetivos gerais	12
2.2 Objetivos específicos	12
3. REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 ISOCUMARINAS.....	13
3.2 PREVISÃO <i>IN SILICO</i>	14
3.3 MÉTODOS DE MODELAGEM MOLECULAR	15
3.3.1 MECÂNICA MOLECULAR	16
3.3.2 MECÂNICA QUÂNTICA – <i>AB INITIO</i>	17
3.3.3 MÉTODOS SEMI-EMPÍRICOS	18
4. METODOLOGIA	18
4.1 PREVISÃO ADME DOS LIGANTES.....	19
4.2 DOCKING MOLECULAR.....	20
4.3 DOCKTHOR.....	20
4.4 ENZIMA DIIDROFOLATO REDUTA – TIMIDILATO SINTASE	20
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	22
5.1 REDOCKING	22
5.2 DOCKING	23
5.3 PARÂMETROS ADME	25
5.3 INTERAÇÃO RECEPTOR LIGANTE	27
6. CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33
APÊNDICES	37
Apêndice A – Propriedades farmacocinéticas para os compostos selecionados...37	
Apêndice B – Resultados do docking molecular dos compostos de Isocumarinas	43
Apêndice C – Valores de pontuação de docking com os ligantes de isocumarinas (CMR) e de compostos de referência	47

1. INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecto-parasitária considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) um dos maiores problemas de saúde pública, particularmente nos países do Terceiro Mundo, entre eles o Brasil. A malária pode ser causada por quatro tipos de protozoários do gênero *Plasmodium*, são eles: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* e *P. ovale*. No Brasil, apenas os três primeiros estão presentes, sendo o *P. vivax* e o *P. falciparum* as espécies predominantes (BRASIL. Ministério da Saúde). Esta doença apresenta-se em mais de 100 países, apesar de estar contida principalmente em áreas tropicais pobres da África, Ásia e América Latina, cerca de 40% da população mundial convivem sob o risco de contágio. Na América Latina, o maior número de casos é constatado na Amazônia brasileira, com registro de cerca de 500 mil casos/ano (BRAGA e FONTES, 2002).

As condições ambientais têm uma grande importância na transmissão da doença, como é o caso, por exemplo, da temperatura baixa. O parasita demora mais tempo para se tornar infeccioso assim podendo impedir a transmissão, já que o tempo de vida do mosquito pode não permitir o desenvolvimento completo do parasita (Webber, 2004). A água também assume uma grande importância quando se trata do desenvolvimento do tal vetor, pois três das fases do ciclo de vida do mesmo são exclusivamente aquáticas e têm lugar geralmente em águas paradas (Gomes, 2010).

A transmissão natural da doença ocorre pela picada do mosquito do gênero *Anopheles* infectado com o *Plasmodium*, este parasita possui um ciclo de vida heteroxeno sendo assim o mesmo necessita de dois hospedeiros, o primeiro deles o mosquito fêmea *Anopheles*, o hospedeiro definitivo onde se dá a reprodução sexuada (esporogonia), este simultaneamente o vetor da doença. O segundo, o homem ou outro vertebrado é o hospedeiro intermediário onde ocorre a reprodução assexuada (esquizogonia). (Souza e Ferreira, 2022).

O primeiro estágio de infecção do parasita da malária se inicia com a picada do mosquito fêmea *Anopheles* quando vai se alimentar, com isso acaba liberando diversos esporozoítos para a corrente sanguínea do indivíduo, por meio de suas glândulas salivares. Devido à rapidez do processo, em torno de 30 minutos, as células do fígado (hepatócitos) são atingidas. Os parasitas se desintegram por meio de multiplicação assexuada liberando milhares de merozoítos, e através destes ocorre a eclosão e ruptura das células do fígado. Cada unidade de merozoíto após passar pelo eritrócito (célula do vermelho do sangue) se multiplica em 12 a 16 merozoítos por esquizonte (glóbulo vermelho infectado). (Biamonte et al., 2013; França et al., 2008). Logo, após o processo de multiplicação assexuada, ocorre a

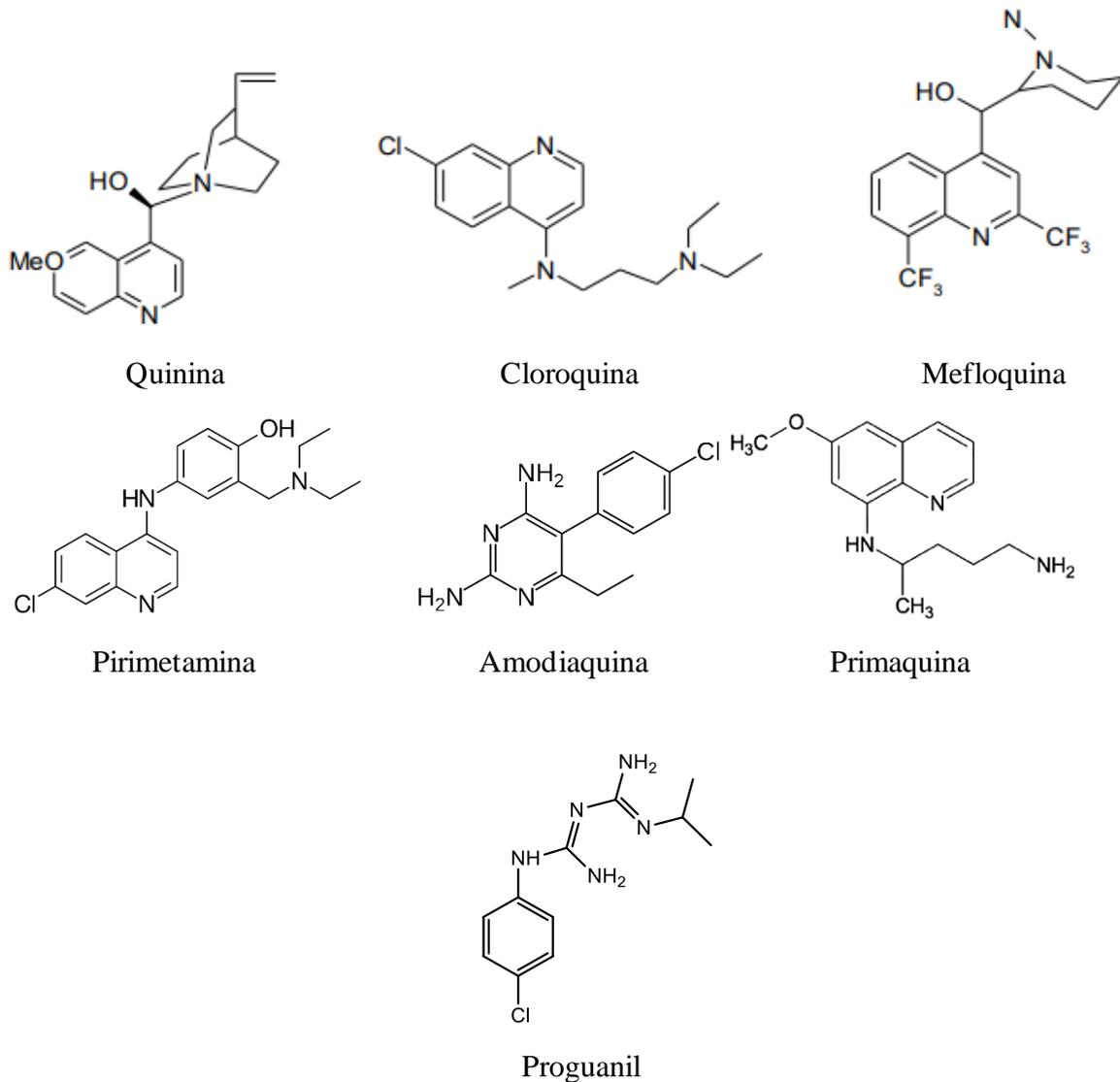
especifica dos parasitas a partir da análise da sua morfologia e pelos estágios de desenvolvimento dos protozoários encontrados no sangue periférico, porém não é possível determinar o gênero do parasita através dessa técnica (WHO, 2006). Segundo a OMS, o rápido diagnóstico e tratamento da malária são elementos básicos para controlar a doença, realizando o tratamento no início pode-se diminuir a duração da infecção e evitar complicações posteriores, entre elas a morte. Devido ao uso indiscriminado de medicamentos antimaláricos no século passado, o parasita tornou-se resistente a alguns medicamentos, como a cloroquina, assim aumentando a morbidade e a mortalidade pela malária (TARANTO et al., 2006).

O tratamento medicamentoso da malária tem como objetivos: (i) reduzir a morbidade e a mortalidade, devendo ser realizado após o diagnóstico; (ii) garantir a cura completa da infecção, prevenindo a progressão da doença para forma grave e potencialmente fatal, no caso do *P. falciparum*; (iii) reduzir o reservatório do parasito humano, assim diminuindo a transmissão da doença; e, (iv) evitar o surgimento da resistência aos antimaláricos (WHO 2013).

O primeiro fármaco a ser utilizado para o tratamento da malária foi a quinina, um alcalóide com propriedades antitérmicas, antimaláricas e analgésicas, isolado da casca de uma árvore nativa da América do Sul. Esse fármaco, até a 1ª Guerra Mundial, era o único fármaco utilizado no tratamento da doença. Em 1925, foi sintetizada a pamaquina, este fármaco foi o segundo medicamento antimalárico sintético e o primeiro fármaco com ação para prevenir as recaídas por *P. vivax*. Posteriormente, foi desenvolvida a mepacrina ou atebrina com ação contra o *P. falciparum*, porém esses fármacos apresentavam uma toxicidade elevada. (CUNICO et al, 2008).

Durante a 2ª Guerra Mundial, a busca novos antimaláricos mais potentes e menos tóxicos incentivou o desenvolvimento de vários fármacos, dentre eles a amodiaquina, a primaquina, o proguanil, a pirimetamina e a cloroquina, que já tinha sido sintetizada e estudada antes do surgimento da resistência do *P.falciparum* à cloroquina, no final da década de 50 esse fármaco era utilizado para o tratamento de todas as espécies de *Plasmódios* que parasitam o homem. A mefloquina, um derivado da quinina foi utilizada inicialmente para o tratamento da malária causada pelo *P. falciparum* resistente à cloroquina (TRACY; WEBSTER, 2005; FRANÇA et al, 2008).

Figura 2 - Estrutura dos fármacos utilizados contra a malária.



Fonte: Auto, 2023.

Para o tratamento da malária, a OMS preconiza o emprego de combinações envolvendo dois ou mais fármacos contra a forma esquizonte, O tratamento clássico da doença usando fármacos como a cloroquina, que atua destruindo o esquizonte neste tipo de terapia geralmente existe a combinação com outro fármaco. Mas devido à grande resistência a apresentada a esses compostos, novos fármacos estão sendo aplicados. (WHITE, 2008).

O tratamento mais eficiente para malária é uma terapia combinada à base de artemisinina (ACTs, em inglês). A terapia tem baixo nível de toxicidade, poucos efeitos colaterais e age rapidamente contra o parasita. A maioria dos países africanos alterou oficialmente seus protocolos para tratar a malária com o medicamento. Quando realizada uma combinação de medicamentos utilizando um derivado de artemisinina (ação curta) com uma

ou mais substâncias complementares (de ação prolongada e com diferentes mecanismos de ação). Utiliza-se este tratamento porque apresenta mais benefícios, como: alta eficiência, ação rápida e menor probabilidade de se desenvolver resistência.

De acordo com a OMS os casos de malária causados pelo *P.falciparum* devem ser tratados utilizando ATCs, porém, há o surgimento de parasitas resistentes aos principais fármacos utilizados, inclusive aos ATCs. Com isso a necessidade de novos medicamentos com ação antimalárica é uma realidade para o tratamento de pacientes portadores da doença causada por parasitas resistentes (WHO, 2006)

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Os objetivos deste trabalho incluem produzir conhecimento sobre processos em nível molecular utilizando a bioinformática para que seja possível sugerir compostos que possam atuar como potenciais fármacos.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar previsão ADME dos compostos de isocumarinas;
- Efetuar estudos de docking molecular destes compostos;
- Analisar as principais interações intermoleculares para formação do complexo proteína-ligante.

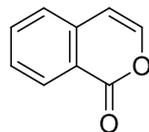
3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 ISOCUMARINAS

Produtos naturais são compostos selecionados para interagirem com uma grande variedade de alvos biológicos com propósitos específicos, logo, diversas dessas substâncias são bioativas e algumas delas resultaram em compostos efetivos, para uma variedade de indicações terapêuticas (KOEHN & CARTER, 2005). Químicos da área de síntese orgânica vêm buscando cada vez mais a utilização de metodologias de síntese satisfatórias para a obtenção de produtos naturais ou análogos. No campo da Química Medicinal, grupos de compostos que possam se ligar a diferentes receptores biológicos têm atraído a atenção de pesquisadores do mundo inteiro (SOUSA & PINTO, 2005).

Isocumarinas, assim como seus derivados, são compostos bem conhecidos isolados de uma variedade de fontes naturais e apresentam diversas atividades biológicas. As isocumarinas, que podem ser tanto naturais como sintéticas, são um importante grupo de lactonas, sendo caracterizadas como substâncias heterocíclicas oxigenadas de seis membros. (Zhang, W, 2008).

Figura 3 - representação da estrutura de uma isocumarina.

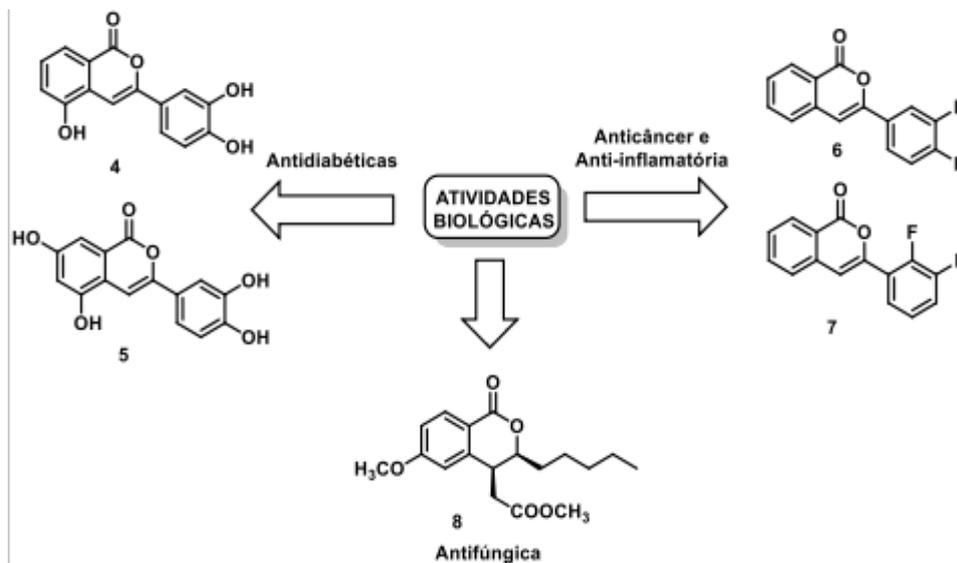


Isocumarina

Fonte: Autor, 2023.

Elas possuem largo espectro em atividades farmacológicas, entre elas, antifúngica, antidiabéticas, anticâncer e anti-inflamatória. Devido às propriedades farmacológicas e bioquímicas e às aplicações terapêuticas das isocumarinas, a investigação relativa ao seu isolamento e sínteses chamaram atenção de químicos que trabalham na área da Química Medicinal, assim, o interesse em produtos naturais e seus análogos vem crescendo a cada dia (THOMAS & JOHANNES, 2011).

Figura 4 - Atividade farmacológica de alguns derivados de isocumarinas.



Fonte: Adaptado, SANTOS. (2020)

3.2 PREVISÃO *IN SILICO*

Nos últimos tempos intensificaram propostas que consideram importante a redução na utilização de animais para processo de experimentos em laboratórios que esteja relacionado a descoberta de novas entidades químicas com valor terapêutico. Uma das principais abordagens desenvolvidas em substituição ao uso de animais são os estudos que utilizam ferramentas computacionais ou softwares de pesquisa, os chamados modelos *in silico* (AMORIM, 2017).

Os modelos *in silico* (executado em computador) são métodos computacionais que fazem uso de algoritmos matemáticos complexos e que visam a otimização de moléculas com maior potencial de desenvolvimento. Os modernos sistemas computacionais têm permitido a avaliação de propriedades físico-químicas importantes para a ação de fármacos (massa molecular, lipofilicidade, aceptores e doadores de hidrogênio) e de características farmacocinéticas: absorção, distribuição, metabolismo, excreção (ADME).

Os programas que avaliam parâmetros farmacocinéticos *in silico* vêm ganhando bastante ênfase durante a descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos. Os softwares de modelagem molecular se baseiam em métodos matemáticos complexos e robustos que permitem avaliar a cinética e a predição de alguns efeitos adversos de um candidato a fármaco. (AMORIM, 2017)

Os estudos *in silico* têm como vantagem a rapidez na sua execução, o baixo custo e a capacidade de reduzir o uso de animais em ensaios de toxicidade (de Macedo et al., 2013;

Porto et al., 2022). Durante os processos de descoberta e desenvolvimento de medicamentos que consomem tempo e recursos, muitas estruturas moleculares são avaliadas de acordo com parâmetros muito diversos, a fim de orientar a seleção de quais produtos químicos para sintetizar, testar e promover, com o objetivo final de identificar aqueles com a melhor chance de se tornar um medicamento eficaz para os pacientes. As moléculas devem apresentar alta atividade biológica juntamente com baixa toxicidade (Rodrigues et al., 2021; Barreiro et al., 1997).

Assim a química computacional vem sendo promissora por permitir a detecção precoce de moléculas pouco promissoras e por orientar a pesquisa na direção de moléculas com maior potencial. A disponibilidade de programas computacionais e bancos de dados são ferramentas essenciais para a simulação do comportamento de moléculas no planejamento de novos fármacos (Oliveiral et al., 2018).

3.3 MÉTODOS DE MODELAGEM MOLECULAR

A aplicação de métodos computacionais no estudo e no planejamento de compostos bioativos tem se tornado uma prática rotineira atualmente, um dos mais importantes avanços no planejamento e na descoberta de novos fármacos tem sido a utilização da Modelagem Molecular. Atualmente, a Modelagem Molecular é uma ferramenta indispensável não somente no processo de descoberta de novos fármacos, mas também na otimização de protótipos já existentes e no planejamento racional de candidatos a fármacos (COHEN, 1996; SANT'ANNA, 2002; CARVALHO et al., 2005; WERMUTH, 2009).

Desenhos de fármacos baseados em estrutura, modelagem molecular, ou docking molecular, é o método mais comum que tem sido amplamente utilizado desde o início dos anos 1980. Programas baseados em diferentes algoritmos foram desenvolvidos para realizar estudos de docking molecular, o que tornou a modelagem uma ferramenta cada vez mais importante na pesquisa farmacêutica (Meng et al., 2011).

A abordagem de docking molecular pode ser usada para modelar a interação entre uma molécula e uma proteína em nível molecular, que nos permitem caracterizar o comportamento de pequenas moléculas no sítio de ativação das proteínas alvo, bem como para elucidar os processos bioquímicos fundamentais. O processo de docking envolve duas etapas básicas: previsão da conformação do ligante, bem como sua posição e orientação dentro desses locais (geralmente referido como pose) e avaliação da afinidade de ligação. Essas duas etapas estão

relacionadas a métodos de amostragem e esquemas de pontuação, respectivamente (Meng et al., 2011).

Segundo a IUPAC, esse método é a investigação das estruturas e das propriedades moleculares pelo uso de química computacional e técnicas de visualização gráfica, visando uma representação tridimensional, sob um dado conjunto de circunstâncias (SANT'ANNA, 2002). Existem muitas opções quanto ao método de cálculo a ser aplicado em uma determinada estratégia de modelagem molecular. Estes métodos basicamente diferem quanto à natureza do campo de força, ou seja, do conjunto de funções de energia e parâmetros numéricos associados. Os campos podem ser totalmente empíricos, como os utilizados em mecânica molecular, ou, no outro extremo, puramente teóricos (métodos *ab initio*), passando pelos chamados métodos semi-empíricos. De modo geral, a escolha entre estas aproximações depende das propriedades que se deseja avaliar, da precisão desejada e da capacidade computacional disponível para a realização dos cálculos (Barreiro et al., 1997; SANT, 2009).

3.3.1 MECÂNICA MOLECULAR

Ao iniciamos um estudo de modelagem molecular, um dos procedimentos iniciais consiste em gerar um modelo da molécula no computador determinando-se as posições dos átomos no espaço por um conjunto de coordenadas cartesianas. Uma geometria inicial razoável e confiável determina a qualidade de toda a investigação subsequente. A expressão “mecânica molecular” é usada para definir um método computacional amplamente aceito e empregado para calcular as geometrias e energias moleculares (Afonso, 2008).

O método da mecânica fundamenta-se na visão clássica da estrutura molecular como um conjunto de esferas conectadas por molas com comprimento variável e constantes de força características. O campo de forças neste caso é formado pelo somatório de termos de energia relacionados às posições de equilíbrio do sistema (distâncias de ligação, ângulos de ligação, energia de torção, distâncias de van der Waals, ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas etc.; equação 1) às quais podem ser associadas penalidades energéticas para seu afastamento, isto é, as constantes de força das “molas” (Barreiro et al., 1997; Afonso, 2008).

Equação 1- Onde E_{tot} é a energia total da molécula, E_s é o termo da energia do comprimento da ligação, E_b é o termo da energia do ângulo de ligação, E_t é a energia de torção, E_{vdw} é o termo referente a energia de Van der Waals e E_{elec} é o termo da energia eletrostática.

$$E_{tot} = E_s + E_b + E_t + E_{vdw} + E_{elec} + \dots$$

Em geral, estas constantes de força são avaliadas por meio de dados espectroscópicos. A minimização de energia é um processo no qual através de um algoritmo matemático adequado busca-se reduzir em conjunto essas penalidades, ou seja, a energia, a um mínimo. A principal vantagem da mecânica molecular é a rapidez na avaliação de sistemas moleculares complexos, aplicável a moléculas pequenas e grandes e até mesmo sistemas oligomoleculares. (Barreiro et al., 1997; Afonso, 2008).

3.3.2 MECÂNICA QUÂNTICA – *AB INITIO*

Os métodos de mecânica quântica permitem maior precisão nos resultados, além disso fornecerem dados sobre a estrutura eletrônica, que não é conhecida na mecânica molecular. Isto acaba implicando em um custo computacional (tempo de computação e capacidade de memória necessária) maior (Barreiro et al., 1997).

Ab initio significa, estritamente, “do início” ou “dos princípios iniciais”, implicando que os cálculos que utilizam tal abordagem requerem como parâmetros somente constantes físicas como a velocidade da luz, a constante de Planck, a massa das partículas elementares e assim por diante. *Ab initio* de fato refere-se a cálculos que utilizam todas as equações do método UHF (Unrestricted Hartree-Fock), sem desprezar ou aproximar qualquer dos termos ou integrais empregados no operador Hamiltoniano (Afonso, 2008).

Equação 2 - Essa equação significa que, ao se aplicar os operadores energias cinética (T) e potencial (V) (que formam o operador Hamiltoniano) na função de onda, é obtida como resposta a própria função de onda multiplicada pela energia total do sistema. Onde Ψ é a função de onda, definida por Schrödinger, que depende das coordenadas R de todos os núcleos e das coordenadas r de todos os elétrons do sistema e E a energia total do sistema (SANT, 2009).

$$[\hat{T} + \hat{V}] \Psi (R, r) = E \Psi (R, r)$$

Devido ao custo computacional elevado dos métodos *ab initio* mais sofisticados, um recurso comumente empregado é o de se otimizar a geometria com um conjunto de bases mais simples e então executar cálculo em ponto único (Single Point Calculation) com um método mais completo sobre a geometria resultante (Afonso, 2008).

3.3.3 MÉTODOS SEMI-EMPÍRICOS

Os métodos semi-empíricos são fundamentadas no mesmo formalismo dos métodos *ab initio*, porém parte de seus parâmetros são ajustados a dados experimentais. A equação de Schrödinger é uma equação diferencial e sua resolução envolve a avaliação de muitas integrais. No caso de cálculos com métodos *ab initio*, o número de integrais cresce aproximadamente com a quarta potência do número de funções de base, chegando a alguns milhões mesmo para moléculas pequenas, já nos métodos quânticos semi-empíricos, as diversas aproximações de um grande número dessas integrais foi a solução adotada para economizar tempo de máquina, possibilitando a aplicação desse método em sistemas com um maior número de átomos, e também reduzir a quantidade de memória necessária nos cálculos (Barreiro et al., 1997; SANT, 2009).

A razão por trás desta aproximação é que os elétrons envolvidos numa ligação química, e outros fenômenos que podemos desejar investigar, são os elétrons da camada de valência e os núcleos são assumidos em sucessivas posições estacionárias, sobre as quais a distribuição espacial ótima dos elétrons é calculada pela resolução da equação de Schrödinger (Barreiro et al., 1997; Afonso, 2008).

O processo é repetido até que a energia acabe não mais variando dentro de um limite escolhido, ou seja, até atingir um ponto estacionário da superfície de energia. Esta procura por um estado estacionário da geometria calculada no espaço multidimensional é o equivalente computacional da purificação experimental de uma amostra antes de se avaliar suas características físico-químicas (Barreiro et al., 1997).

4. METODOLOGIA

O presente trabalho consiste nas seguintes etapas: seleção de derivados sintéticos de isocumarinas que serão submetidos à interação com a protease principal do PfDHFR-TS; previsão ADME dos ligantes e docking molecular. Foram selecionados 193 derivados sintéticos de isocumarinas. As estruturas químicas das moléculas foram obtidas através da base de dados Scifinder (<https://scifinder.cas.org>), então foram desenhadas no Chemdraw Ultra versão 12.0 e as estruturas tridimensionais foram geradas no Chem3D e otimizadas no campo de força MMFF94s no programa Avogadro®. As análises dos perfis físico-químicos e farmacocinéticos (ADME) foram realizadas no SwissADME e após cada etapa citada foi realizado o estudo do docking molecular entre proteína e ligante.

4.1 PREVISÃO ADME DOS LIGANTES

Os parâmetros farmacocinéticos como a absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME), são de grande importância devido à grande quantidade de compostos em fase de desenvolvimento ter sua formação interrompida devido a problemas farmacocinéticos como a baixa biodisponibilidade, alta toxicidade e interações medicamentosas não desejadas (SOUZA, 2019).

A administração por via oral é um critério de seleção particularmente importante de fármacos candidatos a tratamentos de doenças, essa via de administração é a mais simples, segura, possui baixo custo e pode ser facilmente autoadministrada. O perfil ADME *in silico* é uma ferramenta valiosa para prever as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas para esses candidatos (Porto, 2022; da Silva et al., 2020). A avaliação *in silico* dos parâmetros relativos à Regra de Lipinski, pode ser realizada pela plataforma SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). Neste sentido, as propriedades físico-químicas dos compostos desse estudo, incluídas nas regras de Lipinski foram usadas como elementos para “filtrar” e selecionar compostos que possam ter características de fármacos (YUNES; CECHINEL-FILHO, 2007).

Com o objetivo de facilitar o processo de tomada de decisão e aumentar a probabilidade de encontrar e desenvolver compostos viáveis farmacologicamente em seres humanos, foram desenvolvidos vários métodos e um dos métodos mais populares, para a previsão da absorção oral de novos candidatos a fármacos é a regra de Lipinski. Uma molécula ideal estaria de acordo com as diretrizes de propriedades físico-químicas da Regra de Lipinski (Rodrigues et al., 2021; Chen et al., 2020).

De acordo com a Lipinski, um composto deve ter um peso molecular ≤ 500 g/mol, coeficiente de partição calculado (cLogP, do inglês, Calculated 1-octanol/ water partition coefficients) < 5 (lipofilicidade), grupos doadores de ligação hidrogênio (HBD, do inglês, hydrogen bond donors) ≤ 5 e grupos aceptores de ligação de hidrogênio (HBA, do inglês, hydrogen bond acceptors) ≤ 10 . Além dessas propriedades, em pesquisas futuras também foram adicionadas outras propriedades que são: a área de superfície polar (TPSA, do inglês, Topological Polar Surface Area) ≤ 140 o número e ligações rotacionáveis (NRB, do inglês, Number Rotatable Bonds) ≤ 10 (Rodrigues et al., 2021; Chen et al., 2020).

Desta forma, tomar conhecimento das propriedades ADME através da análise *in silico* é indispensável, uma vez que este método torna mais seletivo a escolha dos compostos antes

de se realizar testes experimentais, além de poupar gastos excessivos de tempo e recurso (SOUZA, 2019).

4.2 DOCKING MOLECULAR

As estruturas tridimensionais da enzima do PfDHFR-TS foram obtidas no protein data bank (PDB; <https://www.rcsb.org>) e as análises de interações moleculares dos ligantes com as proteínas alvos foram realizadas através de docking molecular usando site DockThor onde pelo sistemas de pontuações (affinity: afinidade de ligação kcal/ mol) as diversas posições de encaixe do ligante com a proteína são medidas e as maiores afinidades são mostradas, quanto maior a afinidade, maior a chance de ser uma molécula com potencial para fármaco.

4.3 DOCKTHOR

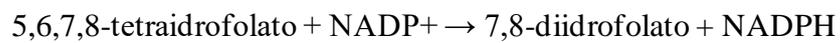
O desempenho do DockThor para a previsão de pose em estudos de redocking foi comparado com alguns programas de docking de última geração que também foram avaliados no conjunto de dados LEADS-PEP, AutoDock, AutoDock Vina, Surflex, GOLD, Glide, rDock e DINC. Resultados indicam que o DockThor conseguiu acoplar 40% dos casos com um RMSD global inferior a 2,5 Å quando foi considerada a pose de acoplamento com melhor pontuação, apresentando resultados semelhantes aos do Glide e superando outros programas de acoplamento proteína-ligante. Avaliando as poses de acoplamento mais próximas da estrutura cristalina (ou seja, a melhor pose RMSD), o DockThor obteve uma taxa de sucesso de 60% na previsão da pose. Devido ao excelente desempenho global no tratamento de compostos peptídicos, o programa DockThor pode ser considerado adequado para a ligação de ligantes altamente flexíveis e difíceis, com até 40 ligações rotativas. O DockThor está disponível gratuitamente como um servidor Web de selecção virtual em: <https://dockthor.lncc.br>) (B. SANTOS, 2020).

4.4 ENZIMA DIIDROFOLATO REDUTASE – TIMIDILATO SINTASE

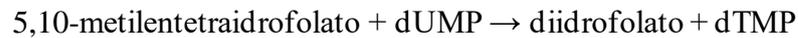
A DFHR-TS, trata-se da enzima que tem duas funções: catalisar a síntese de timidilato e a redução do dihidrofolato. É na última que ocorre a inibição efetuada pelos medicamentos existentes, impedindo a produção da timidina-5-monofosfato e a síntese do DNA. Enquanto alguns organismos possuem as enzimas diidrofolato (DHFR) redutase e timidilato sintase como moléculas independentes e separadas, o *Plasmodium falciparum* e as outras espécies de

Plasmodium apresentam essas moléculas unidas formando uma única estrutura bifuncional, na forma de dímeros (BZIK et. al., 1987).

O gene responsável por sua codificação é encontrado no cromossomo 4. A região N-terminal, alcançando 231 resíduos de aminoácidos, corresponde ao domínio DHFR, a região C-terminal, contendo 288 resíduos, forma o domínio timidilato sintase, esses domínios são unidos por uma região de junção que é composta por 89 resíduos. DHFR é responsável pela conversão de diidrofolato para tetraidrofolato usando NADPH, por meio da seguinte reação enzimática:



enquanto timidilato sintase cataliza a reação:



Essas reações fazem parte da via do ácido fólico, um importante precursor da via de síntese de alguns aminoácidos (BZIK et. al., 1987).

Figura 5 - Estrutura da enzima PfDHFR-TS.



Fonte: Autor, 2023.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

Antes de se iniciar o docking molecular propriamente dito, os parâmetros ideais foram selecionados através da comparação nas diferentes corridas da conformação, posição e orientação (as quais no conjunto são conhecidas como poses) do ligante docado com a pose correspondente do ligante co-cristalizado com o alvo farmacológico.

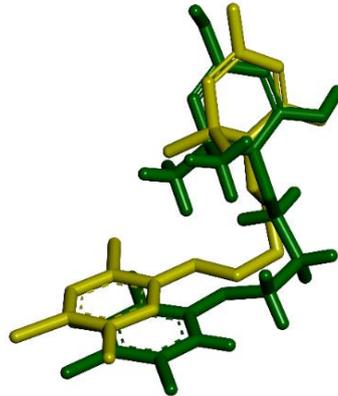
Este processo, conhecido como redocagem (redocking), é considerado um requisito mínimo para determinar se os parâmetros de docking selecionados são apropriados para a simulação com um determinado alvo ou não. Tal análise é efetuada pela comparação dos valores de desvio quadráticos médios (RMSD, do inglês Root-Mean-Square Deviation), uma medida da distância média entre os átomos do ligante cristalográfico de referência e do ligante docado. Para análise, utilizou-se o valor de RMSD de 2,0Å como limite já que este é amplamente reconhecido como padrão na análise dos estudos de redocking. (MORGON; COUTINHO, 2007).

5.1 REDOCKING

Foi realizada uma análise de redocking do complexo PfDHFR-TS (código PDB: 1J3I). Nesses experimentos, o ligante, que foi retirado da região de ligação da conformação cristalográfica, é “recolocado” no sítio ativo da macromolécula através de programas de atracamento molecular.

Para que o resultado do programa de *docking* seja “aceitável”, a estrutura que passou pelo processo de redocking deveria apresentar um valor de raiz quadrada do desvio médio quadrático (RMSD) de até 2 Å com a estrutura cristalográfica do ligante. (MORGON; COUTINHO, 2007)

Figura 6 - Sobreposição da pose do ligante nativo co-cristalizado (em amarelo) com a pose (verde).



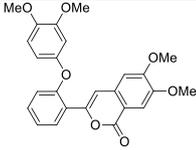
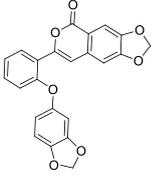
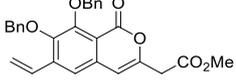
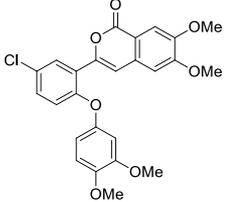
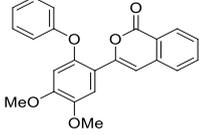
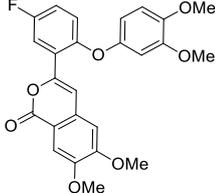
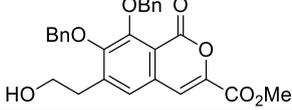
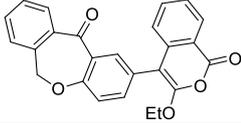
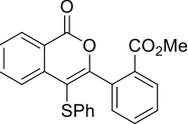
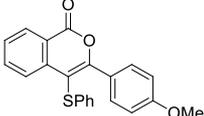
Fonte: Autor, 2023.

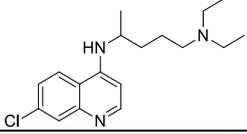
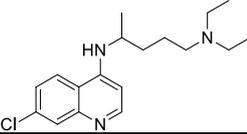
Com utilização do programa computacional Discovery Studio Visualizer foi possível realizar o cálculo de RMSD das estruturas da figura 6. De acordo com os resultados de redocking obtidos, consideramos que o protocolo de docking adotado foi considerado adequado, uma vez que foi possível encontrar a conformação experimental do ligante de referência como a solução de melhor energia predita pelo DS, com RMSD igual a 1,3759 Å, RMSD menor que 2.0 Å e considerado como sucesso.

5.2 DOCKING

Após realizar todos os processos para a seleção dos ligantes, foram selecionados para o estudo de docking molecular 193 derivados de CMR, aqueles ligantes que não violaram os parâmetros necessário para um estudo *in silico*. O resultado obtido e extraído do docking molecular foi o valor de afinidade de ligação (kcal / mol). Após a obtenção desses valores foram selecionados os 10 ligantes que ligados a enzima no docking obtiveram maiores valores de afinidade de ligação, com isso foi construída uma tabela contendo esses ligantes e seus determinados valores.

Tabela 1: Valores de pontuação de docking com os ligantes de isocumarinas (CMR) e compostos de referências.

1. Entrada	Estruturas	2. Compostos	Afinidade de Ligação (kcal / mol)
1		CMR104	-10,635
2		CMR113	-10,607
3		CMR52	-10,589
4		CMR106	-10,401
5		CMR102	-10,345
6		CMR105	-10,315
7		CMR192	-10,263
8		CMR184	-10,280
9		CMR134	-10,252
10		CMR138	-10,146

Compostos de referência			
	Estruturas	Compostos	Afinidade de Ligação (kcal / mol)
		Cloroquina	-9,172
		Proguanil	-8,018

Fonte: Autor, 2023.

A tabela 1 apresenta dois compostos de referência, sendo estes Cloroquina e o Proguanil, fármacos indicados contra a malária. Assim ao analisar os valores podemos ver que as 10 estruturas possuem valores aproximados aos compostos de referência. Portanto, isso mostra que as moléculas de derivados de isocumarinas podem ser possíveis inibidores contra a malária.

5.3 PARÂMETROS ADME

ADME, uma sigla que tem como significado distribuição, metabolismo e excreção, esses são parâmetros que revelam a farmacocinética dos fármacos. Nos dias atuais, os estudos desses parâmetros farmacocinéticos de ADME são de grande importância na descoberta de novos fármacos (VRBANAC, SLAUTER, 2017).

A absorção é o processo pelo qual um fármaco entra na corrente sanguínea. Existem várias vias de administração, mas as duas mais comuns são a intravenosa e a oral. Quando um fármaco é administrado por via intravenosa, a fase de absorção não existe, pois o fármaco entra diretamente na corrente sanguínea. Contudo, grande parte dos medicamentos são administrados por via oral, pois possibilitam a autoadministração do paciente. A distribuição se refere a transferência de um medicamento de um local para outro em nosso corpo, um fármaco se moverá do local de absorção para os tecidos, como tecido cerebral, gordura e músculo. Muitos fatores podem influenciar nessa movimentação, como fluxo sanguíneo, lipofilicidade, peso molecular e a forma como o fármaco interage com os componentes do sangue, como proteínas plasmáticas. (DOOGUE, POLASEK, 2013; LOFTSSON, 2015).

O metabolismo também um parâmetro essencial para avaliar a biodisponibilidade de um fármaco administrado por via oral. Além disso, o metabolismo pode realizar a conversão de compostos que são geralmente mais lipofílicos em metabólitos hidrofílicos que podem ser eliminados do corpo via excreção. A excreção é a eliminação de uma substância do organismo, essa eliminação geralmente ocorre por função do rim (urina), mas também pode ocorrer através do suor, lágrimas ou respiração (DOOGUE, POLASEK, 2013; LOFTSSON, 2015)

Entretanto, para um possível futuro estudo *in vitro* e *in vivo* primeiramente, uma previsão ADME é importante, baseada na regra de Lipinski, para verificar os parâmetros necessários para um composto poder ser um fármaco que pode ser administrado oralmente.

Tabela 2: Parâmetros necessários para um composto poder ser um fármaco, compostos que não violam a regra de Lipinski.

Composto	MW (≤500)	cLOGP (≤5.00)	NRB (≤10)	HBA (≤10)	HBD (≤5)	TPSA (≤140)
CMR104	434,44	4,42	7	7	0	76,36
CMR113	402,35	4,15	3	7	0	76,36
CMR52	456,49	4,94	10	6	0	74,97
CMR106	468,88	4,94	7	7	0	76,36
CMR102	374,39	4,40	5	5	0	57,90
CMR105	452,43	4,73	7	8	0	76,36
CMR192	460,48	4,13	10	7	1	95,20
CMR184	398,41	4,48	3	5	0	65,74
CMR134	388,44	4,81	5	4	0	81,81
CMR138	360,43	4,91	4	3	0	64,74
Cloroquina	319,87	4,15	8	2	1	28,16
Proguanil	253,73	2,06	6	2	5	83,79

Fonte: Autor, 2023.

Legenda: MW: peso molecular; cLogP: coeficiente de partição calculado; NRB: número de ligações rotacionáveis; HBA: grupos aceptores de ligação de hidrogênio; HBD: grupo doadores de ligação de hidrogênio e TPSA: área de superfície polar.

As moléculas que apresentam um alto peso molecular acabam não sendo bem absorvidas pelo trato gastrointestinal, a massa molecular de uma substância é um parâmetro respeitável na análise farmacocinética. Quanto maior for essa massa molecular, conseqüentemente maior será o volume dessa substância desse modo mais difícil é o transporte da molécula para o meio intracelular. Desse modo, é possível notar que todos os compostos presentes na tabela 2 possuem valores inferiores ao valor de referência (≤ 500). Portanto, estão de acordo com a regra de Lipinsk. Contudo as moléculas que apresentam valores de ligações rotacionáveis maiores que 10, tendem a rotacionar mais podendo assim, reduzir o potencial de absorção, pois é comumente necessária a adoção de uma conformação fixa para interagir com o alvo. (da Silva et al., 2020).

Outro parâmetro importante é o Log P, relacionado à hidrofobicidade de um determinado composto e a capacidade de atravessar membranas plasmáticas. Assim, ao analisarmos os valores de cada composto nota-se que estão de acordo com a regra Lipinsk, pois todos possuem valor inferior ao valor de referência (≤ 5.00).

Para o número de aceptores ($H \leq 10$) e doadores de hidrogênio ($H \leq 5$) varia de abaixo do parâmetro em todos os complexos e, portanto, estão de acordo com a regra. Com relação ao parâmetro de TPSA, nota-se que os compostos então dentro do parâmetro ideal. Assim podemos considerar que os compostos CMR134 e CMR138 por não violarem a regra de Lipinsk e possuírem valores próximos aos valores dos compostos de referência são considerados a futuros fármacos.

5.4 INTERAÇÃO RECEPTOR LIGANTE

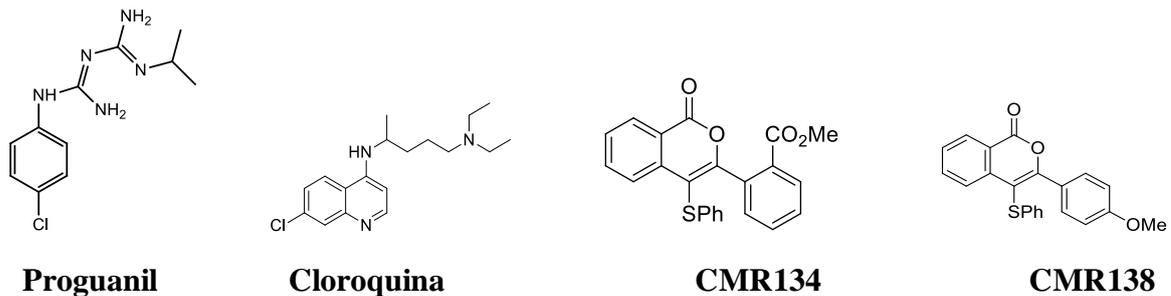
O reconhecimento molecular está baseado na complementaridade de características físico-químicas e estruturais das moléculas interagentes. Essas características físico-químicas definem o grau de afinidade e de especificidade do ligante e o receptor, e estão relacionadas com as interações intermoleculares existentes no complexo. (Dubey, D, 2013).

As interações moleculares são encarregadas pela formação arranjo de muitas estruturas biológicas, interações essas como a ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, elas são responsáveis pela estrutura tridimensional de biopolímeros, tais como proteínas, ácidos nucleicos, e membranas celulares. A interação de uma molécula ligada a um biopolímero (receptor) também é governada por interações moleculares. Exemplos de complexos receptor-

ligante incluem os respectivos complexos: enzima-substrato, antígeno-anticorpo e complexos de receptores proteicos como fármacos (Lopes, 2005).

Após a realização das simulações de docking molecular, as interações entre a Dihidrofolato os ligantes derivados dos compostos isocumarinas, foram avaliados com o auxílio do programa Discovery Studio 2021 (BIOVIA, 2021). Esse programa tem como uma de suas funções avaliar o comportamento entre o receptor e o ligante, identificando as interações intermoleculares que ocorreram na formação do complexo, gerando mapas 2D que mostram o tipo de interação que foi realizada entre a proteína e o ligante. Foi realizado a análise das interações das estruturas de CMR com a enzima PfDHFR-TS. Por ter maior afinidade de ligação as estruturas CMR 134 e CMR 138 da tabela 1, serão analisadas tendo como referência um dos fármacos utilizados contra a malária, o Proguanil.

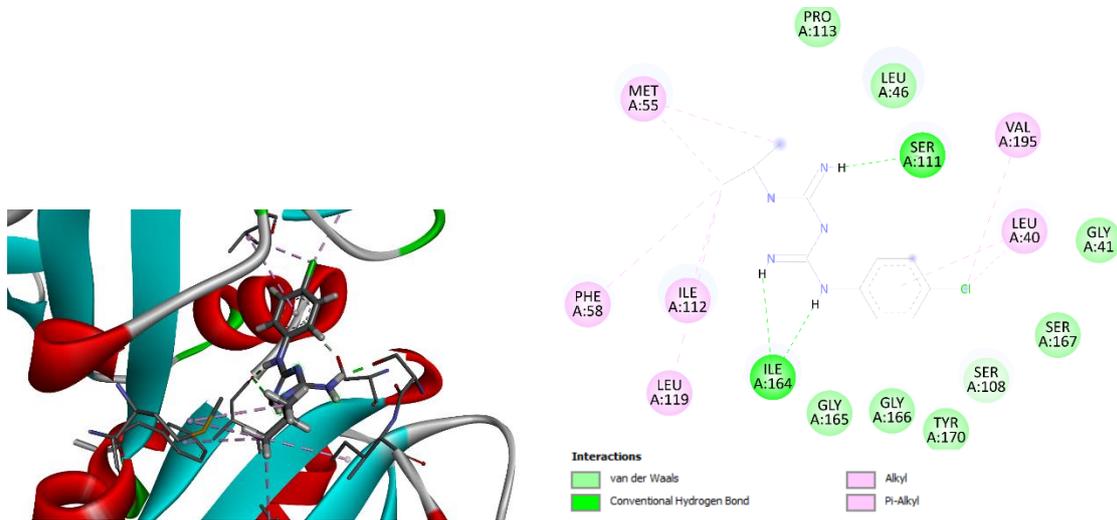
Figura 7 - Estruturas do Proguanil, Cloroquina, CMR134 e CMR138.



Fonte: Autor, 2023.

Foram destacadas as principais interações intermoleculares entre os ligantes e os resíduos de aminoácidos do sítio de ligação da proteína alvo desse estudo. Foram evidenciadas as ligações de hidrogênio, pois, em termos de energia, elas são as interações mais importantes depois das ligações covalentes existentes nos sistemas biológicos. E também as interações hidrofóbicas, que são individualmente fracas e ocorrem em função da interação entre cadeias ou subunidades pouco polares. Entre as interações hidrofóbicas destacam-se as interações π - π stacking que se refere a uma atração não covalente entre anéis aromáticos. Essas interações são importantes na organização das moléculas de DNA e de RNA, tais como a dobra das proteínas e reconhecimento molecular (BROW, 2005)

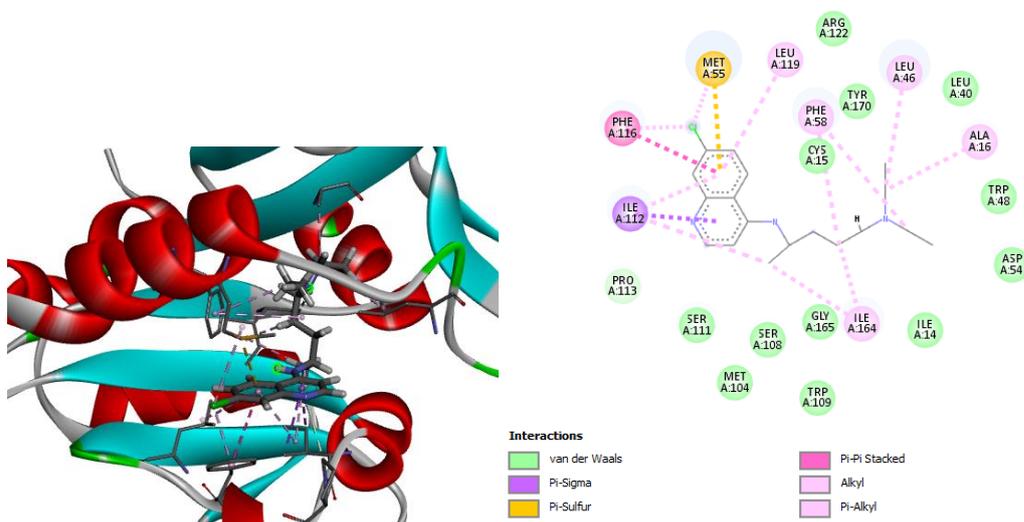
Figura 8 - Visualização 3D e 2D do ligante e das interações do Proguanil com os aminoácidos da enzima da PfDHFR-TS.



Fonte: Autor, 2023.

Analisando-se as interações do Proguanil com o receptor PfDHFR-TS, nota-se que o mesmo interage por meio de ligações de Van der Waals com os aminoácidos PRO A: 113, LEU A: 46, GLY A: 165, GLY A: 166, GLY A:41, TYR A: 170, SER A: 167. Ligações de hidrogênio ocorrem com os aminoácidos ILE A: 164, SER A: 111. As interações do tipo Alquil ou Pi-alquil também ocorreram, sendo nos aminoácidos MET A: 55, PHE A: 58, LEU A: 119, LEU A: 40, VAL A: 195 e ILE A:112.

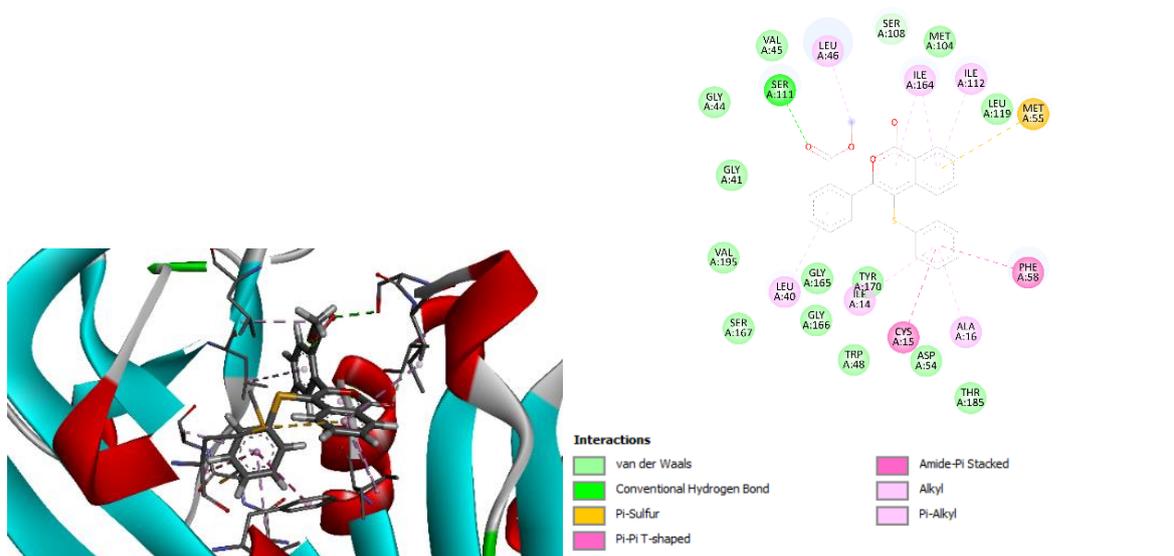
Figura 9: Visualização 3D e 2D do ligante e das interações do Cloroquina com aminoácidos da enzima da PfDHFR-TS.



Fonte: Autor, 2023

As interações entre o composto Cloroquina e a enzima PfDHFR-TS foram as seguintes: uma ligação Pi-enxofre com a aminoácido A: 55. Com o aminoácido ILE A: 112 uma interação Pi-sigma. Nota-se que há interação do tipo Alquil e Pi-alkil com os respectivos aminoácidos: LEU A: 119, LEU A: 46, PHE A: 58 e ALA A: 16.

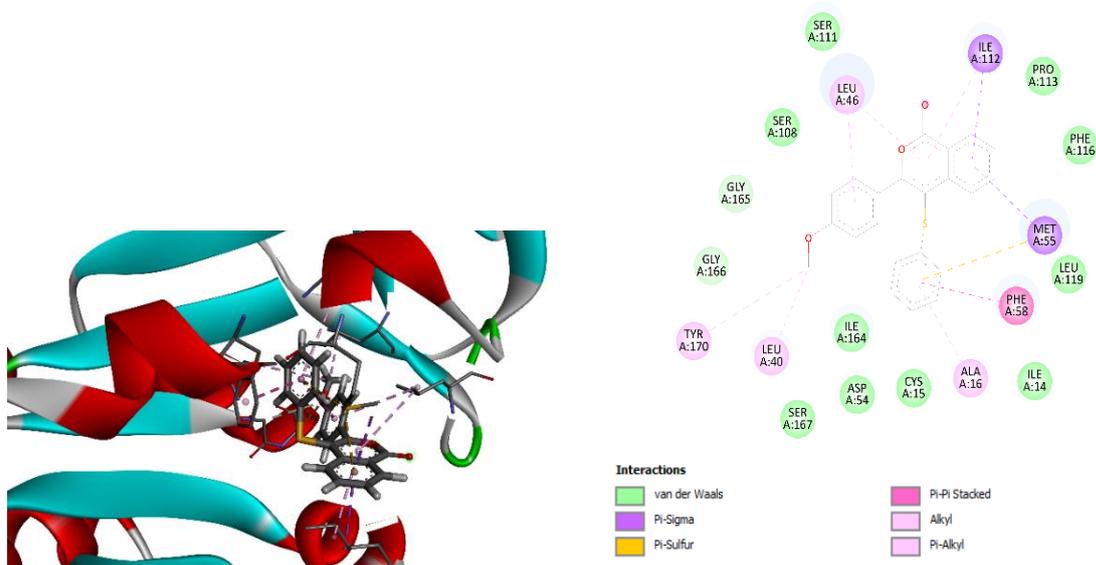
Figura 10 - Visualização 3D e 2D do ligante e das interações da CMR134 com aminoácidos da enzima da PfDHFR-TS.



Fonte: Autor, 2023

Referindo-se às interações entre o ligante CMR134 com o receptor PfDHFR-TS, nota-se as seguintes ligações de Van der Waals com os respectivos aminoácidos VAL A: 195, VAL A: 45, GLY A: 166, GLY A: 165, GLY A: 44, SER A: 167, TYR A: 170, TRP A: 48, ASP A: 54, THR A: 185, LEU A: 119, MET A: 104. Ocorreu uma ligação de hidrogênio com aminoácido SER A: 111. Foi possível observar também uma ligação do tipo Pi-enxofre com o aminoácido MET A: 55, ocorreu ligações do tipo Pi-pi na forma T ou Pi-amida com CYS A:15 e PHE A: 58. As ligações do tipo Alquil ou Pi-alkil foram com os seguintes aminoácidos o LEU A: 46, LEU A: 40, ILE A:184, ILE A: 112, ILE A: 14 e ALA A: 16.

Figura 11 - Visualização 3D e 2D do ligante e das interações da CMR138 com os aminoácidos da enzima da PfdHFR-TS.



Fonte: Autor, 2023.

Fazendo-se a análise do composto CMR138 com o receptor PfdHFR-TS, podemos visualizar que o mesmo interage através de ligações de hidrogênio com os aminoácidos SER A: 167, SER A: 111, SER A: 108, PRO A: 113, PHE A: 116, LEU A: 119, ILE A: 164, ILE A: 14, CYS A: 15, ASP A: 54. Também está presente as ligações carbono e hidrogênio com os aminoácidos GLY A: 166 e GLY A: 165. Com o aminoácido PHE A: 58, ocorreu interação Pi-pi emparelhamento e com o aminoácido MET A: 55 existe uma interação Pi-enxofre. Ocorreu interações Pi-sigma com ILE A: 112 e MET A: 55. As ligações Alquil ou Pi-alquil também estão presentes, sendo que nos aminoácidos LEU A: 46, LEU A: 40 e TYR A: 170.

As ligações hidrogênio são as mais importantes entre as outras interações em complexos de interação receptor-ligante. Diversos fármacos efetivos se ligam fortemente e inibem a ação de enzimas que estão associadas ao progresso da doença. Em muitos dos casos, um inibidor bem sucedido será capaz de formar ligações hidrogênio com resíduos de aminoácidos do sítio ativo. (Shoji, 2015).

Com essa análise foi possível ver as determinadas interações entre o ligante e o receptor, fazendo a comparação dos compostos CMR134 e CMR138 com a Cloroquina e o Proguanil podemos ver que há interações semelhantes, assim podemos considerar que esses dois compostos podem ser possíveis candidatos a inibidores

6. CONCLUSÃO

No estudo realizado com derivados sintéticos de isocumarinas foi possível fazer uma análise através docking molecular com diversos compostos como um possível ligante para a proteína PfDHFR-TS, selecionando alguns compostos promissores a um possível fármaco a partir da sua afinidade de ligação pode-se averiguar que pelo menos dois desses derivados de isocumarinas possuem um número de afinidade de ligação consideravelmente inferior ao proguanil e cloroquina, fármaco de referência. Com isso esses compostos poderiam avançar para estudos *in vitro*, uma vez que o perfil ADME dos mesmos não violam a regra de Lipinski para fármacos que podem ser administrados oralmente. Pode-se também analisar as principais interações entre o receptor e o ligante, podendo assim ver que os compostos analisados possuíram interações semelhantes ao fármaco de referência, com isso esses determinados compostos podem possuir atividade biológica a ponto de serem futuros fármacos com poder de inibição antimalarial.

REFERÊNCIAS

AFONSO, Ilidio Ferreira. Modelagem molecular e avaliação da relação estrutura-atividade acoplados a **estudos farmacocinéticos e toxicológicos in silico de derivados heterocíclicos com atividade antimicrobiana**. Universidade Federal do Rio, 2008.

AMORIM. I. P. S; PESTANA. E. R; MENDES. S. J. F. **Predição do metabolismo do candidato a fármaco cinamaldeído: Uma abordagem in silico**. Revista Ceuma Perspectivas, v. 30, n. 1, p. 111-120, 2017.ISSN 18088597. Disponível em: (<http://www.fmb.edu.br/revistaFmb/index.php/fmb/article/viewFile/124/120>) Acesso em 15 abr.2020

Barreiro, E. J., Rodrigues, C. R., Albuquerque, M. G., Sant'Anna, C. M. R. D., & Alencastro, R. B. D. **Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal**. Química nova, v. 20, n. 3, p. 300-310, 1997.

B. SANTOS, Karina. **Highly Flexible Ligand Docking: Benchmarking of the DockThor Program on the LEADS-PEP Protein–Peptide Data Set**. [S. l.]: Chem. Inf. Model, January 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00905>. Acesso em: 3 maio 2023

Biamonte, M. A; Wanner, J.; Le Roch, K. G.; **Recent advances in malaria drug discovery. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 2013. 2829-2840.

Biggs, BA. e Brown, GV. (2001). Malaria. *In*: Gillespie, S. e Pearson, RD. (Eds). **Principles and Practice of Clinical Parasitology**. Reino Unido, John Wiley and Sons, pp. 53-98.

BRAGA, E. M.; FONTES, C. J. F. Plasmodium – Malária. *In*: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. 10ª ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. cap. 17

BRASIL. Ministério da Saúde. Situação epidemiológica da malária no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretoria Técnica de Gestão. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/svs>. Acesso em: 06 de novembro de 2007.

BROW, T. L, et al. **Química, a ciência central** - São Paulo: Pearson Prentice Hall, ed. 9, 2005.

BZIK, D. J. et al. Molecular cloning and sequence analysis of the Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase-thymidylate synthase gene. Proc Natl Acad Sci USA, v. 84, p. 8360-8364, 1987.

Carvalho I, Borges ADL, Bernardes LSC. Medicinal Chemistry and Molecular Modeling: **An Integration To Teach Drug Structure–Activity Relationship and the Molecular Basis of Drug Action**. J. Chem. Educ. 2005;82(4):588-96.

Chen, X., Li, H., Tian, L., Li, Q., Luo, J., & Zhang, Y. Analysis of the Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. **Journal of computational biology**, v. 27, n. 9, p. 1397-1406, 2020.

Cunico W, Carvalho SA, Gomes CRB, Marques GH. Fármacos antimalariais: história e perspectivas. *Ver Bras Farm* 2008; 89(1): 49-55.

Da Silva, W. V., da Silvab, W. V., Holandac, V. N., & de Nassau-UNINASSAU, C. U. M. ESTUDO IN SILICO DO POTENCIAL DE FÁRMACOS AZÓLICOS SOBRE SARS-CoV-2: UMA ABORDAGEM QUÍMICA-MEDICINAL. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 8, n. 3, p. 636-648, 2020.

Dubey, D.; Ratch, S.; Sahu, M. C.; Rout, S.; Debata, N. K.; Padhy, R. N. A Report on Infection Dynamics of Inducible Clindamycin Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from a Teaching Hospital in India. *Asian. Pac. J.Trop. Biomed.* **2013**, 3, 148-153.

DOOGUE, M. P., POLASEK, T. M. The ABCD of clinical pharmacokinetics. **Therapeutic Advances in Drug Safety**, v. 4, n. 1, p. 5-7, 2013.

França, T. C. C.; Santos, M. G.; Villar-Figueiroa, J. D. **Malária: Aspectos Históricos e Quimioterapia**. Química Nova. 2008, 1271-1275.

Gomes, EJC. (2010). **Risco potencial de transmissão de malária em Portugal continental**. Dissertação de mestrado, Universidade Nova de Lisboa.

Guo, X-X. **Synthesis of isocoumarin derivates by copper-catalyzed** addition of *o*-halobenzoic acids to active internal alkynes. *J. Org. Chem.* 2013, 78, 1660-1664.

Koehn, F. E. C., G.T. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 4, n. 3, p. 206-220, **2005**

Lopes, H. V. CA-MRSA: Um Novo Problema para o Infectologista. *Rev. Panom. Infectol.* **2005**, 7, 34-36.

LOFTSSON, T. (2015). Physicochemical Properties and Pharmacokinetics. Essential Pharmacokinetics, Academic Press, pp. 85-104.

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

Oliveiral, V. F., Oliveira, H. M. B. F., Medeiros, C. I. S., Oliveira-Filho, A. A., & Rego, T. G. Análise farmacológica e toxicológica in silico do flavonoide 5-hidroxi-4', 7-dimetoxiflavona. **Journal of Medicine and Health Promotion**, v. 3, n. 1, p. 913-921, 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. World Health Organization Guidelines for the treatment of malaria. Disponível em: <<http://www.who.int/malaria/docs/TreatmentGuidelines2006.pdf>> Acesso em 20 de setembro de 2009

Porto, R. S. Computational investigation of Schiff bases from tryptamine as COX-2 inhibitors with potential anti-inflammatory activity. **JOURNAL OF RESEARCH AND KNOWLEDGE SPREADING**, 2022, 3(1), e13081-e13081.

Porto, V. A., Porto, R. S. In silico studies of novel synthetic compounds as potential drugs to inhibit coronavirus (SARS-CoV-2): A systematic review. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 2022, 4293-4306.

Rodrigues, G. D. S., Avelino, J. A., Siqueira, A. L., Ramos, L. F., & Santos, G. B. D. O USO DE SOFTWARES LIVRES EM AULA PRÁTICA SOBRE FILTROS MOLECULARES DE BIODISPONIBILIDADE ORAL DE FÁRMACOS. *Química Nova*, v. 44, p. 1036-1044, 2021.

SANTOS, Lucas. **Síntese de derivados 1,2,3-triazólicos de isocumarinas e 3,4-diidroisocumarinas com potencial atividade antimalárica in vitro**. Orientador: Rosemeire Brondi Alves. 11-Set-2020. Tese (Programa de Pós-graduação em Química) - Pós-graduação, Belo Horizonte, 2020

Sant'anna CMR. **Glossário de termos usados no planejamento de fármacos. (Recomendações da IUPAC para 1997)**, *Quim. Nova*, 2002;25(3):505-12.

SANT, Carlos Mauricio R. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. *Revista Virtual de Química*, v. 1, n. 1, p. 49-57, 2009.

SOUZA, A. S. DE. Estudos em **quimioinformática baseados na estrutura do ligante e do receptor de candidatos a agentes antichagásicos**. 2019. f 198. Tese (Doutorado em Física Aplicada Biomolecular). Universidade De São Paulo Instituto De Física De São Carlos, p. 1–196, 2019.

Sousa, JC. e Ferreira, VFC. (2002). *Microbiologia- volume 3*. Lidel- edições técnicas, pp. 393-420.

Sousa, M. E.; Pinto, M.M.M. Synthesis of Xanthones: An Overview. *Current Medicinal Chemistry*, v. 12, n. 21, p. 2447-2479, 2005.

Shoji, K.; Shinjoh, M.; Horikoshi, Y.; Tanq, J.; Watanabe, Y.; Sugita, K.; Tame, T.; Iwata, S.; Miyairi, I.; Saitoh, A. High Rate of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolates e A Multicenter Study in Tokyo, Japan. *J. Infect. Chemother.* 2015, 21, 81-83.

TARANTO, A. G. et al. Estudos sobre o mecanismo de ação da artemisinina e dos endoperóxidos, a mais nova classe de agentes antimaláricos. *Sitientibus*, n. 34, p. 47-58, 2006.

Tracy JW, Webster LT. Fármacos usados na quimioterapia das infecções por protozoários: Malária. In: Laurence LB, Lazo JS, Parker KL, editors. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. 11 ed. Nova Iorque: Editora McGraw Hill; 2005. p. 803-822, 1466.

Thomas, G. L. J., C.W. Natural product-like synthetic libraries. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 15, n. 4, p. 516–522, 2011.

VRBANAC, J., SLAUTER, R. (2017). Chapter 3 - ADME in Drug Discovery. A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development (Second Edition). A. S. Faqi. Boston, Academic Press: 39-67.

VUKIC VR, LONCAR DM, VUKIC DV, et al. In vitro antitumor activity, ADME-Tox and 3D-QSAR of synthesized and selected natural styryl lactones. **Computational Biology and Chemistry**. 2019 Dec; 83:107112. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2019.107112. Acesso: 2 out. 2020.

Webber, R. (2004). *Communicable disease epidemiology and control: a global perspective*. 2ª edição. Reino Unido, CABI Publishing, pp. 208-219.

WHITE, N.J. The role of anti-malarial drugs in eliminating malaria. **Malaria Journal**. v. 7, n.1, p. S8, 2008.

Wermuth CG, The practice of medicinal chemistry. 3rd ed. London: Academic Press; 2009.

World Health Organization, 2013. World Malaria Report 2013. Available on World Health Organization, 2013: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2013/en/.

YUNES, R. A CECHINEL-FILHO, V. (Org.). **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**, Itajaí: UNIVALI, 2007.

Zhang, W.; Krohn, K.; Draeger, S.; Schulz, B. *J. Nat. Prod.* 2008, 71, 1078-1081.

APÊNDICES

Apêndice A – Propriedades farmacocinéticas para compostos selecionados

Comp.	MW (≤500)	HBD (≤5)	HBA (≤10)	cLOGP (≤5.00)	NRB (≤10)	TPSA (≤140)	Log S (ESOL)	Log Kp (Skin)	GI Absorption
CMR1	254,24	2	4	2,46	1	70,67	-3,76	-5,84	High
CMR2	270,24	3	5	2,31	1	90,90	-3,95	-5,80	High
CMR3	490,50	2	8	3,69	11	115,43	-5,04	-6,55	High
CMR4	278,26	2	6	1,99	4	96,97	-3,23	-6,24	High
CMR5	340,33	2	6	2,89	5	96,97	-4,32	-5,86	High
CMR6	290,27	2	6	2,17	5	96,97	-3,36	-6,16	High
CMR7	364,39	0	7	3,12	9	84,20	-3,65	-6,43	High
CMR8	440,49	0	7	4,32	11	84,20	-5,01	5,83	High
CMR9	266,25	2	6	1,87	4	89,13	-2,90	-6,48	High
CMR10	222,19	2	5	1,23	2	79,90	-2,30	-6,80	High
CMR11	222,24	0	2	3,33	1	30,21	-4,08	-5,14	High
CMR12	236,27	0	2	3,64	1	30,21	-4,36	-4,97	High
CMR13	236,27	0	2	3,66	1	30,21	-4,36	-4,97	High
CMR14	236,27	0	2	3,66	1	30,21	-4,36	-4,97	High
CMR15	272,38	0	2	5,05	8	30,31	-5,35	-3,37	High
CMR16	258,28	0	2	4,68	7	30,21	-5,01	-3,37	High
CMR17	300,44	0	2	5,76	10	30,21	-6,05	-2,87	High
CMR18	301,13	0	2	3,94	1	30,21	-4,97	-5,13	High
CMR19	301,13	0	2	3,95	1	30,21	-4,97	-5,13	High
CMR20	267,24	0	4	2,56	2	76,03	-4,08	-5,54	High
CMR21	267,24	0	4	2,55	2	76,03	-4,08	-5,54	High
CMR22	267,24	0	4	2,56	2	76,03	-4,08	-5,54	High
CMR23	256,68	0	2	3,86	1	30,21	-4,65	-4,91	High
CMR24	256,68	0	2	3,86	1	30,21	-4,65	-4,91	High
CMR25	256,68	0	2	3,86	1	30,21	-4,65	-4,91	High
CMR26	312,32	0	5	3,26	4	57,90	-4,21	-5,75	High
CMR27	252,26	0	3	3,31	2	39,44	-4,11	-5,34	High
CMR28	252,26	0	3	3,31	2	39,44	-4,11	-5,34	High

CMR29	270,30	0	2	4,23	1	30,21	-5,18	-4,56	High
CMR30	230,26	0	3	2,70	4	47,28	-2,89	-6,07	High
CMR31	264,70	0	3	3,22	4	47,28	-3,47	-5,83	High
CMR32	290,31	0	5	2,69	6	65,74	-3,01	-6,27	High
CMR33	272,34	0	3	3,56	5	47,28	-3,77	-5,48	High
CMR34	306,78	0	3	4,11	5	47,28	-4,36	-5,25	High
CMR35	186,21	0	2	2,56	0	30,21	-2,86	-5,93	High
CMR36	214,26	0	2	3,19	0	30,21	-3,65	-5,33	High
CMR37	258,27	0	4	2,35	0	48,67	-2,83	-6,75	High
CMR38	248,28	0	2	3,57	0	30,21	-4,14	-5,41	High
CMR39	236,27	0	2	3,55	1	30,21	-4,08	-5,28	High
CMR40	254,26	0	3	3,86	1	30,21	-4,22	-5,32	High
CMR41	218,22	0	3	3,18	0	30,21	-3,39	-5,67	High
CMR42	218,22	0	3	3,18	0	30,21	-3,39	-5,67	High
CMR43	266,27	0	3	3,87	0	30,21	-4,28	-5,45	High
CMR44	330,33	3	6	-	5	103,43	-	-	High
CMR45	264,23	2	6	1,69	3	96,97	-3,01	-6,41	High
CMR46	281,31	0	4	3,05	3	52,33	-3,91	-5,81	High
CMR47	222,19	2	5	1,23	2	79,90	-2,30	-6,80	High
CMR48	250,25	2	5	2,27	3	79,90	-3,43	-5,77	High
CMR49	236,74	0	1	4,13	4	9,23	-4,19	-4,51	High
CMR50	276,26	1	6	2,22	5	85,97	-3,34	-6,01	High
CMR51	366,41	0	5	3,84	8	53,99	-4,41	-5,72	High
CMR52	456,49	0	6	4,94	10	74,97	-5,90	-5,24	High
CMR53	296,75	1	4	3,86	5	59,67	-4,84	-4,60	High
CMR54	296,75	1	4	3,89	5	59,67	-4,84	-4,60	High
CMR55	298,33	0	2	4,56	2	30,21	-5,24	-4,77	High
CMR56	312,36	0	2	4,88	2	30,21	-5,53	-4,59	High
CMR57	312,36	0	2	4,89	2	30,21	-5,53	-4,59	High
CMR58	316,33	0	3	4,86	2	30,21	-5,38	-4,81	High
CMR59	332,78	0	2	5,08	2	30,21	-5,82	-4,53	High
CMR60	377,23	0	2	5,16	2	30,21	-6,13	-4,76	High
CMR61	424,23	0	2	5,20	2	30,21	-6,40	-5,02	High

CMR62	343,33	0	4	3,75	3	73,03	-5,26	-5,16	High
CMR63	236,27	0	2	3,55	1	30,21	-4,80	-5,28	High
CMR64	250,29	0	2	3,88	1	30,21	-4,36	-5,11	High
CMR65	250,29	0	2	3,88	1	30,21	-4,36	-5,11	High
CMR66	254,26	0	3	3,85	1	30,21	-4,22	-3,32	High
CMR67	270,71	0	2	4,08	1	30,21	-4,65	-5,05	High
CMR68	315,16	0	2	4,16	1	30,21	-4,97	-5,28	High
CMR69	362,16	0	2	4,22	1	30,21	-5,23	-5,59	High
CMR70	281,26	0	4	2,75	2	76,03	-4,09	-5,68	High
CMR71	250,25	0	3	3,04	2	47,28	-4,06	-5,37	High
CMR72	280,27	0	4	3,04	3	56,51	-4,10	-5,57	High
CMR73	266,25	1	4	2,62	2	67,51	-3,91	-5,72	High
CMR74	268,24	0	4	3,35	2	47,28	-4,21	-5,41	High
CMR75	284,69	0	3	3,58	2	47,28	-4,64	-5,13	High
CMR76	329,14	0	3	3,66	2	47,28	-4,96	-5,36	High
CMR77	295,25	0	5	2,22	3	93,10	-4,08	-5,77	High
CMR78	230,22	0	4	2,21	3	56,51	-2,89	-6,14	High
CMR79	276,29	0	3	3,46	3	47,28	-4,24	-5,37	High
CMR80	232,23	0	4	2,46	3	56,51	-2,92	-6,14	High
CMR81	246,26	0	4	2,79	3	56,51	-3,21	-5,96	High
CMR82	266,68	0	4	3,00	3	56,51	-3,50	-5,90	High
CMR83	266,68	0	4	2,98	3	56,51	-3,50	-5,90	High
CMR84	358,13	0	4	3,12	3	56,51	-4,08	-6,45	High
CMR85	292,28	0	6	2,44	5	74,97	-3,04	-6,55	High
CMR86	218,21	0	4	2,13	2	56,51	-2,69	-6,32	High
CMR87	232,23	0	4	2,46	2	56,51	-2,98	-6,14	High
CMR88	278,26	0	6	2,12	4	74,97	-2,81	-6,72	High
CMR89	248,43	0	5	2,12	3	65,74	-2,75	-6,51	High
CMR90	202,21	0	3	2,18	1	47,28	-2,59	-6,33	High
CMR91	232,23	0	4	2,17	2	56,51	-2,63	-6,54	High
CMR92	264,28	0	3	3,24	2	47,28	-4,04	-5,54	High
CMR93	312,75	0	3	4,10	2	47,28	-4,92	-5,13	High
CMR94	314,33	0	3	4,47	3	39,44	-5,46	-4,62	High

CMR95	332,32	0	4	4,81	3	39,44	-5,61	-4,66	High
CMR96	348,78	0	3	5,06	3	39,44	-6,05	-4,38	High
CMR97	393,23	0	3	5,14	3	39,44	-6,36	-4,61	High
CMR98	328,36	0	3	4,86	3	39,44	-5,76	-4,44	High
CMR99	328,36	0	3	4,86	3	39,44	-5,76	-4,44	High
CMR100	344,36	0	4	4,53	4	48,67	-5,51	-4,82	High
CMR101	342,39	0	3	5,18	3	39,44	-6,04	-4,27	High
CMR102	374,39	0	5	4,40	5	57,90	-5,58	-5,02	High
CMR103	362,81	0	3	5,38	3	39,44	-6,34	-4,20	High
CMR104	434,44	0	7	4,42	7	76,36	-5,71	-5,43	High
CMR105	452,43	0	8	4,73	7	76,36	-5,86	-5,47	High
CMR106	468,88	0	7	4,94	7	76,36	-6,30	-5,19	High
CMR107	513,33	0	7	5,04	7	76,36	-6,31	-5,42	High
CMR108	448,46	0	7	4,74	7	76,36	-6,00	-5,26	High
CMR109	448,46	0	7	3,62	7	76,36	-5,28	-6,07	High
CMR110	464,46	0	8	5,36	8	85,59	-5,78	-5,63	High
CMR111	462,49	0	7	5,06	8	76,36	-6,31	-5,08	High
CMR112	482,91	0	7	5,27	7	76,36	-6,60	-5,02	High
CMR113	402,35	0	7	4,15	3	76,36	-5,64	-5,42	High
CMR114	298,33	0	2	4,56	2	30,21	-5,24	-4,77	High
CMR115	312,36	0	2	4,89	2	30,21	-5,53	-4,59	High
CMR116	354,44	0	2	5,74	3	30,21	-6,47	-3,93	High
CMR117	328,36	0	3	4,52	3	39,44	-5,28	-4,97	High
CMR118	374,43	0	2	5,86	3	30,21	-6,68	-4,08	Low
CMR119	359,39	0	4	4,50	4	48,67	-5,34	-5,18	High
CMR120	348,39	0	2	5,46	2	30,21	-6,34	-4,19	High
CMR121	312,36	0	2	4,88	2	30,21	-5,53	-4,59	High
CMR122	348,39	0	2	5,44	2	30,21	-6,34	-4,19	High
CMR123	316,33	0	3	4,86	2	30,21	-5,38	-4,81	High
CMR124	332,78	0	2	5,08	2	30,21	-5,82	-4,53	High
CMR125	377,23	0	2	5,16	2	30,21	-6,13	-4,76	High
CMR126	343,33	0	4	3,75	3	76,03	-5,26	-5,16	High
CMR127	330,40	0	2	4,92	3	55,51	-5,73	-4,53	High

CMR128	375,40	0	4	4,10	4	101,33	-5,76	-4,93	High
CMR129	348,39	0	3	5,23	3	55,51	-5,87	-4,57	High
CMR130	364,84	0	2	5,45	3	55,51	-6,31	-4,29	High
CMR131	344,43	0	2	5,26	3	55,51	-6,02	-4,35	High
CMR132	348,39	0	3	5,22	3	55,51	-5,87	-4,57	High
CMR133	364,84	0	2	5,45	3	55,51	-6,31	-4,29	High
CMR134	388,44	0	4	4,81	5	81,81	-5,77	-4,98	High
CMR135	375,40	0	4	4,14	4	101,33	-5,76	-4,93	High
CMR136	327,48	0	2	5,81	4	55,51	-6,56	-3,99	High
CMR137	364,84	0	2	5,46	3	55,51	-6,31	-4,29	High
CMR138	360,43	0	3	4,91	4	64,74	-5,78	-4,74	High
CMR139	344,43	0	2	5,26	3	55,51	-6,02	-4,35	High
CMR140	380,46	0	2	5,83	3	55,51	-6,83	-3,95	High
CMR141	336,43	0	2	4,93	3	83,75	-5,59	-4,77	High
CMR142	310,41	0	2	4,78	3	55,51	-5,49	-4,37	High
CMR143	324,44	0	2	5,26	6	55,51	-5,71	-4,06	High
CMR144	294,37	0	2	4,31	3	55,51	-4,71	-5,08	High
CMR145	326,48	0	2	4,33	3	55,51	-5,68	-4,38	High
CMR146	312,34	0	4	3,55	4	81,81	-4,42	-5,54	High
CMR147	254,30	0	2	3,60	2	55,51	-4,27	-5,22	High
CMR148	266,29	0	3	3,67	3	39,44	-4,17	-5,35	High
CMR149	296,32	0	4	3,66	4	48,67	-4,23	-5,54	High
CMR150	280,32	0	3	4,00	3	39,44	-4,46	-5,17	High
CMR151	300,74	0	3	4,19	3	39,44	-4,75	-5,11	High
CMR152	284,28	0	4	3,97	3	39,44	-4,32	-5,39	High
CMR153	345,19	0	3	4,28	3	39,44	-5,07	-5,34	High
CMR154	322,40	0	3	4,87	4	39,44	-5,41	-4,50	High
CMR155	366,41	0	3	5,31	3	39,44	-6,05	-4,52	High
CMR156	280,32	0	3	4,00	3	39,44	-4,46	-5,17	High
CMR157	296,32	0	4	3,62	4	48,67	-4,23	-5,54	High
CMR158	300,74	0	3	4,19	3	39,44	-4,75	-5,11	High
CMR159	362,49	0	3	4,91	3	39,44	-6,02	-4,37	High
CMR160	372,41	0	4	4,89	6	48,67	-5,55	-4,95	High

CMR161	326,34	0	4	3,63	4	57,90	-4,28	-5,75	High
CMR162	284,28	0	4	3,97	3	39,44	-4,32	-5,39	High
CMR163	284,28	0	4	3,94	3	39,44	-4,32	-5,39	High
CMR164	334,29	0	6	4,70	4	39,44	-4,99	-5,13	High
CMR165	284,28	0	4	3,94	3	39,44	-4,32	-5,39	High
CMR166	300,74	0	3	4,15	3	39,44	-4,75	-5,11	High
CMR167	316,35	0	3	4,58	3	39,44	-5,29	-4,76	High
CMR168	497,50	0	7	4,32	8	103,12	-5,68	-6,13	High
CMR169	442,55	0	4	5,61	3	56,51	-6,30	-4,99	High
CMR170	266,29	0	3	3,67	3	39,44	-4,17	-5,35	High
CMR171	300,74	0	3	4,21	3	39,44	-5,75	-5,11	High
CMR172	345,19	0	3	4,29	3	39,44	-5,07	-5,34	High
CMR173	284,28	0	4	3,98	3	39,44	-4,32	-5,39	High
CMR174	291,30	0	4	3,44	3	63,23	-4,10	-5,70	High
CMR175	300,74	0	3	4,20	3	39,44	-4,75	-5,11	High
CMR176	335,10	0	3	4,17	3	39,44	-5,34	-4,87	High
CMR177	280,32	0	3	4,00	3	39,44	-4,46	5,17	High
CMR178	342,39	0	3	5,01	4	39,44	-5,64	-4,65	High
CMR179	252,26	0	3	3,34	2	39,44	-3,96	-5,52	High
CMR180	294,34	0	3	4,26	4	39,44	-4,84	-4,83	High
CMR181	328,36	0	3	4,56	4	39,44	-5,26	-4,92	High
CMR182	320,26	0	6	4,32	4	39,44	-4,84	-5,14	High
CMR183	369,63	0	3	4,65	4	39,44	-5,61	-4,92	High
CMR184	398,41	0	5	4,48	3	65,74	-5,56	-5,46	High
CMR185	709,01	0	5	11,58	18	57,90	-12,33	-0,52	Low
CMR186	262,21	0	6	1,44	4	82,81	-2,48	-6,90	High
CMR187	384,38	1	7	2,95	7	95,20	-4,02	-6,57	High
CMR188	276,24	1	6	2,22	5	85,97	-3,34	-6,01	High
CMR189	384,38	1	7	2,92	8	95,20	-4,00	-6,53	High
CMR190	276,24	2	6	2,19	4	96,97	-3,47	-5,94	High
CMR191	456,49	0	6	5,16	10	74,97	-6,25	-4,85	High
CMR192	460,48	1	7	4,13	10	95,20	-5,34	-5,93	High
CMR193	250,20	2	6	1,32	3	96,97	-2,58	-6,73	High

Apêndice B – Resultados do docking molecular dos compostos de Isocumarinas.

Composto	Afinidade de Ligação (kcal / mol)	Composto	Afinidade de Ligação (kcal / mol)
CMR1	-8,498	CMR101	
CMR2	-8,704	CMR102	-10.345
CMR3	-	CMR103	
CMR4	-8,423	CMR104	-10,635
CMR5	-9,259	CMR105	-10,315
CMR6	-8,557	CMR106	-10,401
CMR7	-8,939	CMR107	
CMR8	-	CMR108	-10,104
CMR9	-8,393	CMR109	-9,918
CMR10	-7,833	CMR110	
CMR11	-8,352	CMR111	
CMR12	-8,701	CMR112	
CMR13	-8,712	CMR113	-10,607
CMR14	-8,597	CMR114	-9.491
CMR15	-	CMR115	-9.448
CMR16	-8,305	CMR116	
CMR17	-8,540	CMR117	-9.445
CMR18	-8,768	CMR118	
CMR19	-8,660	CMR119	-9.599
CMR20	-8,434	CMR120	
CMR21	-8,430	CMR121	-9,755
CMR22	-8,323	CMR122	
CMR23	-8,764	CMR123	-9.592
CMR24	-8,664	CMR124	
CMR25	-8,618	CMR125	
CMR26	-9,273	CMR126	-9.204
CMR27	-8,807	CMR127	-9.790

CMR28	-9,357	CMR128	-9.765
CMR29	-9,137	CMR129	
CMR30	-8,180	CMR130	
CMR31	-8,319	CMR131	
CMR32	-8,638	CMR132	
CMR33	-8,865	CMR133	
CMR34	-8,853	CMR134	-10.252
CMR35	-8,165	CMR135	-10.051
CMR36	-8,330	CMR136	
CMR37	-8,544	CMR137	
CMR38	-8,701	CMR138	-10,146
CMR39	-8,620	CMR139	
CMR40	-8,751	CMR140	
CMR41	-8,223	CMR141	-9.958
CMR42	-8,200	CMR142	-9.346
CMR43	-8,853	CMR143	
CMR44		CMR144	-9.252
CMR45	-8,215	CMR145	-9.413
CMR46	-8,849	CMR146	-8.952
CMR47	-7,809	CMR147	-8.620
CMR48	-8,230	CMR148	-8.832
CMR49	-8,490	CMR149	-9.062
CMR50	-8,132	CMR150	-9.062
CMR51	-9,513	CMR151	-9.070
CMR52	-10,589	CMR152	-5.787
CMR53	-8,645	CMR153	-9.129
CMR54	-8,870	CMR154	-9.466
CMR55	-9,486	CMR155	
CMR56	-9,753	CMR156	-9.241
CMR57	-9,443	CMR157	-9.224
CMR58	-9,576	CMR158	-9.224
CMR59	-	CMR159	-9.498
CMR60	-	CMR160	-10.049

CMR61	-	CMR161	-9.273
		CMR162	-8.939
CMR62	-9,212	CMR163	-9.012
CMR63	-8,614	CMR164	-9.430
CMR64	-8,833	CMR165	-8.939
CMR65	-8,862	CMR166	-9.080
CMR66	-8,726	CMR167	-9.501
CMR67	-8,991	CMR168	-9.981
CMR68	-9,028	CMR169	
CMR69	-9,019	CMR170	-8.828
CMR70	-8,738	CMR171	-9.141
CMR71	-8,380	CMR172	-9.187
CMR72	-8,745	CMR173	-8.965
CMR73	-8,919	CMR174	-8.941
CMR74	-8.527	CMR175	-9.238
CMR75	-8.664	CMR176	-9.442
CMR76	-8.697	CMR177	-9.141
CMR77	-8.414	CMR178	
CMR78	-7.937	CMR179	-8.702
CMR79	-9.032	CMR180	-9.194
CMR80	-8.214	CMR181	-9.717
CMR81	-8.272	CMR182	-9.003
CMR82	-8.142	CMR183	-9.244
CMR83	-8.138	CMR184	-10.280
CMR84	-8.415	CMR185	
CMR85	-8.434	CMR186	-8.014
CMR86	-7.875	CMR187	-9.256
CMR87	-8.146	CMR188	-8.127
CMR88	-8.525	CMR189	
CMR89	-8.108	CMR190	-8.188
CMR90	-7.856	CMR191	
CMR91	-8.268	CMR192	-10.263
CMR92	-8.715	CMR193	-7.905

CMR93	-9.114		
CMR94	-9,806		
CMR95	-9,788	Proguanil	-8,018
CMR96		cloroquina	-9,172
CMR97			
CMR98	-9.912		
CMR99	-9,905		
CMR100	-10.017		

Apêndice C – Valores de pontuação de docking com os ligantes de isocumarinas (CMR) e compostos de referências.

Entrada	Composto	Afinidade de Ligação (kcal / mol)
1	CMR104	-10,635
2	CMR113	-10,607
3	CMR52	-10,589
4	CMR52	-10,589
5	CMR106	-10,401
6	CMR102	-10.345
7	CMR105	-10,315
8	CMR192	-10.263
9	CMR184	-10.280
10	CMR134	-10.252